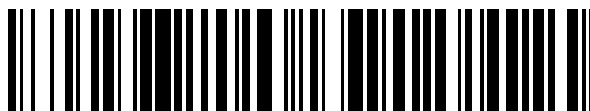


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 562 711**

51 Int. Cl.:

C08B 37/02 (2006.01)

A61K 47/36 (2006.01)

A61K 31/721 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.09.2007 E 07825188 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.11.2015 EP 2066700**

54 Título: **Dextrano funcionalizado con aminoácidos hidrófobos**

30 Prioridad:

26.09.2006 WO PCT/IB2006/002666

29.03.2007 FR 0702316

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

07.03.2016

73 Titular/es:

**ADOCIA (100.0%)
115, AVENUE LACASSAGNE
69003 LYON, FR**

72 Inventor/es:

**SOULA, RÉMI;
SOULA, GÉRARD y
SOULA OLIVIER**

74 Agente/Representante:

ESPIELL VOLART, Eduardo María

ES 2 562 711 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN**DEXTRANO FUNCIONALIZADO CON AMINOÁCIDOS HIDRÓFOS**

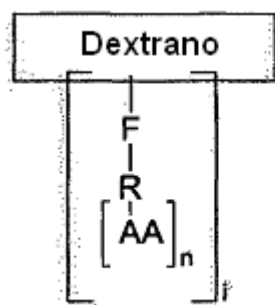
5 La presente invención se refiere a nuevos polímeros biocompatibles a base de dextrano. Estos polímeros pueden ser útiles, en especial, para la administración de principio(s) activo(s) (PA) a los seres humanos o a los animales con un objetivo terapéutico y/o profiláctico.

La presente invención se refiere a nuevos derivados de dextrano anfífilicos funcionalizados por al menos un alfa aminoácido hidrófobo. Estos nuevos derivados de dextrano tienen una buena biocompatibilidad y su hidrofobicidad es fácilmente modulable sin alterar la biocompatibilidad.

10 Los dextranos anfífilicos, los carboximetildextranos de Biodex descritos en la Patente de Estados Unidos Nº 6.646.120 se modifican con la bencilamina. Este grupo hidrófobo no forma parte de la familia de los alfa aminoácidos. Dellacherie *et al.* también han descrito dextranos anfífilicos (Durand, A. *et al.*, Biomacromolecules 2006, 7, 958-964.) (Durand, Alain *et al.*, Colloid Polym. Sci. 2006, 284, 536-545.) obtenidos por reacción de grupos funcionales hidroxilo del dextrano sobre epóxidos (fenilglicidil éter, 1,2-epoxioctano o 1,2-epoxidodecano). Los polímeros anfífilicos descritos no están pues funcionalizados con derivados de aminoácido.

15 Bauer *et al.* describen dextranos funcionalizados con ácidos grasos, C10 a C14, en la Patente de Estados Unidos Nº 5.750.678. Los polímeros obtenidos son anfífilicos pero no están modificados con aminoácidos hidrófobos. Una revisión reciente de los polímeros funcionales a base de dextranos (Heinze, Thomas *et al.*, Adv Polym Sci 2006, 205, 199-291.) no informa de dextrano funcionalizado con un aminoácido hidrófobo.

20 La invención se refiere, por tanto, a un dextrano funcionalizado caracterizado porque responde a la siguiente fórmula general:

**Fórmula I**

25

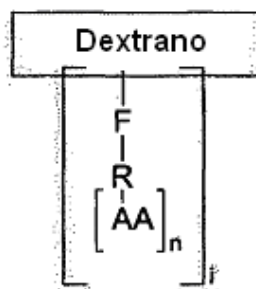
- siendo R una cadena que comprende entre 1 y 18 carbonos, eventualmente ramificada y/o insaturada que comprende uno o varios heteroátomos, y que presenta al menos un grupo funcional ácido
- siendo F bien un éster, un tioéster, una amida, un carbonato, un carbamato, un éter, un tioéter o una amina,
- siendo AA un resto de aminoácido hidrófobo, L o D, producido por el acoplamiento entre la amina del aminoácido y un ácido portado por el grupo R, escogiéndose dicho resto de aminoácido entre los derivados del triptófano, o entre la fenilalanina, la leucina, la isoleucina y la valina y sus derivados de alcohol, amida o descarboxilados.

i representa la fracción molar de sustituyente F-R-[AA]_n por unidad glicosídica y está comprendido entre 0,1 y 2, n representa la fracción molar de los grupos R sustituidos por AA y está comprendido entre 0,05 y 1.

35 Cuando R no está sustituido por AA, entonces el o los ácidos del grupo R son los carboxilatos de catión, siendo dicho dextrano anfífilico a pH neutro.

Por un resto de aminoácido hidrófobo se entiende el producto de acoplamiento entre la amina y el aminoácido y un ácido portado por el grupo R, siendo dicho dextrano anfífilico a pH neutro.

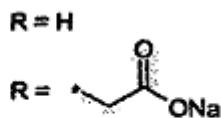
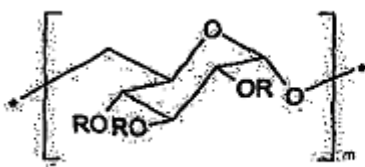
Según la invención el dextrano funcionalizado responde a la fórmula general siguiente:



Fórmula I

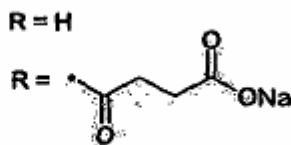
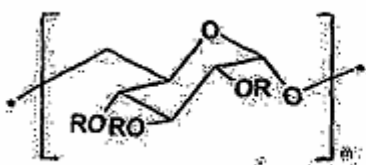
- siendo R una cadena que comprende entre 1 y 18 carbonos, eventualmente ramificada y/o insaturada que comprende uno o varios heteroátomos, tales como O, N o/y S, y que presenta al menos un grupo funcional ácido
- siendo F bien un éster, un tioéster, una amida, un carbonato, un carbamato, un éter, un tioéter o una amina,
- siendo AA un resto de aminoácido hidrófobo, L o D, producido por el acoplamiento entre la amina del aminoácido y un ácido portado por el grupo R, siendo el resto de aminoácido elegido entre los derivados del triptófano, o entre la fenilalanina, la leucina, la isoleucina y la valina y sus derivados de alcohol, amida o descarboxilados

i representa la fracción molar de sustituyente F-R-[AA]n por unidad glicosídica y está comprendido entre 0,1 y 2, n representa la fracción molar de los grupos R sustituidos por AA y está comprendido entre 0,05 y 1. Cuando R no está sustituido por AA, entonces el o los ácidos del grupo R son carboxilatos de catión, preferentemente alcalino tal como Na, K, siendo dicho dextrano anfifílico a pH neutro. En un modo de realización, F es bien un éster, un carbonato, un carbamato o un éter. En un modo de realización, el polisacárido de acuerdo con la invención es un carboximetil dextrano (DMC) de fórmula IV.



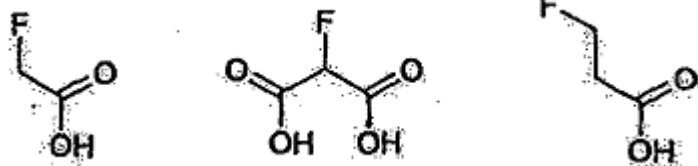
Fórmula IV

o el ácido correspondiente. En un modo de realización, el polisacárido de acuerdo con la invención es un éster monosuccínico de dextrano o dextrano de ácido succínico (DSA) de fórmula V:



Fórmula V

o el ácido correspondiente. En un modo de realización, el polisacárido de acuerdo con la invención se caracteriza porque el grupo R se elige entre los siguientes grupos:

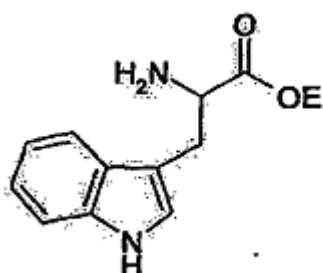


o sus sales de cationes alcalinos.

5 En un modo de realización, el dextrano de acuerdo con la invención se caracteriza porque el aminoácido hidrófobo se elige entre los derivados del triptófano, tales como el triptófano, el triptofanol, la triptofanamida, el 2-indol etilamina y sus sales de cationes alcalinos.

En un modo de realización, el dextrano de acuerdo con la invención se caracteriza porque los derivados del triptófano son elegidos entre los ésteres del triptófano de fórmula II

10



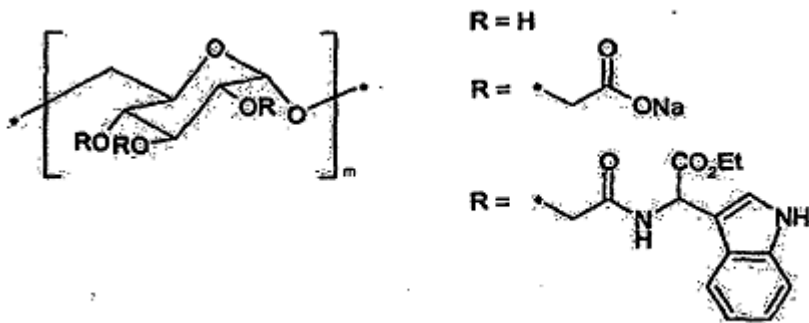
Fórmula II

Siendo E un grupo que puede ser:

15

- un alquilo lineal o ramificado en C1 a C8.
- un alquilarilo o un arilalquilo lineal o ramificado en C6 a C20.

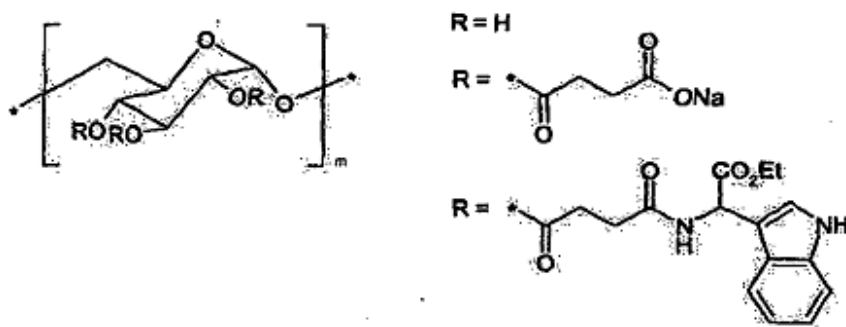
En un modo de realización, el dextrano de acuerdo con la invención es un carboximetildextrano modificado por el éster del etilo de triptófano de fórmula VI:



Fórmula VI

20

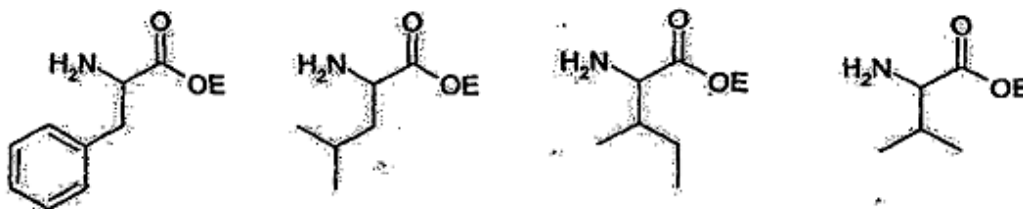
En un modo de realización, el dextrano de acuerdo con la invención es un éster monosuccínico de dextrano o dextrano ácido succínico (DSA) modificado por el éster de etilo del triptófano de fórmula VII:



Fórmula VII

5 En un modo de realización, el dextrano de acuerdo con la invención se caracteriza porque el aminoácido hidrófobo se elige entre la fenilalanina, la leucina, la isoleucina y la valina y sus derivados de alcohol, amida o descarboxilados.

En un modo de realización, el dextrano de acuerdo con la invención se caracteriza porque los derivados de la fenilalanina, de la leucina, de la isoleucina y de la valina son elegidos entre los ésteres de estos ácidos aminados de las fórmulas III.



Fórmulas III

10

Siendo E como se ha definido anteriormente.

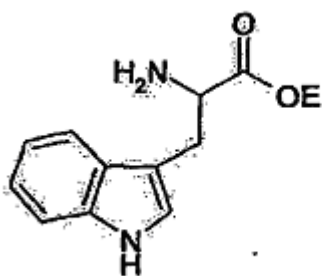
El dextrano puede tener un grado de polimerización m comprendido entre 10 y 10000.

En un modo de realización, hay un grado de polimerización m comprendido entre 10 y 1000.

En otro modo de realización, hay un grado polimerización m comprendido entre 10 y 500.

15 Los dextranos de acuerdo con la invención se obtienen por injerto de un éster del ácido aminado dirigido sobre el dextrano modificado por un grupo R.

En un modo de realización un éster de fórmula II



Fórmula II

20

Siendo E un grupo que puede ser:

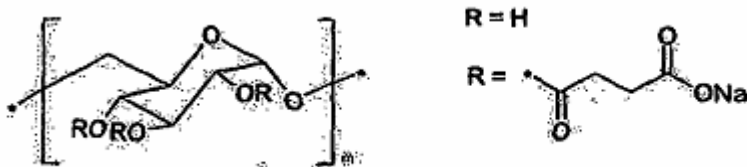
- un alquilo lineal o ramificado en C1 a C8.
- un alquilarilo o un arilalquilo lineal o ramificado en C6 a C20 está injertado sobre un dextrano (DMC) de fórmula IV.



Fórmula IV

25

En otro modo de realización, un éster de fórmula II tal como se ha definido anteriormente se inserta sobre un dextrano (DSA) de fórmula V.



Fórmula V

5

La invención se refiere igualmente a una composición farmacéutica que comprende uno de los dextranos de acuerdo con la invención tal como se ha descrito anteriormente y al menos un principio activo.

10

Por principio activo se entiende un producto en forma de entidad química única o en forma de una combinación que tiene una actividad fisiológica. Dicho principio activo puede ser exógeno, es decir, es aportado por la composición de acuerdo con la invención. También puede ser endógeno, por ejemplo, los factores de crecimiento que se van a secretar en una herida durante la primera fase de cicatrización y que se podrán retener sobre dicha herida por la composición de acuerdo con la invención.

15

La invención también se refiere a una composición farmacéutica de acuerdo con la invención tal como se ha descrito anteriormente caracterizada porque se puede administrar por vía oral, nasal, vaginal, bucal.

La invención se refiere igualmente a una composición farmacéutica de acuerdo con la invención tal como se ha descrito anteriormente, caracterizada porque se obtiene por secado y/o liofilización.

20

La invención también se refiere a una composición farmacéutica según la invención tal como se ha descrito anteriormente, caracterizada porque se puede administrar en forma de endoprótesis vascular, de película o « revestimiento » de biomateriales implantables, implante.

La invención se refiere igualmente a una composición farmacéutica de acuerdo con la invención tal como se ha descrito anteriormente caracterizada porque el principio activo es elegido entre el grupo constituido por las proteínas, las glicoproteínas, los péptidos y las moléculas terapéuticas no peptídicas.

25

Las composiciones farmacéuticas posibles se encuentran, bien en forma líquida (nanopartículas o micropartículas en suspensión en agua o en mezclas de disolventes), bien en forma de polvo, de implante o de película.

En el caso de las liberaciones local y sistémica, los modos de administración previstos son por vía intravenosa, subcutánea, intradérmica, intramuscular, oral, nasal, vaginal, ocular, bucal, etc.

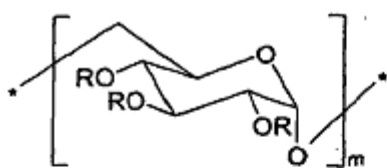
30

La invención se refiere igualmente al uso de los dextranos funcionalizados de acuerdo con la invención para la preparación de composiciones farmacéuticas tales como las que se han descrito anteriormente.

Ejemplo 1: síntesis de un carboximetildextrano modificado por éster etílico del triptófano

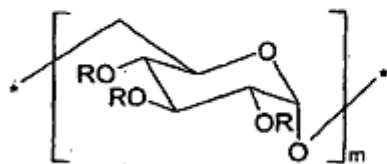
35

Los grupos funcionales ácidos ($i = 1,0$) de un carboximetildextrano de DP medio 250 (10 g) son activados en presencia de N-MetilMorfolina (4,7 g) y de clorofornato de isobutilo (6,4 g) en DMF (180 ml). El clorhidrato del éster etílico del triptófano (5,4 g, Bachem) neutralizado por la TEA (2,0 g) en el DMF (54 ml) se injerta a continuación sobre este polímero activado a 4 °C durante 45 minutos. Después de hidrólisis de los ácidos activados restantes (94 ml de agua), el polímero es diluido en agua (720 ml) y el pH se fija a 7 mediante la adición de sosa. A continuación, el polímero se purifica mediante ultrafiltración. El polímero obtenido tiene la estructura siguiente.

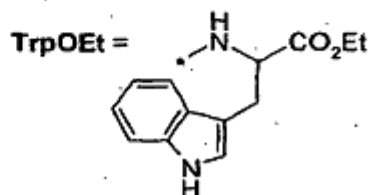


$R = H \text{ o } CH_2COOH$

1. NMM, ClCOOiBu
2. TrpOEt
3. H₂O / NaOH pH 7



$R = H \text{ o } CH_2COONa \text{ o } CH_2COTrpOEt$



5

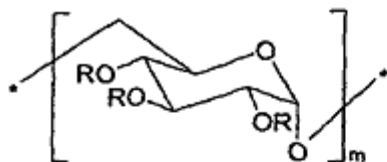
La fracción molar de los ácidos modificados con el éster etílico del triptófano es de 0,45 de acuerdo con la RMN ¹H en D₂O/NaOD (n = 0,45). La fracción molar de los ácidos no modificados y modificados por unidad glicosídica es de 1,0 (i = 1,0).

Ejemplo 2: síntesis de un carboximetildextrano modificado por el éster metílico de la leucina

10

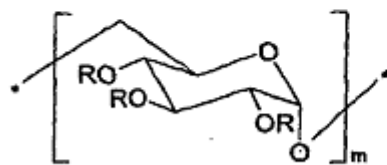
Los grupos funcionales ácidos (i = 1,0) de un carboximetildextrano de DP medio 250 (10 g) se activan en presencia de N-MetilMorfolina (4,7 g) y de cloroformiato de isobutilo (6,4 g) en el DMF (180 ml). El clorhidrato del éster metílico de la leucina (3,7 g, Bachem) neutralizado por la TEA (2,0 g) en el DMF (54 ml) se injerta a continuación sobre este polímero activado a 4 °C durante 45 minutos. Después de hidrólisis de los ácidos activados restantes (94 ml de agua), el polímero es diluido en agua (720 ml) y el pH se fija a 7 mediante la adición de sosa. A continuación, el polímero se purifica mediante ultrafiltración. El polímero obtenido tiene la estructura siguiente.

15

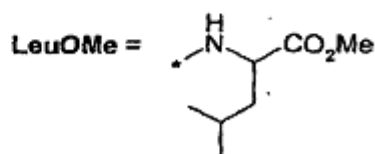


$R = H \text{ o } CH_2COOH$

1. NMM, ClCOOiBu
2. LeuOMe
3. H₂O / NaOH pH 7



$R = H \text{ o } CH_2COONa \text{ o } CH_2COLeuOMe$



20

La fracción molar de los ácidos modificados con el éster metílico de la leucina es de 0,30 de acuerdo con la RMN ¹H en D₂O/NaOD (n = 0,30). La fracción molar de los ácidos no modificados y modificados por unidad glicosídica es de 1,0 (i = 1,0).

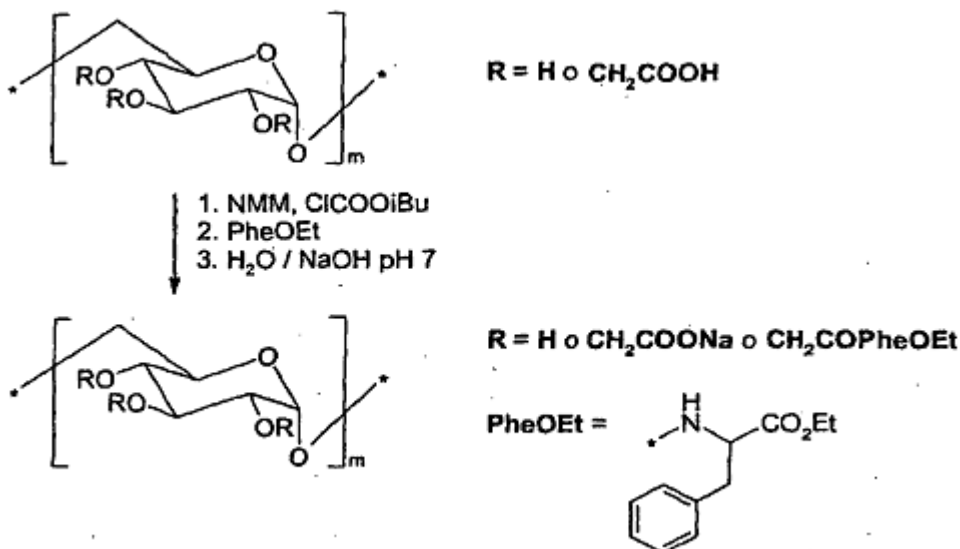
Ejemplo 3: síntesis de un carboximetildextrano modificado con éster etílico de la fenilalanina

25

Los grupos funcionales ácidos (i = 1,0) de un carboximetildextrano de DP medio 250 (10 g) se activan en presencia de N-MetilMorfolina (4,7 g) y de cloroformiato de isobutilo (6,4 g) en el DMF (180 ml). Después, el clorhidrato de éster

etílico de la fenilalanina (4,6 g, Bachem) neutralizado por la TEA (2,0 g) en DMF (54 ml) se injerta sobre este polímero activado a 4 °C durante 45 minutos. Después de la hidrólisis de los ácidos activados restantes (94 ml de agua), el polímero se diluye en agua (720 ml) y el pH se fija a 7 mediante la adición de sosa. A continuación, el polímero se purifica mediante ultrafiltración. El polímero obtenido tiene la estructura siguiente.

5



La fracción molar de los ácidos modificados con el éster etílico de la fenilalanina es de 0,45 de acuerdo con la RMN ¹H en D₂O/NaOD (n = 0,45). La fracción molar de los ácidos no modificados y modificados por unidad glicosídica es de 1,0 (i = 1,0).

10

Ejemplo 4: síntesis de un carboximetildextrano modificado por la sal sódica del triptófano

El polímero obtenido en el ejemplo 1 es puesto en solución en agua (30 mg/ml) y el pH se fija a 12,5 mediante la adición de sosa 1 N. Después de una noche de agitación a temperatura ambiente, el producto se purifica mediante ultrafiltración.

15

La fracción molar de los ácidos modificados por la sal sódica del triptófano es de 0,45 de acuerdo con la RMN ¹H en D₂O (n = 0,45). La fracción molar de los ácidos no modificados y modificados por unidad glicosídica es de 1,0 (i = 1,0).

Ejemplo 5: síntesis de un dextrano de ácido succínico modificado por el éster etílico del triptófano

20

El dextrano de DP medio 250, D40, (10 g, Amersham Biosciences), se solubiliza en el DMSO (25 ml) a 40 °C. A esta solución se le añaden anhídrido succínico en solución del DMF (6,2 g en 25 ml) y la N-Metil-Morfolina, NMM, diluida en el DMF (6,2 g en 25 ml). Después de 1 hora de reacción, el medio de reacción es diluido en agua (400 ml) y el polímero se purifica mediante ultrafiltración. La fracción molar de éster succínico formado por unidad glicosídica es de 1,0 de acuerdo con la RMN ¹H en D₂O/NaOD (i = 1,0).

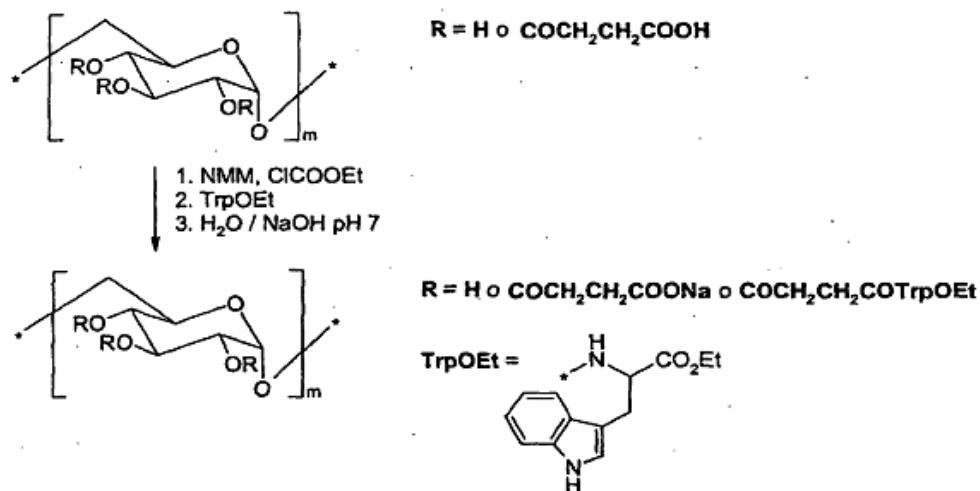
25

Una cierta cantidad de DSA en solución acuosa (350 g de una solución a 28 mg/ml) se acidifica sobre resina de intercambio iónico (300 ml de resina húmeda, Purolite, C100H). La solución obtenida se congela y a continuación se liofiliza.

30

Una cierta cantidad de DSA acidificado (8 g) se solubiliza en el DMF (115 ml) a temperatura ambiente. A la solución enfriada a 0 °C, se le añaden cloroformiato de etilo (3,3 g) y a continuación la NMM (3,1 g). A continuación se añade el clorhidrato del éster etílico del triptófano (3,7 g, Bachem) neutralizado por la TEA (1,4 g) en el DMF (37 ml) al medio de reacción a 4 °C y el medio se agita durante 45 minutos. Después de hidrólisis de los ácidos activados restantes, el polímero es diluido en agua (530 ml) y el pH se fija a 7 mediante la adición de sosa. A continuación, el polímero se purifica mediante ultrafiltración. El polímero obtenido tiene la estructura siguiente.

35



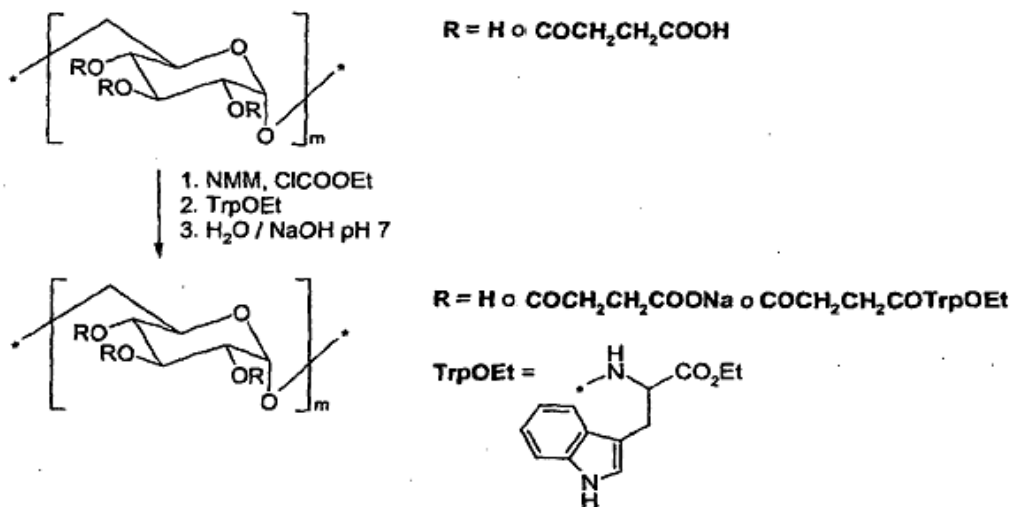
5 La fracción molar de los ácidos modificados por el éster etílico del triptófano es de 0,45 de acuerdo con la RMN ¹H en D₂O/NaOD (n = 0,45). La fracción molar de los ácidos no modificados y modificados por unidad glicosídica es de 1,0 (i = 1,0).

Ejemplo 6: síntesis de un dextrano ácido succínico modificado por el éster etílico del triptófano

10 El dextrano de DP medio 250, D40, (20 g, Amersham Biosciences) se solubiliza en el DMSO (50 ml) a 40 °C. A esta solución se le añaden anhídrido succínico en solución en el DMF (24,7 g en 50 ml) y la N-Metil-Morfolina, NMM, diluida en el DMF (25,0 g en 50 ml). Después de 3 horas de reacción, el medio de reacción se diluye en agua (800 ml) y el polímero se purifica mediante ultrafiltración. La fracción molar de éster succínico formado por unidad glicosídica es de 1,8 de acuerdo con la RMN ¹H en D₂O/NaOD (i = 1,8).

15 Una cierta cantidad de DSA en solución acuosa (720 g de una solución a 29,5 mg/ml) se acidifica sobre resina de intercambio iónico (300 ml de resina húmeda, Purolite, C100H). La solución obtenida se congela y a continuación se liofiliza.

20 Una cierta cantidad de DSA acidificado (22,3 g) se solubiliza en el DMF (542 ml) a temperatura ambiente. A la solución enfriada a 0 °C, se le añaden el clorofornato de etilo (13,4 g) y a continuación la NMM (12,5 g). A continuación se añade el clorhidrato del éster etílico del triptófano (7,5 g, Bachem) neutralizado por la TEA (2,8 g) en el DMF (75 ml) al medio de reacción a 4 °C y el medio se agita durante 45 minutos. Después de hidrólisis de los ácidos activados restantes, el polímero es diluido en agua (530 ml) y el pH se fija a 7 mediante la adición de sosa. A continuación, el polímero se purifica mediante ultrafiltración. El polímero obtenido tiene la estructura siguiente.



25 La fracción molar de los ácidos modificados con el éster etílico del triptófano es de 0,25 de acuerdo con la RMN ¹H en D₂O/NaOD (n = 0,25). La fracción molar de los ácidos no modificados y modificados por unidad glicosídica es de 1,8 (i = 1,8).

REIVINDICACIONES

1. Dextrano funcionalizado caracterizado porque responde a la fórmula general siguiente:

- siendo R una cadena que comprende entre 1 y 18 carbonos, eventualmente ramificada y/o insaturada que comprende uno o varios heteroátomos, y que presenta al menos un grupo funcional ácido
- siendo F bien un éster, un tioéster, una amida, un carbonato, un carbamato, un éter, un tioéter o una amina,
- siendo AA un resto de aminoácido hidrófobo, L o D, producido por el acoplamiento entre la amina del aminoácido y un ácido portado por el grupo R, escogiéndose dicho resto de aminoácido entre los derivados del triptófano, o entre la fenilalanina, la leucina, la isoleucina y la valina y sus derivados de alcohol, amida o descarboxilados.

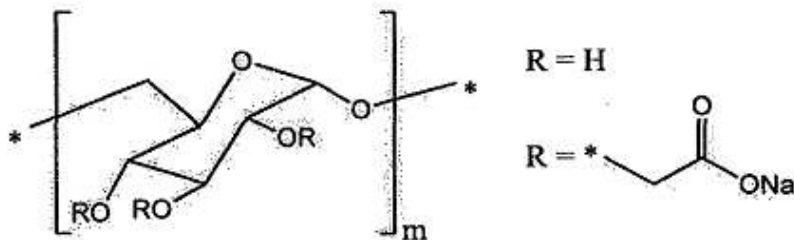
i representa la fracción molar de sustituyente F-R-[AA]_n por unidad glicosídica y está comprendido entre 0,1 y 2,

n representa la fracción molar de los grupos R sustituidos por AA y está comprendido entre 0,05 y 1.

Cuando R no está sustituido por AA, entonces el o los ácidos del grupo R son los carboxilatos de catión, siendo dicho dextrano anfifílico a pH neutro.

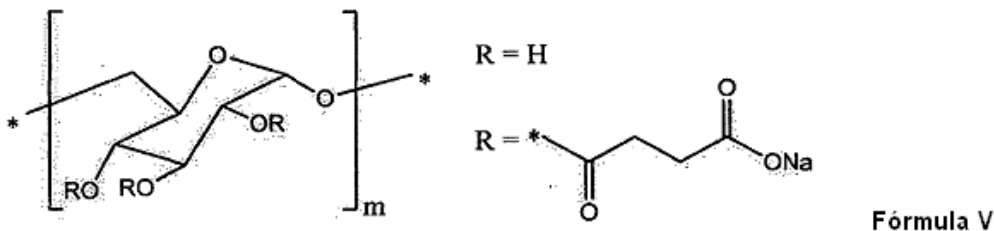
2. Dextrano de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque el grupo F es, bien un éster, un carbonato, un carbamato o un éter.

3. Dextrano de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes caracterizado porque el dextrano es un carboximetil dextrano (DMC) de fórmula IV



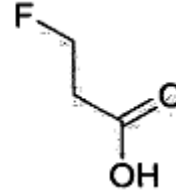
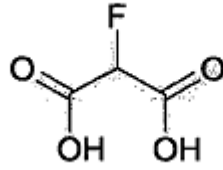
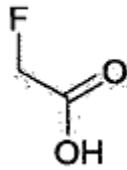
o el ácido correspondiente, y el grado de polimerización m está comprendido entre 10 y 10000.

4. Dextrano de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes caracterizado porque el dextrano es un éster monosuccínico de dextrano o dextrano ácido succínico (DSA) de fórmula V



o el ácido correspondiente, y el grado de polimerización m está comprendido entre 10 y 10000.

5. Dextrano de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes caracterizado porque el grupo R es escogido entre los siguientes grupos:



o sus sales de cationes alcalinos.

- 5 6. Dextrano de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes caracterizado porque el aminoácido hidrófobo es escogido entre los derivados de triptófano.
7. Dextrano de acuerdo con la reivindicación 6, caracterizado porque el aminoácido hidrófobo es escogido entre el triptófano, el triptofanol, la triptofanamida, la 2-indol etilamina y sus sales de cationes alcalinos.
- 10 8. Dextrano de acuerdo con la reivindicación 7, caracterizado porque el aminoácido hidrófobo es escogido entre el triptófano y sus sales de cationes alcalinos.
- 15 9. Dextrano de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 caracterizado porque el aminoácido hidrófobo es escogido entre la fenilalanina, la leucina, la isoleucina y la valina y sus derivados de alcohol, amida o descarboxilados.
- 20 10. Dextrano de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes caracterizado porque su grado de polimerización m está comprendido entre 10 y 1000.
11. Dextrano de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 caracterizado porque el aminoácido hidrófobo es la sal sódica de triptófano.
- 25 12. Composición farmacéutica caracterizada porque comprende un dextrano de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes y al menos un principio activo escogido entre el grupo constituido por las proteínas, las glicoproteínas, los péptidos y las moléculas terapéuticas no peptídicas.