

ÉPREUVE D'UN CANDIDAT

A(Ch), EEQ 2016

La présente invention se rapporte au domaine de l'administration d'insuline pour le traitement des maladies associées à une hyperglycémie par voie orale.

[004] La grande majorité des produits biopharmaceutiques peptidiques sont administrés par injection intraveineuse ou sous-cutanée. Ces modes d'administration sont souvent incommodes et douloureux, notamment lorsqu'il faut procéder quotidiennement à plusieurs injections.

[005] L'administration orale de produits biopharmaceutiques peptidiques remédierait à ces inconvénients.

[006] Par "produits biopharmaceutiques peptidiques", il faut entendre des peptides thérapeutiquement actifs comprenant 70 acides aminés ou moins.

[007] Par "administration orale", il faut entendre l'administration par ingestion. L'absorption des peptides thérapeutiquement actifs dans la circulation sanguine s'effectue habituellement par la muqueuse intestinale.

[008] L'administration orale de produits biopharmaceutiques peptidiques est compliquée puisque les peptides thérapeutiquement actifs sont sujets à une dégradation et/ou déstabilisation dans les conditions acides de l'estomac. Un autre obstacle est la perméabilité de la muqueuse intestinale aux peptides, celle-ci déterminant le degré d'absorption intestinale et l'efficacité de l'action thérapeutique.

[009] Des stratégies sophistiquées s'imposent donc pour protéger les peptides thérapeutiquement actifs dans l'estomac et pour augmenter l'absorption intestinale.

[010] Une approche bien connue est l'encapsulation dans des nanoparticules polymériques. Toutefois, cette stratégie peut ne pas convenir à l'administration orale de peptides thérapeutiquement actifs vu la difficulté d'encapsuler avec des charges médicamenteuses acceptables.

[011] Par "charge médicamenteuse", il faut entendre la quantité de peptide thérapeutiquement actif encapsulé ou piégé dans la nanoparticule polymérique.

D1 décrit des nanoparticules à base de polycyanoacrylate d'isobutyle, capables de piéger de l'insuline, pour une administration par voie orale dans le cadre du traitement du diabète de type 2. Les nanoparticules de D1 peuvent comprendre un stabilisant pharmaceutiquement acceptable. Les nanoparticules de D1 sont préparées par polymérisation interfaciale, et la polymérisation est effectuée dans un milieu à pH neutre ou légèrement acide. Comme il apparaîtra à la lecture de la présente invention, dans les nanoparticules ainsi formées, l'insuline et le PACA ne forment pas de complexes non covalents. L'insuline est sous forme libre dans ces nanoparticules, et il en résulte que la durée d'action de l'insuline est moins grande.

D2 décrit des nanoparticules à base de polycyanoacrylate d'éthyle ou de n-butyle pour la libération contrôlée d'insuline. Les nanoparticules de D2 peuvent être préparées par polymérisation anionique à un pH de 5. De même que pour D1, ceci ne permet pas d'obtenir des nanoparticules dans lesquelles l'insuline et le PACA forment des complexes, et leur durée d'action est ainsi limitée dans le temps. D2 décrit également un procédé dans lequel le pH du milieu de polymérisation est de 1,9 dans lequel aucun stabilisant n'est employé. Cependant ce procédé ne permet pas d'obtenir des nanoparticules suffisamment chargées en insuline, c'est-à-dire présentant une charge en insuline de 10 à 30 % en poids par rapport au poids total de nanoparticules. Ainsi, un tel produit est inefficace sur le plan pharmacologique.

La présente invention a pour objectif de remédier à ces inconvénients en fournissant des nanoparticules comprenant de l'insuline, actives pharmacologiquement, et qui ont une durée d'action plus grande que les nanoparticules de l'art antérieur, lesdites nanoparticules pouvant être administrées oralement.

Par « insuline », on entend classiquement l'insuline ou ses analogues de synthèse.

L'invention a ainsi pour premier objet des nanoparticules selon la revendication 1.

De telles nanoparticules permettent avantageusement une administration orale d'insuline, et la durée d'action de ce produit est grande dans le temps (Figure 1).

Préférentiellement, le PACA est un homopolymère d'un 2-cyanoacrylate d'alkyle choisi parmi : *le 2-cyanoacrylate d'éthyle, le 2-cyanoacrylate de n-butyle, le 2-cyanoacrylate d'isobutyle, le 2-cyanoacrylate de n-hexyle, le 2-cyanoacrylate d'isohexyle.*

[016] Les nanoparticules biodégradables de PACA décrites ici ont un diamètre hydrodynamique compris entre 10 nm et 500 nm mesuré par diffusion dynamique de la lumière. Les nanoparticules absorbables par voie intestinale doivent avoir un diamètre hydrodynamique de 300 nm ou moins. On vise de préférence une population de nanoparticules biodégradables de PACA dont au moins 90% des nanoparticules ont un diamètre hydrodynamique compris entre 100 nm et 300 nm.

[017] Lors de l'administration par voie orale, l'intégrité des nanoparticules biodégradables en PACA est préservée pendant le transit de l'estomac jusqu'à l'intestin grêle. Dans l'intestin grêle, les nanoparticules de PACA sont absorbées et le polymère biodégradable se dégrade lentement en libérant de façon contrôlée le peptide thérapeutiquement actif.

[018] Le rythme auquel le polymère se dégrade et auquel le peptide thérapeutiquement actif se libère dépend en premier lieu de la longueur de la chaîne alkyle des monomères 2-cyanoacrylate d'alkyle. Les polymères de 2-cyanoacrylates d'alkyle à courte chaîne, comme les alkyles en C6 ou inférieurs, se dégradent à des rythmes convenables et leur utilisation est avantageuse. À cet égard, les 2-cyanoacrylates d'alkyle préférés sont le 2-cyanoacrylate d'éthyle et le 2-cyanoacrylate de n-butyle.

[019] Dans notre technologie, ~~un peptide thérapeutiquement actif, plus précisément un peptide métabolique tel que l'insuline, est encapsulé ou piégé~~ dans les nanoparticules biodégradables de PACA lors de la polymérisation, c'est-à-dire que le peptide est dissous ou dispersé dans le milieu de polymérisation, puis la réaction de polymérisation a lieu.

[024] Les nanoparticules de PACA ont une charge médicamenteuse de 10% à 30% en poids ~~de peptide thérapeutiquement actif~~ d'insuline par rapport au poids total des nanoparticules, la préférence allant à une charge médicamenteuse de 15% à 30% en poids. Une charge médicamenteuse inférieure à 10% en poids de peptide thérapeutiquement actif par rapport au poids total des nanoparticules résulte en un encapsulement inefficace et ne suffit pas à produire un effet pharmacologique significatif.

La présente invention a également pour objet un procédé selon la revendication 7, pour la préparation de nanoparticules biodégradables de l'invention.

[022] Le solvant organique est typiquement le chloroforme. Tout acide peut servir à générer la solution aqueuse acide de l'étape a). L'huile est typiquement de l'oléate d'éthyle. Le tensioactif non ionique est typiquement du monolaurate de sorbitane ou de l'alcool polyvinylique.

[023] Le monomère 2-cyanoacrylate d'alkyle C2-C12~~6~~ et le peptide thérapeutiquement actif sont typiquement présents dans un rapport pondéral 2:1.

[025] Un stabilisant acceptable sur le plan pharmaceutique, comme le dextrane, le chitosane, le fucoïdane, la pectine, l'amylase ou l'amylopectine, ~~peut aussi être~~ est aussi incorporé dans les nanoparticules. ~~Dans ce cas,~~ Le stabilisant est ajouté au peptide thérapeutiquement actif dans l'étape a), typiquement à raison de 0,5 à 1% par rapport au poids du peptide thérapeutiquement actif.

[027] Nous avons développé cette méthode avec succès pour préparer des nanoparticules de PACA chargées d'insuline. Lors d'essais préliminaires décrits dans les exemples ci-joints, nous avons administré à des rats, par voie orale, des nanoparticules biodégradables de PACA chargées d'insuline. Nous avons observé que les nanoparticules de PACA libèrent des quantités thérapeutiquement actives d'insuline pendant une période prolongée après l'administration par voie orale. Ceci est démontré par la baisse significative des taux de glucose dans le sang (voir figure 1).

[028] En outre, nous avons été surpris de constater qu'à un pH égal ou inférieur à 2, l'insuline forme un complexe non covalent avec le PACA pendant la réaction de polymérisation. Ce complexe est ensuite piégé dans les nanoparticules biodégradables de PACA. Cependant, à un pH supérieur à 2, l'insuline ne forme pas de complexe mais s'incorpore aux nanoparticules de PACA sous forme d'insuline libre.

[029] Nous pensons que ce phénomène est dû aux propriétés physico-chimiques de l'insuline et au mécanisme de polymérisation anionique. L'insuline a un point isoélectrique est égal à 5,3. À un pH inférieur à 5,3, elle est donc capable d'être chargée positivement. À un pH égal ou inférieur à 2, l'insuline a une forte charge

nette positive, l'insuline peut ainsi former des complexes non covalents avec les chaînes chargées négativement du PACA pendant la réaction de polymérisation.

[030] Les nanoparticules de PACA encapsulant de l'insuline sous la forme d'un complexe non covalent ont l'avantage de libérer l'insuline pendant une période prolongée après l'administration par voie orale. Nous supposons par ailleurs que l'absorption intestinale de l'insuline sous forme d'un complexe non covalent est améliorée. Ceci se traduit par une concentration thérapeutiquement efficace d'insuline dans le sang pendant de plus longues durées, permettant de satisfaire les besoins physiologiques en insuline et de faire baisser les taux de glucose dans le sang (voir figure 1).

[031] Toutefois, nous avons également constaté qu'à un pH égal ou inférieur à 2, l'encapsulation de l'insuline pendant la réaction de polymérisation donne des nanoparticules de PACA ayant des surfaces irrégulières et instables comprenant du matériau cristallin. L'instabilité physique est associée à une encapsulation peu efficace et une charge d'insuline insuffisante.

[032] Pour parer à cet inconvénient, il est essentiel d'incorporer un stabilisant pharmaceutiquement acceptable dans les nanoparticules de PACA préparées à un pH égal ou inférieur à 2. À cet effet, on utilise par exemple le dextrane. Le dextrane apporte la stabilisation nécessaire pour former des nanoparticules de morphologie acceptable. Le chitosane et la pectine sont également utilisés à cette fin avec des résultats tout aussi satisfaisants. Néanmoins, la stabilisation efficace des nanoparticules dépend aussi de la longueur de la chaîne alkyle des monomères 2-cyanoacrylate d'alkyle formant le PACA.

C'est pourquoi l'on utilise des monomères de 2-cyanoacrylate d'alkyle C2-C6.

[033] Les nanoparticules biodégradables de PACA décrites ici peuvent être incorporées à des formes posologiques orales comme les capsules ou les comprimés. On peut en outre appliquer un revêtement aux formes posologiques orales afin de les protéger lors de leur transit par l'estomac.

[034] Les nanoparticules biodégradables de PACA et les formes posologiques orales peuvent servir à traiter une vaste gamme de maladies métaboliques, comme les maladies associées à l'hyperglycémie. Les nanoparticules de PACA chargées

d'insuline peuvent être utilisées pour fournir de l'insuline aux diabétiques, notamment ceux ayant un diabète de type 2.

[035] Notre technologie est illustrée plus en détail par les exemples suivants:

[EXEMPLES 1-4]

[FIGURE 1]

1. Nanoparticules biodégradables de polyacrylate d'alkyle (PACA) comprenant de l'insuline, le diamètre hydrodynamique desdites nanoparticules étant supérieur à 10 nm et inférieur ou égale à 300 nm tel que mesuré par diffusion dynamique de la lumière, caractérisées en ce que ledit PACA est un homopolymère d'un 2-cyanoacrylate d'alkyle C2-C6, et en ce qu'elles présentent une charge médicamenteuse en insuline de 10 à 30 % en poids d'insuline par rapport au poids total desdites nanoparticules, et en ce qu'elles comprennent un stabilisant pharmaceutiquement acceptable, et en ce que l'insuline forme un complexe non covalent avec le PACA, ledit complexe étant piégé dans lesdites nanoparticules.
2. Nanoparticules selon la revendication 1 dans lesquelles le PACA est un homopolymère d'un 2-cyanoacrylate d'alkyle choisi parmi le 2-cyanoacrylate d'éthyle, le 2-cyanoacrylate de n-butyle, le 2-cyanoacrylate d'isobutyle, le 2-cyanoacrylate de n-hexyle, le 2-cyanoacrylate d'isohexyle.
3. Nanoparticules selon la revendication 1 ou 2 caractérisées en qu'au moins 90 % desdites nanoparticules ont un diamètre hydrodynamique compris entre 100 et 300 nm.
4. nanoparticules selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisées en ce qu'elles présentent une charge médicamenteuse en insuline de 15 à 30 % en poids d'insuline par rapport au poids total des nanoparticules.
5. Nanoparticules selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisées en ce que le stabilisant est choisi parmi le dextrane, le chitosane, ou la pectine.
6. Nanoparticules selon la revendication 5, où le stabilisant est le dextrane.
7. Procédé de préparation de nanoparticules biodégradables selon l'une quelconque des revendications 1 à 6 par polymérisation anionique comprenant les étapes suivantes :

- a) on dissout une quantité thérapeutiquement efficace d'un peptide dans une solution aqueuse acide ayant un pH inférieur ou égal à 2 et on ajoute un stabilisant pharmaceutiquement acceptable
- b) on mélange la solution aqueuse à une huile et un tensioactif non ionique et on agite pour former une nanoémulsion eau dans huile
- c) on dissout un monomère 2-cyanoacrylate d'alkyle C2-C6 dans un solvant organique du monomère de l'étape c) à la nanoémulsion de l'étape b) sous agitation continue pour amorcer la polymérisation
- e) on laisse la polymérisation se poursuivre et le solvant organique s'évaporer pour produire les nanoparticules de PACA
- f) on sépare les nanoparticules de la nanoémulsion et on le purifie.
- 8.** Procédé selon la revendication 7, où le stabilisant est ajouté à raison de 0,5 à 1 % par rapport au poids d'insuline à l'étape a).
- 9.** Procédé selon l'une quelconque des revendications 7 ou 8, où le monomère 2-cyanoacrylate d'alkyle C2-C6 et l'insuline sont présents dans un rapport pondéral 2 : 1.
- 10.** Forme posologique orale comprenant les nanoparticules selon l'une quelconque des revendications 1 à 6.
- 11.** Nanoparticules selon l'une quelconque des revendications 1 à 6 ou forme posologique selon la revendication 10 comme médicament.
- 12.** Nanoparticules ou forme posologique selon la revendication 11 pour le traitement des maladies associées à l'hyperglycémie.
- 13.** Nanoparticules ou forme posologique selon la revendication 12, pour le traitement du diabète.

14. Nanoparticules ou forme posologique selon la revendication 13, pour le traitement du diabète de type 2.

Examination Committee I: Paper A - Marking Details - Candidate No

| Category | | Max. possible | Marks Marker | Marker |
|--------------------|----------------------------------------|------------------|-----------------|-----------|
| Independent claims | Product claim | 32 | 32 | 32 |
| Independent claims | Method for preparing the nanoparticles | 24 | 21 | 21 |
| Independent claims | Oral dosage and medical use | 14 | 12 | 12 |
| Dependent claims | Dependent claims | 15 | 12 | 12 |
| Description | Description | 15 | 11 | 11 |
| Total | | | 88 | 88 |

Examination Committee I agrees on 88 points and recommends the grade PASS