

Le principe actif amorceur : une approche simple et originale pour concevoir des nanoparticules à visée thérapeutique

Julien Nicolas

Résumé

Cet article illustre, au moyen de quelques exemples représentatifs, toute la simplicité, la polyvalence et l'efficacité de la méthode du "principe actif amorceur" comme stratégie originale pour concevoir des nanoparticules de prodrogues polymères pour la thérapie anticancéreuse.

Mots-Clés

polymère, polymérisation radicalaire contrôlée, principe actif, prodrogue, nanoparticule, cancer

Abstract

From several representative examples, this article illustrates the simplicity, the versatility and the efficacy of the drug-initiated method as an original strategy to develop polymer prodrug nanoparticles for anticancer therapy.

Keywords

polymer, controlled radical polymerization, drug, prodrug, nanoparticle, cancer

La délivrance spécifique de molécules thérapeutiques vers un organe, un tissu ou une cellule malade, constitue aujourd'hui un défi majeur pour le traitement des maladies humaines, notamment infectieuses, cancéreuses ou d'origine génétique. En effet, en dépit de leur efficacité intrinsèque, les principes actifs sont souvent confrontés de par leurs caractéristiques physico-chimiques à de nombreux obstacles dès lors que le site d'administration est différent du site d'action. Des concentrations thérapeutiques efficaces au niveau du site d'action peuvent être obtenues, mais généralement au prix d'une déperdition importante en principe actif vers d'autres tissus ou cellules qui ne sont pas pathologiques. Ceci occasionne généralement des effets toxiques importants, voire rédhibitoires, conduisant à l'arrêt des traitements. L'utilisation de systèmes nanoparticulaires (e.g., nanoparticules, micelles, etc.) pour transporter les principes actifs offre des solutions potentielles pour le développement de traitements plus efficaces et moins toxiques pour le patient.¹ En s'appuyant sur des concepts innovants en chimie et physico-chimie, ainsi que sur le développement de nouveaux matériaux, la recherche galénique a permis de concevoir des systèmes nanoparticulaires, notamment à base de polymères, capables non seulement de protéger le principe actif d'une dégradation précoce, mais également d'en contrôler la libération en termes de localisation mais aussi de durée (contrôle spatio-temporel).^{2,3}

Les nanoparticules polymères pour la délivrance de principes actifs sont généralement obtenues par encapsulation de principes actifs au sein de la matrice polymère lors de l'étape de formulation et d'auto-assemblage des nanoparticules en solution aqueuse. Cependant, bien qu'étant à l'origine de nombreux résultats prometteurs et essais cliniques,² cette approche possède des limitations majeures, telles que : (i) le '*burst release*', c'est-à-dire la libération rapide d'une fraction significative de principes actifs post-injection, pouvant entraîner une toxicité ; (ii) la difficulté à encapsuler certains principes actifs peu miscibles dans la matrice polymère, nécessitant l'utilisation de co-solvants organiques potentiellement toxiques et (iii) le très faible taux de chargement en principe actif (e.g., quelques pourcents) nécessitant l'administration d'une grande quantité de nanoparticules, pouvant également conduire à des effets toxiques.

Afin de contourner ces limitations, l'approche "prodrogue", qui consiste en un couplage entre le principe actif et le polymère, peut être avantageusement utilisée.⁴ Le principe actif est rendu inactif dès lors qu'il est couplé au polymère et doit donc être libéré pour pouvoir exercer à nouveau son activité. Cependant, les systèmes de nanoparticules de prodrogues développés jusqu'à présent ne permettent pas de résoudre l'ensemble des problèmes précédemment évoqués (e.g., taux de chargement encore modestes) et sont même à l'origine de nouveaux inconvénients (e.g., synthèses multi-étape complexes).

Afin de contourner astucieusement toutes ces difficultés, nous nous sommes orientés vers une nouvelle approche permettant de concevoir aisément des nanoparticules de prodrogues polymères ayant une forte activité anticancéreuse. Cette méthode, appelée "principe actif amorceur",⁵ consiste à faire croître par polymérisation radicalaire contrôlée (PRC) une courte chaîne de polymère vinylique à partir d'un principe actif préalablement fonctionnalisé par un groupement permettant d'effectuer de la PRC (Figure 1). Les conjugués principe actif-polymère, qui possèdent alors une molécule de principe actif à l'extrémité de chaque chaîne de polymère, sont ensuite formulés par nanoprécipitation sous la forme de nanoparticules. Quelques exemples illustrant nos travaux sont détaillés dans les paragraphes suivants.

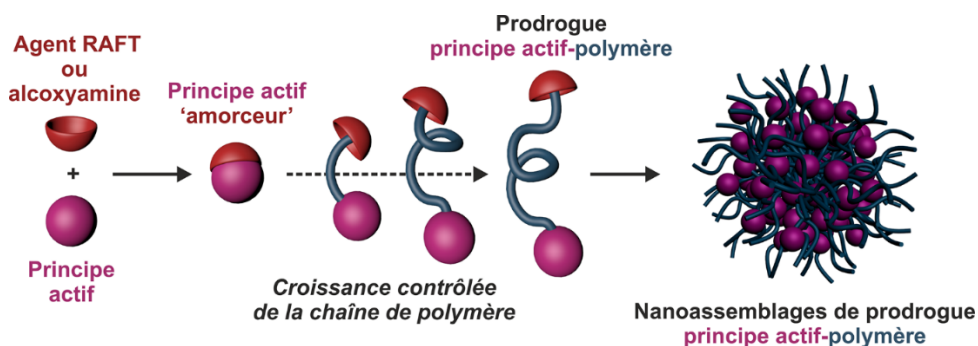


Figure 1. Synthèse de nanoparticules de prodrogues polymères par la méthode du 'principe actif amorceur'.

Nous avons tout d'abord fonctionnalisé la gemcitabine (Gem), qui est un principe actif anticancéreux utilisé notamment contre le cancer du pancréas, du sein et du poumon : (i) soit par un groupement trithiocarbonate pour polymériser le méthacrylate de squalène (SqMA, Figure 2) par RAFT⁶ (*reversible addition-fragmentation chain-transfer polymerization*) ; (ii) soit par une alcoxyamine basée sur le nitroxyde SG1 pour polymériser l'isoprène (Figure 3) par NMP⁷ (*nitroxide-mediated polymerization*). Le choix de synthétiser ces deux polymères (PSqMA et PI) a été motivé par la biocompatibilité du squalène (lipide naturel) et par le fait que l'isoprène est le motif structural de base de nombreux terpènes naturels biocompatibles (e.g., Sq, vitamine E, rétinol, etc.).

Par ces deux voies de synthèse, nous avons donc obtenu des composés de type Gem-PSqMA^{8,9} et Gem-PI,¹⁰ bien définis et de longueur de chaîne ajustable, qui ont ensuite été nanoprécipités pour donner des nanoparticules stables de diamètres compris entre 100 et 150 nm avec des distributions de taille étroites (Figures 2 et 3). Il est à noter que les masses molaires visées sont assez faibles ($M_n < 5000 \text{ g.mol}^{-1}$), ce qui permet d'obtenir des taux de chargement en principe actif élevés (~10–30 wt.%) Cette nouvelle approche pour concevoir des prodrogues polymères permet également, du fait de la polyvalence et du contrôle apportés par la PRC, d'étudier l'influence des caractéristiques macromoléculaires de la chaîne de polymère (e.g., nature du polymère utilisé, longueur de chaîne, etc.) sur les caractéristiques colloïdales des nanoparticules ainsi que sur leur efficacité anticancéreuse.

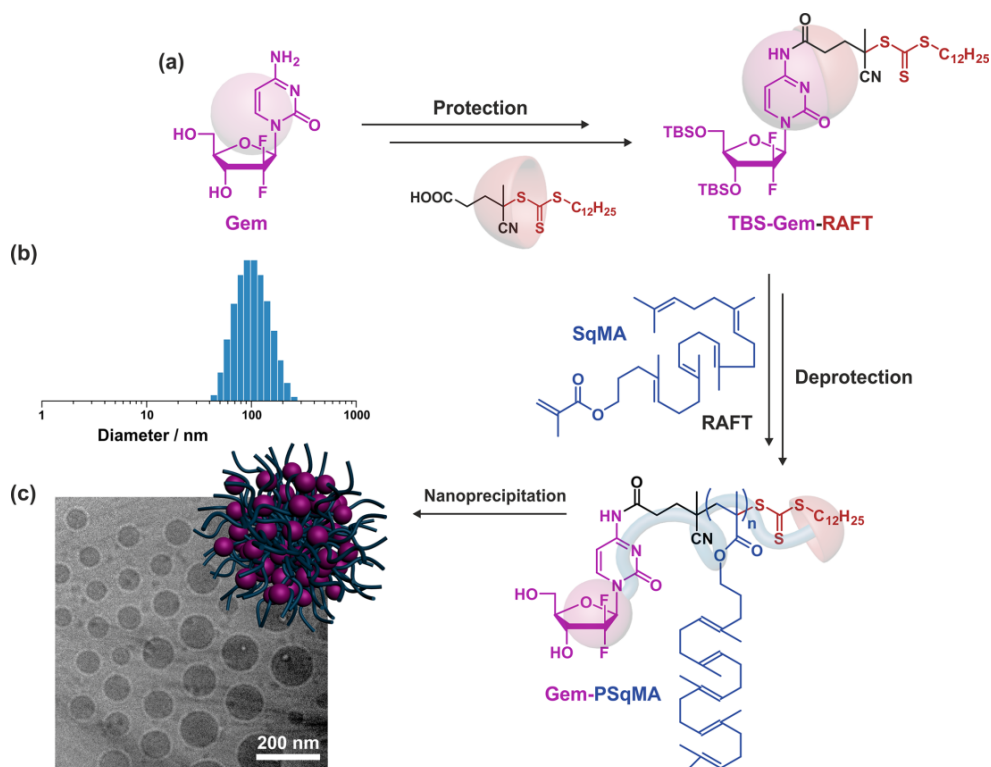


Figure 2. (a) Synthèse de nanoparticules de gemcitabine-poly(méthacrylate de squalène) (Gem-PSqMA) par polymérisation radicalaire contrôlée de type RAFT. (b) Diamètre moyen par DLS des nanoparticules de Gem-PSqMA. (c) Cliché de cryo-TEM des nanoparticules de Gem-PSqMA.

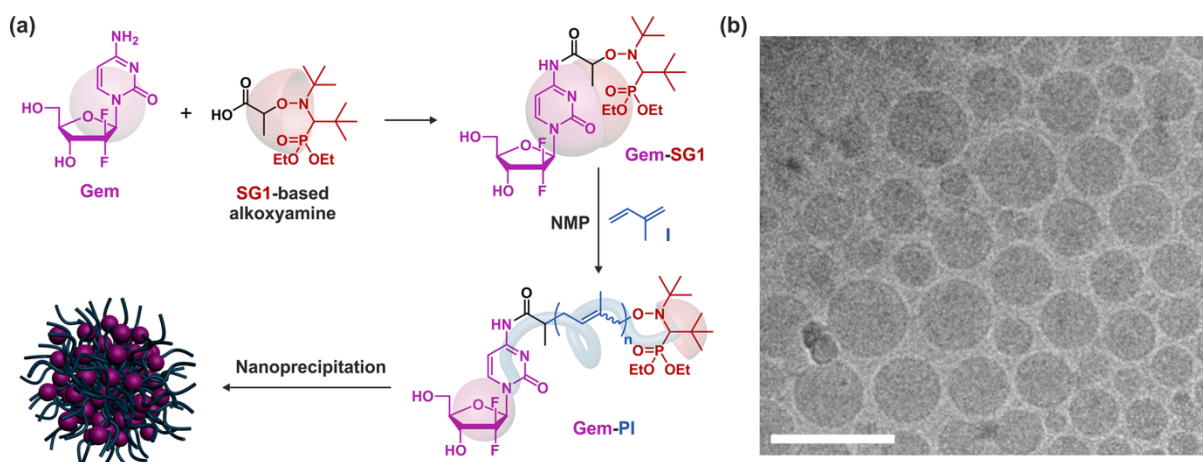


Figure 3. (a) Synthèse de nanoparticules de gemcitabine-polyisoprène (Gem-PI) par polymérisation radicalaire contrôlée par les nitroxydes (NMP). (b) Cliché de cryo-TEM des nanoparticules de Gem-PI.

Les nanoparticules de Gem-PSqMA ont montré une cytotoxicité importante *in vitro* sur diverses cellules cancéreuses (e.g., L1210, A549, MiaPaCa-2, etc.) et *in vivo* sur des tumeurs solides MiaPaCa-2, démontrant ainsi leur efficacité.⁹ Les composés Gem-PSqMA ont également été co-nanoprécipités avec du squalène-poly(éthylène glycol) (Sq-PEG, $M_{n,PEG} = 2000 \text{ g.mol}^{-1}$) et les nanoparticules ainsi obtenues ont montré une excellente stabilité colloïdale quelle que soit la quantité de Sq-PEG ajoutée, ainsi qu'une diminution significative de l'activation du complément, signe d'une couverture efficace de la surface des nanoparticules par le PEG.⁸

De manière tout à fait remarquable, les nanoparticules de Gem-PI, qui sont beaucoup plus simples à préparer que celles à base de PSqMA (seulement 3 étapes de synthèse, rendement élevé, aucune protection/déprotection de groupements fonctionnels, structure plus simple, etc.) ont également montré une cytotoxicité significative *in vitro* sur plusieurs lignées cancéreuses et un fort

ralentissement de la croissance tumorale in vivo sur tumeurs solides MiaPaCa-2, contrairement aux traitements de contrôle (Figure 4).¹⁰ Du fait de leurs taux de chargement en Gem bien supérieurs à ceux des nanoparticules de Gem-PSqMA, il fut également possible d'injecter des doses plus élevées de Gem sans pour autant observer d'effets toxiques néfastes au reste de l'organisme, et ce grâce à l'utilisation de la forme prodrogue. Il semblerait également qu'il existe une corrélation entre la longueur de la chaîne de PI et l'efficacité anticancéreuse, phénomène que nous étudions à l'heure actuelle.

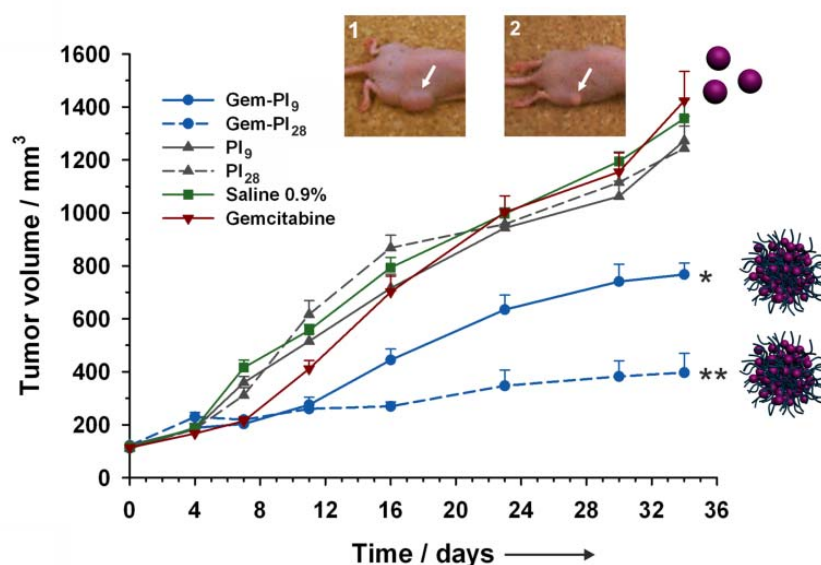


Figure 4. Activité anticancéreuse des nanoparticules de Gem-PI, de la Gem et des nanoparticules de PI. Evolution de l'évolution du volume de la tumeur en fonction du temps. Encarts : photographies de souris représentatives indiquant la position de la tumeur après traitement (1) au NaCl 0.9% et (2) avec les nanoparticules de Gem-PI₂₈.

Nous avons ensuite testé l'applicabilité de cette méthode à un autre principe actif : la cladribine (CdA) qui est un anticancéreux utilisé pour traiter la leucémie à tricholeucocytes. La fonctionnalisation du groupement amine de la CdA s'étant avérée infructueuse, nous nous sommes alors tournés vers la fonctionnalisation de son groupement hydroxyle secondaire. Deux types de conjugués ont été obtenus et diffèrent selon la nature du lien entre le polymère et la CdA afin d'en moduler la libération : (i) soit une simple fonction ester (CdA-PI, Figure 5a) ; (ii) soit un espaceur de type diglycolate (digly), connu pour être beaucoup plus labile en milieux biologiques (CdA-digly-PI, Figure 5b).¹¹

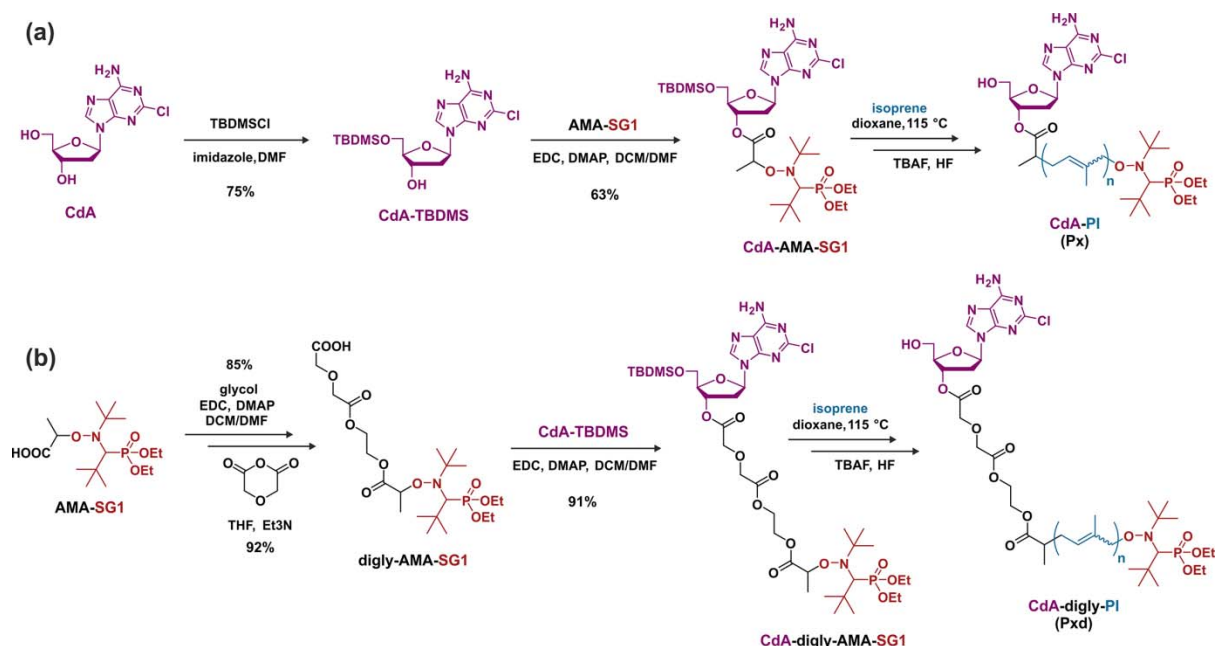


Figure 5. Synthèse de nanoparticules de prodrogues à base de cladribine (CdA) par la méthode du 'principe actif amorceur' via l'utilisation d'une liaison (a) ester ou (b) diglycolate entre la CdA et le PI.

Deux bibliothèques de ces conjugués ont été synthétisées avec succès en faisant varier la longueur de la chaîne de PI de 1500 à 5000 g.mol⁻¹. Les nanoparticules obtenues par nanopréciipitation possèdent des tailles comprises entre 120 et 200 nm, des distributions étroites et une très bonne stabilité colloïdale. Les taux de chargement en principe actif varient quant à eux entre 6 et 20 % selon la longueur de la chaîne de PI.

L'influence de la nature de l'espaceur entre le principe actif et le polymère a été mise en évidence par une forte activité cytotoxique des nanoparticules de CdA-digly-PI sur diverses lignées cellulaires cancéreuses *in vitro*, tandis que leurs homologues de CdA-PI n'ont donné lieu à aucune diminution de la viabilité cellulaire dans les mêmes conditions. Ces résultats s'expliquent par une différence notable de stabilité entre les fonctions ester et diglycolate dans les milieux biologiques. En effet, après incubation des nanoparticules de CdA-PI dans du sérum humain à 37 °C pendant 24h, aucune libération de CdA n'est observée, contrairement aux nanoparticules de CdA-digly-PI où la CdA est libérée rapidement (Figure 6). Il est à noter que ces mêmes nanoparticules n'ont en revanche pas conduit à une libération notable de CdA après incubation dans du tampon phosphate (PBS), démontrant ainsi un clivage spécifique lié à la présence d'enzymes.

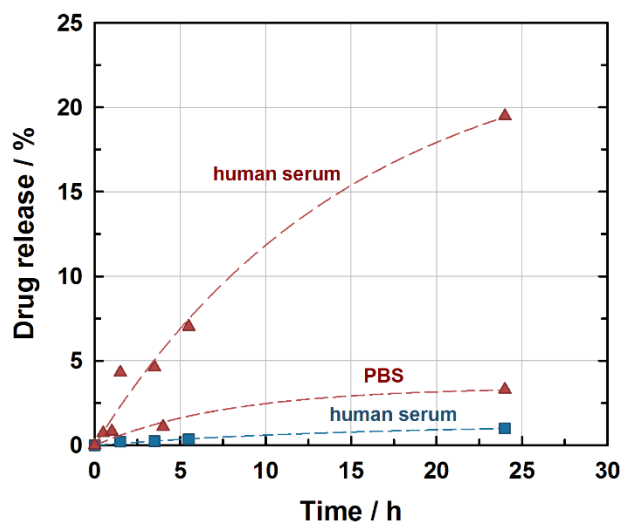


Figure 6. Pourcentage de libération de la CdA à 37°C à partir de nanoparticules de : CdA-PI (■) dans le sérum humain et de CdA-digly-PI (▲) dans le sérum humain ou dans le tampon phosphate.

Ces quelques exemples représentatifs illustrent toute la simplicité, la polyvalence et l'efficacité de la méthode du "principe actif amorceur" comme stratégie originale pour concevoir des nanoparticules de prodrogues polymères pour la thérapie anticancéreuse. De nouvelles voies sont à l'heure actuelle à l'étude afin de rendre ces matériaux biodégradables ou adaptables à d'autres types de pathologies.



Julien Nicolas

est Directeur de Recherche CNRS à l'Institut Galien Paris-Sud (UMR CNRS 8612), Université Paris-Sud.*

*Institut Galien Paris-Sud, CNRS UMR 8612

Université Paris-Sud, Faculté de Pharmacie,

Tour D5, 2eme étage

5, rue Jean-Baptiste Clément

92296 Châtenay-Malabry

France

Tel. : +33 (0)1 46 83 58 53

Email : julien.nicolas@u-psud.fr

Site internet : <http://julnicolas.free.fr>

Twitter : [@julnicolas](https://twitter.com/julnicolas)

1. Farokhzad, O. C.; Langer, R. *ACS Nano* **2009**, 3, 16.
2. Nicolas, J.; Mura, S.; Brambilla, D.; Mackiewicz, N.; Couvreur, P. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, 42, 1147.
3. Nicolas, J.; Couvreur, P. *Med. Sci.* **2017**, 33, 11.

4. Delplace, V.; Couvreur, P.; Nicolas, J. *Polym. Chem.* **2014**, 5, 1529.
5. Nicolas, J. *Chem. Mater.* **2016**, 28, 1591.
6. Moad, G.; Rizzardo, E.; Thang, S. H. *Aust. J. Chem.* **2009**, 62, 1402.
7. Nicolas, J.; Guillaneuf, Y.; Lefay, C.; Bertin, D.; Gigmes, D.; Charleux, B. *Prog. Polym. Sci.* **2013**, 38, 63.
8. Bui, D. T.; Maksimenko, A.; Desmaele, D.; Harrisson, S.; Vauthier, C.; Couvreur, P.; Nicolas, J. *Biomacromolecules* **2013**, 14, 2837.
9. Maksimenko, A.; Bui, D. T.; Desmaële, D.; Couvreur, P.; Nicolas, J. *Chem. Mater.* **2014**, 26, 3606.
10. Harrisson, S.; Nicolas, J.; Maksimenko, A.; Bui, D. T.; Mougin, J.; Couvreur, P. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2013**, 52, 1678.
11. Bao, Y.; Boissenot, T.; Guégain, E.; Desmaële, D.; Mura, S.; Couvreur, P.; Nicolas, J. *Chem. Mater.* **2016**, 28, 6266.