

## NOUVEAUX CONJUGUÉS À BASE DE POLYSACCHARIDES ET DÉRIVÉS D'AMINOACIDES

### NEW CONJUGATES BASED ON POLYSACCHARIDES AND AMINOACID DERIVATIVES

Mihaela-Nicoleta IANCU,<sup>a\*</sup> Marcel POPA,<sup>b</sup> Valeriu SUNEL<sup>b</sup> et Thierry HAMAIDE<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Université Technique Gh Asachi Iasi, Faculté d'Ingénierie Chimique et de la Protection de l'Environnement, 71 A, Bd. D. Mangeron, 700050, Iasi, Roumanie

<sup>b</sup>Université Al I Cuza Iasi, Faculté de Chimie, Département de Chimie Organique et Biochimie, 11, Bd. Carol I, RO-700506 – Iași, Roumanie

<sup>c</sup>Université Claude Bernard Lyon 1, Bât ISTIL 15, Bd. Latarjet, 69622 Villeurbanne Cedex, France

Reçu le 25 mars, 2009

La conjugaison des médicaments avec des polymères est une méthode très fréquente pour l'obtention des systèmes de libération contrôlée des médicaments. Dans cet expérience, on a essayé de synthétiser des conjugués à base de polysaccharide - amidon et 2-hydroxyéthylecellulose (HEC) et dérivés d'aminoacides (m-nitrobenzoyle asparagine et N- acétyl méthionine), par liaisons chimiques covalentes. Le paramètre variable de réaction a été le rapport molaire médicament/support polymérique. Les conjugués obtenus ont été caractérisés par FT-IR, par leur capacité de liaison et libération du principe actif, et par leur toxicité.

Drug conjugation with polymers is a very well known method for obtaining drug delivery systems. In this work, we synthesized chemically bounded conjugates, based on natural and synthetic polysaccharides (starch and 2-hydroxyethylcellulose) and two aminoacid derivatives (m-N-nitrobenzoyl asparagine and N-acetyl methionine). The variable reaction parameter was the drug/ polymer molar ratio. The obtained conjugates were characterized by FT-IR, their ability to bond and release the active principle, and their toxicity.

### INTRODUCTION

Dans le contexte d'obtention des systèmes de transport ciblés des principes actifs, ont été réalisés des systèmes complexes principe actif – substance de transport ou promoteur,<sup>1</sup> qui induisent certains avantages à leur utilisation, comme l'augmentation de la solubilité dans l'eau et liquides biologiques pour les médicaments peu solubles ou insolubles, fait qui détermine l'augmentation de la biodisponibilité des médicaments, de la spécificité de la libération et de la vitesse de perméation par membranes.<sup>1,2</sup>

Les promoteurs macromoléculaires forment avec les médicaments des liaisons chimiques (estériques, amide, ou di-sulfhydrique), physico-chimique ou sont assimilés. Ainsi, les principes actifs sont protégés, et le système formé a l'habilité de dépasser les barrières biologiques, de reconnaître les récepteurs pharmacologiques spécifiques et de libérer la substance active dans le

lieu visé, par dégradation enzymatique des liaisons principe actif- promoteur ou par diffusion du principe actif.<sup>3</sup>

Numérous méthodes de conjugaison des médicaments avec les polymères ont été essayées à compter de 1950. En 1955, Jatkewitz a obtenu un conjugué peptamine-poly-vinyl-pirolidone qui a amélioré l'efficacité du principe actif lié,<sup>4</sup> mais les applications biologiques des promédicaments polymériques ont été pas très considères. Cependant, les années prochaines ont connu un revirement dans le développement des nouvelles méthodes de conjugaison avec des polymères. En 1975, Ringsdorf a proposé un model rational pour les polymères bioactifs, il étant considéré le pionnier dans la recherche des promédicaments polymériques.<sup>5</sup>

Pour la réalisation des conjugués polymère - médicament, la substance biologique active est immobilisée dans/sur un support polymérique par liaisons physique ou chimiques. Quand on obtient

\*Auteur pour la correspondance: iahim979@yahoo.com

des conjugués polymère - médicament à base des polysaccharides, l'immobilisation est réalisée par liaison chimique. En principe, le couplage chimique du principe actif au support polymère peut être réalisé par la création des groupes réactifs sur la chaîne macromoléculaire, ou par condensation des groupes carboxyliques ou amine du support macromoléculaire avec des groupes complémentaires du principe biologiquement actif dans la présence des carbodiimides comme activateurs.

## RESULTATS ET DISCUSSION

### 1. Analyse FT-IR

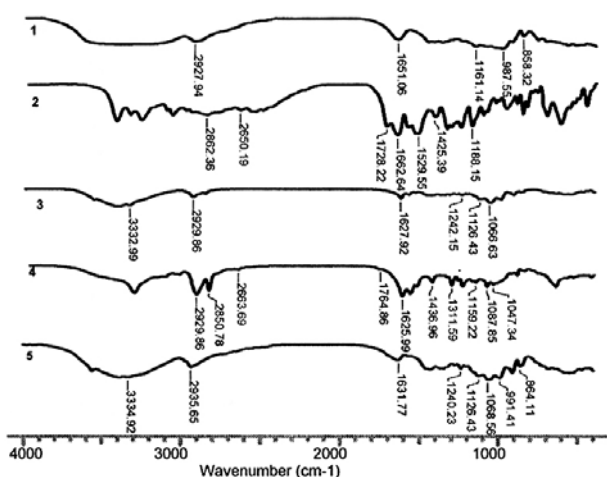


Fig. 1 – Représentation des spectres IR pour : 1- amidon, 2 –dérivé d'asparagine, 3 –dérivé de méthionine 4 –conjugué amidon – dérivé d'asparagine, 5 –conjugué amidon – dérivé de méthionine.

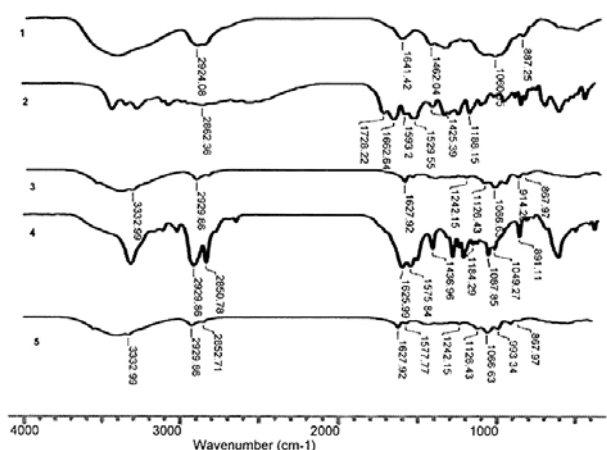


Fig. 2 – Représentation des spectres IR pour : 1 – hydroxyéthylecellulose, 2 – dérivé d'asparagine, 3 –dérivé de méthionine, 4 –conjugué 2- hydroxyéthylecellulose – dérivé d'asparagine, 5 – conjugué 2-hydroxyethyle cellulose – dérivé de méthionine.

Les spectres FTIR des conjugués présentent une bande d'absorption avec une longueur d'onde qui varie entre 1047 et 1087 $\text{cm}^{-1}$ , valeur, qui correspond aux nouveaux groupes ester formés, démontrant que le médicament a été couplé sur le support polymère.

### 2. Analyse élémentale

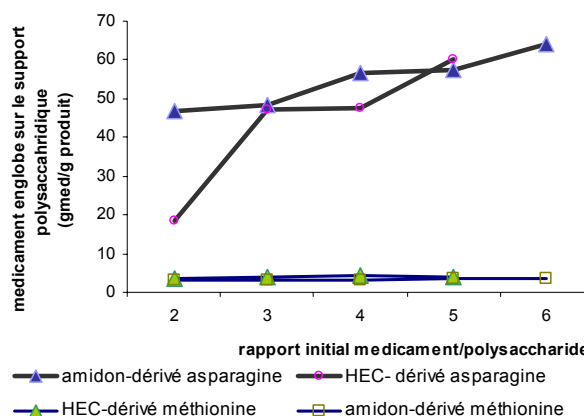


Fig. 3 – Représentation graphique de l'influence du rapport molaire médicament / polysaccharide sur le pourcentage du principe actif immobilisé sur le support polymérique.

Le dosage d'azote dans les produits obtenus par couplage a donné des informations sur la capacité de liaison des médicaments sur l'amidon et le hydroxyéthylecellulose, autant que seul les médicaments et pas les polysaccharides apportent l'azote. Ainsi, on a observé que seulement les produits obtenus par le couplage d'amidon et d'hydroxyéthylecellulose avec le dérivé d'asparagine présentent un pourcentage élevé du médicament couplé, l'efficacité du couplage étant proportionnel avec le rapport initial médicament / support polysaccharide. Les produits à base du dérivé de méthionine présentent une efficacité de couplage très basse.

### 3. Détermination de la cinétique de relargage du médicament couplé

Le plus efficient profil de relargage a été présent aux conjugués à base d'amidon et du dérivé d'asparagine, quand on a enregistré un relargage lent et soutenu du médicament, avec un maximum à 24 heures.

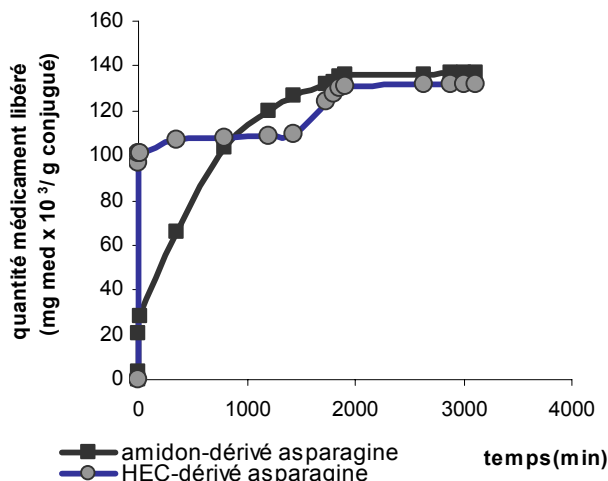


Fig. 4 – Représentation de la cinétique de relargage des conjugués à base d'amidon et d'hydroxyéthylecellulose et le dérivé d'asparagine.

#### 4. Testes de toxicité

Les tests de toxicité ont été réalisés sur souris de laboratoire par déterminer la dose létale (DL 50) sur des échantillons des produits de couplage à base d'amidon et de 2-hydroxyéthylecellulose et les dérivés d'asparagine et de méthionine et on a obtenu des valeurs élevées, entre 6175 mg/kg corps et 7125 mg/Kg corps, indiquant une toxicité très basse.

## EXPERIMENTAL

### Matériaux

L'amidon soluble, 2-hydroxyéthylecellulose de masse moléculaire moyenne de 90000 Da et dicyclohexylcarbodiimide ont été obtenus de Sigma-Aldrich.

Les dérivés ont été synthétisés dans notre laboratoire, et étudiés par leur toxicité et leur rôle hépatoprotecteur. Les études effectuées, qui font partie d'une autre étude, ont déterminé l'élection des dérivés pour cette étude.

### Méthodes

Différentes quantités de médicament (3-6 mols médicaments/ 1 mol polysaccharide) dissoutes en diméthyle sulfoxyde, sont mélangées avec une quantité constante de polysaccharide. Dans ce système on additionne une solution d'activateur (1 mole médicament/ 1,2 moles DCCI), et on laisse à réagir pour 24 heures à une température de 15-18 °C.

Les produits obtenus ensuite les réactions sont rincés/précipités consécutivement avec d'acétone et par flux d'acétone dans une installation Soxhlet, pour 24 heures, pour l'éloignement de l'excès d'activateur et de dicyclohexylurée formée ensuite le couplage. Puis, les produits sont séchés sous vide, pour 48 heures, à 40 °C.

Les conjugués obtenus ont été caractérisés par : FT-IR, analyse élémentaire (dosage d'azote), cinétique de relargage du médicament *in vitro*, et toxicité.

Le relargage des médicaments a été évalué par les modifications du pH d'une solution basique de NaOH (cca 11) en temps, au contact à 37 °C avec 0,2 g produits obtenus par couplage chimique, sous agitation magnétique. L'abaissement du pH a été déterminé par la « consommation » de la basicité nécessaire pour la destruction de la liaison ester réalisée entre le médicament et le polysaccharide.

## CONCLUSIONS

On a synthétisé des conjugués à base des polysaccharides (amidon et hydroxyéthylecellulose) et dérivés d'acides aminés (m-nitrobenzoyle asparagine et N-acétylméthionine), par couplage chimique covalente, avec des différents rapports molaires médicament / polysaccharide.

Les conjugués obtenus ont été caractérisés par FT-IR, par leur capacité de liaison du principe actif (le dosage d'azote), par la capacité de relargage du principe lié dans l'environnement basique à 37 °C, et par leur toxicité.

On a observé que l'efficacité de couplage des médicaments augmente avec le rapport molaire médicament/polysaccharide.

Les conjugués qui ont prouvé être les plus prometteurs par l'efficacité d'inclusion et relargage du médicament sont les conjugués obtenus à base d'amidon et du dérivé d'asparagine.

Les conjugués obtenus présentent une très basse toxicité, ils peuvent être bien acceptés par l'organisme.

En conclusion, les conjugués obtenus par l'immobilisation du dérivé d'asparagine et du polysaccharide peuvent être utilisés avec succès pour le relargage contrôlé des dérivés hépatoprotectifs.

## REFERENCES

1. J. Khandare et T. Minko, "Polymer-Drug Conjugates" in *Progress in Polymeric Prodrugs*, Elsevier, **2006**, p.359-397.
2. DH Lewis, "Controlled Release of Bioactive Agents from Lactide/glycolide Polymers", In: M. Chasin, R. Langer, *Biodegradable polymers as drug delivery systems*, New York: Marcel Dekker, **1990**, p. 12.
3. M. Chasin et R. Langer, "Biodegradable Polymers as Drug Delivery Systems", New York, Marcel Dekker, **1990**, p. 35.
4. H. Jatzkewitz, *Z. Naturforsch*, **1995**, *10b*, p. 27-31.
5. H. Ringsdorf, *Journal Polymeric Science Symposium*, **1975**, *51*, p.135-53.