

Des prodrogues polymères pour la délivrance de principes actifs

Délivrer de manière sélective et efficace des molécules thérapeutiques pour soigner des maladies graves comme le cancer constitue un défi d'envergure. Les chimiothérapies traditionnelles, qui reposent sur l'administration du principe actif libre, possèdent de nombreuses limitations telles qu'une métabolisation précoce du principe actif, une forte toxicité, ainsi que de faibles concentrations thérapeutiques en principe actif au niveau du site d'action.

L'incorporation de principes actifs au sein de nanoparticules polymères offre de nouvelles opportunités pour pallier ces désavantages et ainsi espérer conduire à des traitements plus efficaces et moins toxiques pour le patient [1]. Ces nano-transporteurs, composés de polymères biocompatibles et/ou biodégradables, peuvent en effet franchir plus facilement les barrières biologiques et permettre l'accumulation préférentielle des principes actifs dans les zones affectées par la maladie. Néanmoins, la plupart des nanoparticules conçues reposent sur une encapsulation dite physique des principes actifs dans la mesure où ils sont simplement emprisonnés dans la matrice polymère lors de l'étape de formulation. Ceci conduit généralement à une libération rapide et incontrôlée du principe actif post-administration, pouvant induire des effets toxiques, et des taux de chargement en principe actif relativement faibles, ce qui nécessite l'administration d'une grande quantité de nanoparticules dans l'organisme.

Afin de résoudre ces problèmes, il est possible de coupler le principe actif au polymère pour faire ce que l'on appelle une « prodrogue polymère » [2]. Le principe actif est alors rendu inactif du fait de ce lien covalent qui, une fois rompu, lui permet d'être libéré pour pouvoir exercer à nouveau son activité. Cependant, la plupart des méthodes de synthèse de prodrogues polymères présentent des contraintes importantes en termes de complexité et de rendement, ainsi que de taux de chargement en principes actifs qui restent malgré tout encore modestes. Notre équipe a cherché à développer une nouvelle stratégie de synthèse permettant de contourner ces difficultés.

Nouvelle stratégie de synthèse

C'est dans ce contexte que nous avons mis au point une méthode de conception de prodrogues polymères anticancéreuses, à la fois simple et efficace, appelée méthode du « principe actif amorceur » [3]. Elle consiste à coupler une molécule de principe actif à un agent de contrôle de polymérisation radicalaire contrôlée (PRC), qui va ensuite servir à amorcer la polymérisation d'un monomère vinylique (figure 1). Des conjugués de type principe actif-polymère possédant une molécule de principe actif couplée à l'extrémité d'une courte chaîne de polymère vinylique sont ainsi obtenus par croissance contrôlée du polymère à partir du principe actif. Lorsque le polymère est hydrophobe, ces prodrogues sont ensuite formulées par nanopréciipitation sous la forme de nanoparticules. Une fois ces nanoparticules administrées dans l'organisme, la libération du principe actif s'effectue par simple clivage de la liaison principe actif-polymère, généralement un groupement ester ou amide, par les enzymes spécifiques et/ou par hydrolyse.

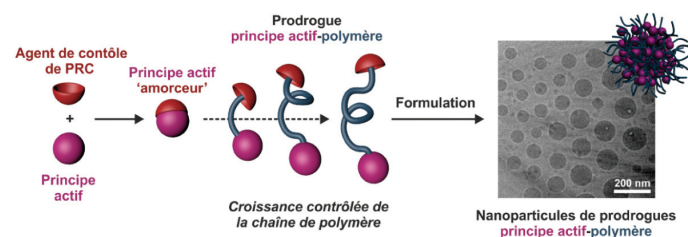


Figure 1 - Synthèse de nanoparticules de prodrogues polymères par la méthode du « principe actif amorceur ».

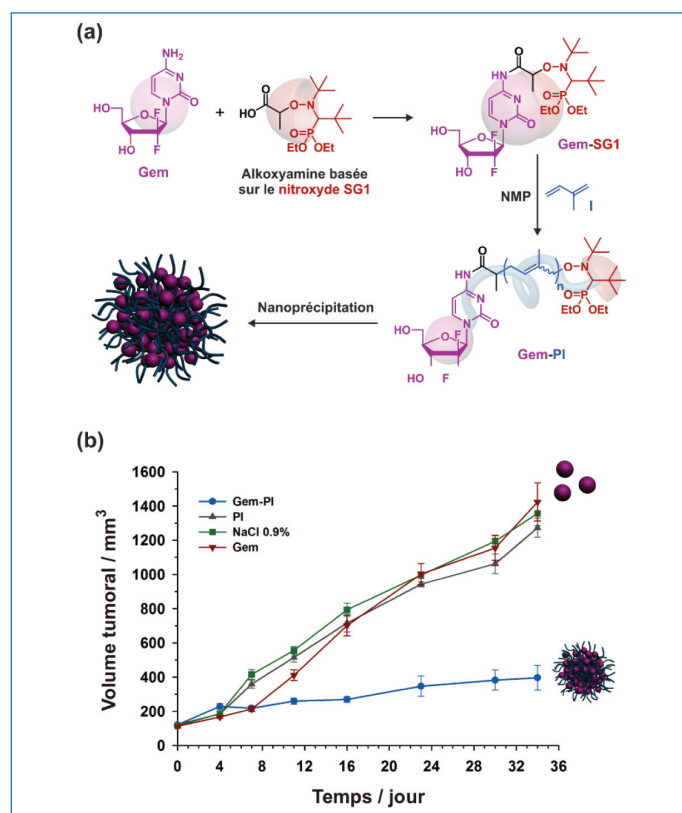


Figure 2- (a) Synthèse de nanoparticules de gemcitabine-polysoprène (Gem-PI) par polymérisation radicalaire contrôlée par les nitroxydes (NMP) puis nanopréciipitation. (b) Efficacité anticancéreuse des nanoparticules de Gem-PI, de la Gem libre et des nanoparticules de PI sur une lignée de cellules du pancréas cancéreuses (MIA PaCa-2).

Par exemple, nous avons couplé la gemcitabine (Gem), qui est un principe actif anticancéreux hydrophile utilisé notamment contre le cancer du pancréas, du sein et du poumon, à une alcoxyamine basée sur un nitroxyde appelé SG1 (figure 2a) [4]. Ceci nous a permis d'obtenir des prodrogues polymères de type Gem-polysoprène (Gem-PI) par polymérisation radicalaire contrôlée de l'isoprène par les nitroxydes (NMP), grâce à la rupture homolytique de la liaison alcoxyamine, qui libère d'une part un radical carboné amorceur (couplé à Gem) et le nitroxyde, et d'autre part, qui joue le rôle d'agent de contrôle de la polymérisation. Nous nous sommes intéressés à ce polymère car l'isoprène est le motif structural de base de nombreux terpènes naturels biocompatibles (par ex. : squalène, vitamine E, rétinol...). Les prodrogues polymères ont ensuite été formulées par nanopréciipitation (méthode d'émulsification par déplacement de solvant) sous la forme de nanoparticules stables, de 100 à 150 nm de diamètre, et sans qu'il eût été besoin d'utiliser un tensioactif, ce qui simplifie grandement la composition globale de la formulation. L'utilisation d'une technique de PRC est ici primordiale car elle permet de synthétiser des prodrogues polymères ayant des longueurs de chaîne contrôlées et ajustables. Il est donc possible d'obtenir des masses molaires relativement faibles ($M_n < 5\ 000\ \text{g mol}^{-1}$), ce qui conduit à des fractions massiques élevées en principe actif (~ 10-30 %), bien supérieures aux systèmes nanoparticulaires classiques où le principe actif est simplement encapsulé. Les nanoparticules de Gem-PI ont non seulement montré une cytotoxicité importante *in vitro* sur plusieurs lignées cellulaires cancéreuses (modèles de cancer du pancréas, du poumon, du sein, etc.), mais également un fort ralentissement de la croissance tumorale *in vivo* sur tumeurs solides, contrairement aux traitements de contrôle (*i.e.* souris non traitées, Gem libre, nanoparticules sans Gem), démontrant ainsi leur efficacité (figure 2b).

Combiner simplicité et polyvalence

Les deux points forts de cette méthode de préparation de prodrogues polymères sont d'une part sa simplicité, car peu d'étapes de synthèse sont nécessaires et les rendements obtenus sont généralement élevés, et d'autre part sa polyvalence. Elle peut en effet, sous réserve que le principe actif possède au moins un groupement fonctionnel sur lequel il soit possible de greffer l'agent de contrôle de PRC, s'adapter non seulement à de nombreux principes actifs anticancéreux, mais également à différents monomères vinyliques (figure 3). Ainsi, nous l'avons notamment appliquée à d'autres principes actifs hydrophiles tels que la cladribine (CdA) [5], un anticancéreux destiné à traiter la leucémie à tricholeucocytes, et hydrophobes tels que le paclitaxel (Ptx) [6], couramment utilisé contre le cancer du poumon, du sein et de l'ovaire. Outre les molécules de principes actifs, cette stratégie a également été appliquée à des molécules fluorescentes afin de conférer aux nanoparticules des propriétés de fluorescence permettant de les suivre par microscopie confocale lors de leur internalisation cellulaire [7].

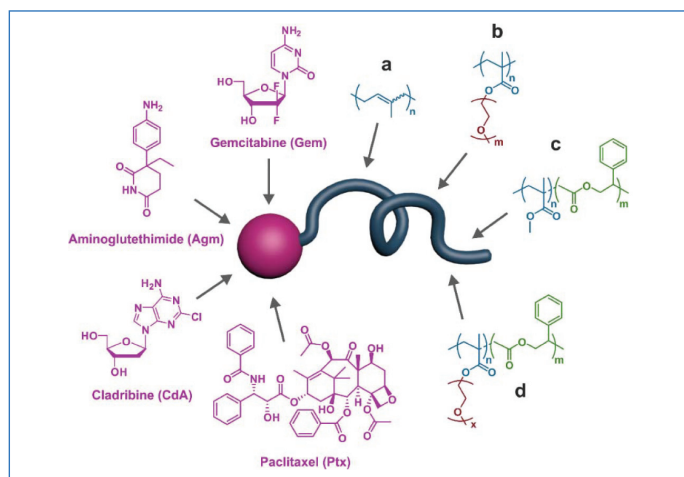


Figure 3 - Structures des différents principes actifs et polymères utilisés lors de la synthèse de prodrogues polymères par la méthode du « principe actif amorceur » : **a** : polyisoprène (PI) ; **b** : poly(oligo(éthylène glycol) méthyl éther méthacrylate) (POEGMA) ; **c** : poly[(méthyl méthacrylate)-co-(2-méthylène-4-phényl-1,3-dioxolane)] ; **d** : poly[oligo(éthylène glycol) méthyl éther méthacrylate]-co-(2-méthylène-4-phényl-1,3-dioxolane)].

Afin de moduler les propriétés macromoléculaires et physico-chimiques de ces prodrogues polymères, nous avons également fait croître, outre le polyisoprène, différents polymères à partir de principes actifs : des polyméthacrylates hydrophiles à base de poly(éthylène glycol) [6], un polymère biocompatible (figure 3b), et des polyméthacrylates dégradables hydrophiles ou hydrophobes obtenus par copolymérisation radicalaire par ouverture de cycle en utilisant des acétals de cétène cyclique (CKA) comme précurseurs de fonctions ester au sein du squelette polymère (figure 3c et d) [8]. Outre la NMP, une autre technique de PRC comme la polymérisation radicalaire contrôlée par transfert de chaîne réversible par addition-fragmentation (RAFT) peut également être utilisée pour faire croître des polymères à partir de molécules de principes actifs [6, 9-11].

Des prodrogues polymères doublement fonctionnalisées

Afin d'augmenter la polyvalence et la potentialité de ces prodrogues polymères, nous avons réussi à positionner à l'autre extrémité de la chaîne polymère une seconde molécule d'intérêt telle que : un principe actif de nature différente, afin d'effectuer de la thérapie combinée ; une molécule fluorescente, pour permettre le suivi des nanoparticules ; ou un ligand permettant aux nanoparticules de cibler spécifiquement les cellules cancéreuses [12]. Pour ce faire, nous avons tiré parti de la présence de l'agent de contrôle (nitroxyde) situé

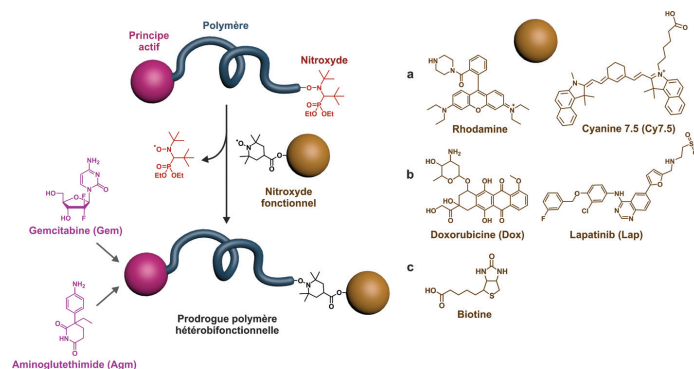


Figure 4 - Stratégie de synthèse pour obtenir des prodrogues polymères hétérotéléchéliques en combinant la méthode du « principe actif amorceur » par NMP et l'échange de nitroxyde via un nitroxyde fonctionnel porteur de la seconde molécule d'intérêt. **a** : molécules fluorescentes pour effectuer de l'imagerie ; **b** : molécules de principe actif pour faire de la thérapie combinée ; **c** : ligand de reconnaissance des cellules cancéreuses pour effectuer du ciblage.

en fin de chaîne du polymère après la synthèse de la prodrogue polymère par NMP pour mettre au point une méthodologie de synthèse de prodrogues polymères doublement fonctionnalisées, appelées alors hétérotéléchéliques (figure 4).

Pour cela, nous avons effectué une réaction d'échange de nitroxyde sur des prodrogues polymères obtenues par la méthode du « principe actif amorceur » au moyen d'un nitroxyde préfonctionnalisé par la seconde molécule d'intérêt. La substitution du nitroxyde initialement lié au polymère par le nitroxyde fonctionnel permet alors d'obtenir facilement la prodrogue polymère hétérobifonctionnelle [12]. C'est une réaction à la fois simple et efficace car les différents réactifs sont utilisés en quantités stœchiométriques et le rendement est quantitatif. Nous avons appliqué cette méthodologie à différentes combinaisons telles que :

- Gem/rhodamine et Gem/cyanine 7.5 pour allier respectivement thérapie anticancéreuse et imagerie *in vitro* et *in vivo*, grâce aux propriétés de fluorescence de la rhodamine et de la cyanine ;
- aminoglutéthimide/doxorubicine, Gem/doxorubicine et Gem/lapatinib pour effectuer de la thérapie combinée ;
- Gem/biotine pour allier thérapie et ciblage spécifique des cellules cancéreuses en utilisant la biotine comme « tête chercheuse » (figure 4).

En conclusion, 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 prodrogues polymères pour la thérapie anticancéreuse, que ce soit sous la forme de nanoparticules ou de composés hydrosolubles.

- [1] Nicolas J., Mura S., Brambilla D., Mackiewicz N., Couvreur P., Design and functionalization strategies for biodegradable/biocompatible polymer-based nanoparticles applied in targeted drug delivery, *Chem. Soc. Rev.*, **2013**, *42*, p. 1147.
- [2] Delplace V., Couvreur P., Nicolas J., Recent trends in the design of anticancer polymer prodrug nanocarriers, *Polym. Chem.*, **2014**, *5*, p. 1529.
- [3] Nicolas J., Drug-initiated synthesis of polymer prodrugs: combining simplicity and efficacy in drug delivery, *Chem. Mater.*, **2016**, *28*, p. 1591.
- [4] Harrison S. et al., Nanoparticles with *in vivo* anticancer activity from polymer prodrug amphiphiles prepared by living radical polymerization, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2013**, *52*, p. 1678.
- [5] Bao Y. et al., Simple synthesis of cladribine-based anticancer polymer prodrug nanoparticles with tunable drug delivery properties, *Chem. Mater.*, **2016**, *28*, p. 6266.
- [6] Bao Y., Guegain E., Mougin J., Nicolas J., Self-stabilized, hydrophobic or PEGylated paclitaxel polymer prodrug nanoparticles for cancer therapy, *Polym. Chem.*, **2018**, *9*, p. 687.
- [7] Bao Y., Nicolas V., Nicolas J., Fluorescent polymer prodrug nanoparticles with aggregation-induced emission (AIE) properties from nitroxide-mediated polymerization, *Chem. Commun.*, **2017**, *53*, p. 4489.
- [8] Guéguin E., Tran J., Deguettes Q., Nicolas J., Degradable polymer prodrugs with adjustable activity from drug-initiated radical ring-opening copolymerization, *Chem. Sci.*, **2018**, *9*, p. 8291.
- [9] Louage B. et al., Well-defined polymer-paclitaxel prodrugs by a grafting-from-drug approach, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2016**, *55*, p. 11791.
- [10] Louage B. et al., Micellar paclitaxel-initiated RAFT polymer conjugates with acid-sensitive behavior, *ACS Macro Letters*, **2017**, *6*, p. 272.
- [11] Bao Y., Nicolas J., Structure-cytotoxicity relationship of drug-initiated polymer prodrug nanoparticles, *Polym. Chem.*, **2017**, *8*, p. 5174.
- [12] Vinciguerra D. et al., A facile route to heterotelechelic polymer prodrug nanoparticles for imaging, drug delivery and combination therapy, *J. Control. Rel.*, **2018**, *286*, p. 425.

Cette fiche a été réalisée par **Julien NICOLAS**, directeur de recherche au CNRS (Institut Galien, UMR CNRS 8612, Université Paris-Sud/Paris-Saclay, julien.nicolas@u-psud.fr).

Les fiches « Un point sur » sont coordonnées par un comité éditorial mené par Jean-Pierre FOULON (jpfoulon@wanadoo.fr). Elles sont regroupées et en téléchargement libre sur www.lactualitechimique.org/spip.php?rubrique11.