

Microtechnologies pour la libération contrôlée des molécules fragiles

Elias Fattal, Amélie Bochot et Nicolas Tsapis

Résumé Les formes pharmaceutiques à libération contrôlée ont pour but de maîtriser la vitesse, la durée, et éventuellement le lieu de libération du principe actif. Il est aujourd'hui possible de formuler des microparticules à partir de polymères biodégradables ou bioérodibles permettant ainsi, après administration, une libération du principe actif sur une très longue période. Le bénéfice de tels systèmes est de pouvoir diminuer la fréquence d'administration des médicaments. À côté de ces systèmes à libération prolongée, il est possible d'obtenir des microparticules permettant de libérer, après administration, le principe actif au niveau d'un site particulier de l'organisme. Cette libération programmée s'effectue sous l'effet de l'environnement biologique du site atteint par les particules. Ces avancées technologiques ont permis d'améliorer l'administration de molécules issues des biotechnologies telles que les acides nucléiques, les peptides et les protéines.

Mots-clés Microparticules, libération contrôlée, libération programmée, libération prolongée.

Abstract **Microtechnologies for the controlled release of poorly stable drugs**
Controlled release delivery systems are aiming to control the rate, duration and distribution of the active drug. Microparticulate delivery systems have allowed reaching several goals in this field since it is today possible to design biodegradable or bioerodible polymeric microparticles with a sustained release. The advantage of such systems is to reduce the number of administrations. Beside these systems, microparticles sensitive to the biological environment were designed to deliver an active drug in a site-specific fashion. Microparticles release their content under the control of biological modifications once reaching the target site. These advanced delivery systems have allowed delivering biotech products such as nucleic acids, peptides and proteins.

Keywords Microparticles, controlled delivery, responsive release, sustained release.

Les principales innovations dans le domaine des formes galéniques visent deux principaux objectifs. Le premier consiste à contrôler la distribution d'une molécule active en la favorisant vers un site particulier de l'organisme : il s'agit de la vectorisation, une approche qui fait surtout appel à des nanotechnologies et qui a permis des applications principalement dans le domaine de l'administration des anti-infectieux ou des anticancéreux [1]. Le second objectif consiste à contrôler la libération de la molécule active à partir du système d'administration, particulièrement lorsque la forme galénique se trouve immobilisée au niveau d'un site particulier de l'organisme. Cette approche qui utilise des systèmes à libération contrôlée peut s'appliquer de différentes manières. On citera par exemple les systèmes à libération pulsée qui libèrent le principe actif sous l'effet d'un stimulus exogène (champ magnétique, ultrasons...). Dans le cas de ces systèmes, le patient sera capable de déclencher au moment désiré (à la demande) la libération du principe actif et d'obtenir en retour une action pharmacologique. Le stimulus peut être endogène sous le contrôle d'un processus physiologique. Par exemple, l'augmentation de la glycémie, détectée par le système d'administration, pourra induire la libération d'une dose d'insuline. Les systèmes à libération pulsée sont le plus souvent monolithiques et ne font pas

appel à la microencapsulation. Ces derniers ne seront pas décrits dans cet article qui ne traitera que des systèmes microparticulaires. À côté des systèmes à libération pulsée, on distingue des formes à libération prolongée pour lesquelles la libération peut s'effectuer sur plusieurs jours, voire plusieurs semaines. Cette libération prolongée doit permettre, à la suite d'une administration unique de la forme galénique, d'obtenir un effet pharmacologique pendant toute la durée de la libération du principe actif. Enfin, des systèmes à libération programmée, qui libèrent leur contenu sous l'effet d'une modification de l'environnement biologique, ont aussi été développés. Ces formes galéniques ne libéreront leur contenu qu'en présence d'un environnement favorable à la sortie du principe actif.

Polymères utilisés pour la libération contrôlée de molécules actives

Les microparticules pour la libération prolongée sont le plus souvent constituées de polymères bioérodibles ou biodégradables. La bioérosion résulte de phénomènes physiques (dissolution) ou chimiques (attaque chimique du polymère et réduction en petits fragments). La biodégradation consiste quant à elle en la dégradation des

caractéristiques d'un biomatériau par le milieu biologique dans lequel il se trouve. Ce phénomène peut survenir à la suite d'une attaque enzymatique du polymère. Les produits d'érosion ou de dégradation doivent être éliminés par l'organisme sans induire de toxicité.

- Dans le cas des systèmes bioérodibles, un phénomène d'hydrolyse intervenant à l'interface entre la particule et le milieu environnant, la libération du principe actif s'accomplit au fur et à mesure que la particule s'érode. Parallèlement à l'érosion, si les conditions le permettent (faible masse moléculaire du principe actif et porosité de la microparticule), certaines molécules peuvent aussi être libérées par diffusion (figure 1A).

- Dans le cas des systèmes biodégradables, les polymères utilisés sont dégradés dans leur masse au sein de la microparticule et les monomères, les oligomères et les principes actifs encapsulés sont libérés dans le milieu environnant (figure 1B). Comme pour l'érosion, une libération simultanée par diffusion est possible. Cependant, si le principe actif est incapable de diffuser à travers la barrière polymère, seules les molécules proches de la surface seront libérées dans un premier temps. Il faudra attendre que le polymère se dégrade complètement pour que la libération totale du principe actif se produise. En conclusion, la compréhension des mécanismes de dégradation des polymères dans l'organisme est cruciale pour permettre de concevoir un système particulier de libération prolongée et d'expliquer les comportements cinétiques.

Les polymères pour la libération programmée peuvent être biodégradables ou non. Il s'agit donc de polymères qui, soit gonflent, soit se dissolvent ou encore se dégradent une fois qu'ils ont atteint un site particulier de l'organisme

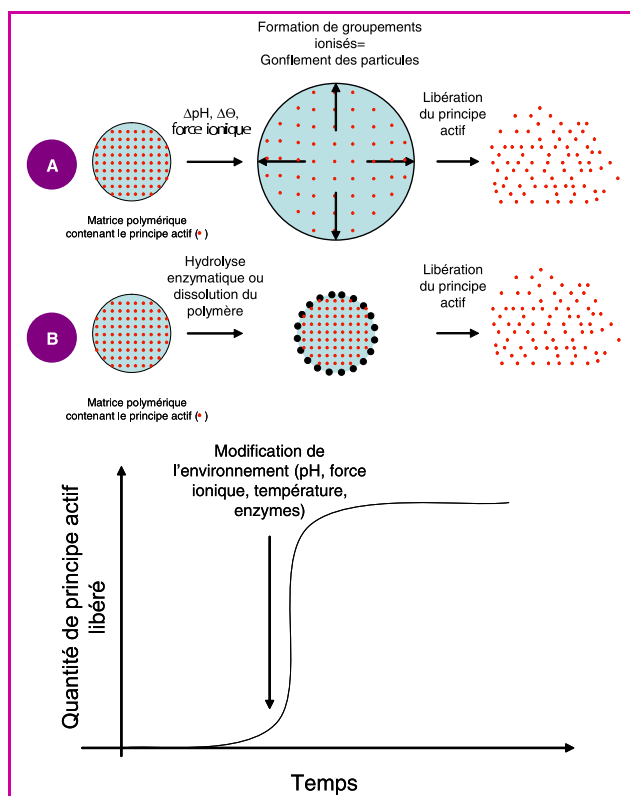


Figure 2 - Microparticules à libération programmée.

La libération du principe actif a lieu suite à une modification de l'environnement : (A) gonflement du polymère lié à une modification du pH, de la température ou de la force ionique ; (B) dissolution du polymère liée à une modification du pH ou à une dégradation spécifique par des enzymes.

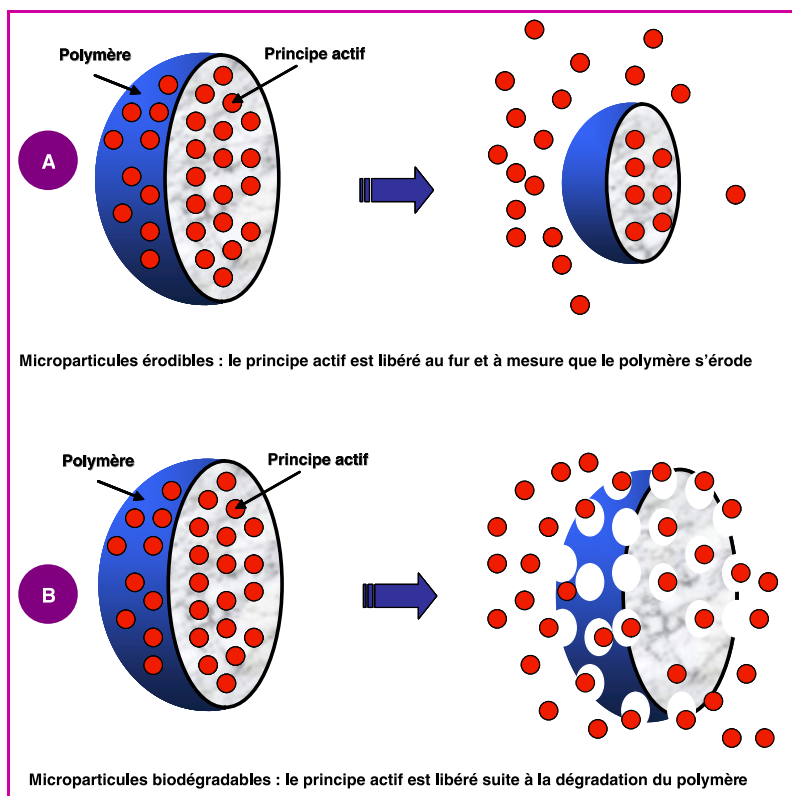


Figure 1 - Libération du principe actif à partir de microparticules bioérodibles (A) ou biodégradables (B) pour la libération prolongée.

Dans les deux cas, une diffusion du principe actif est possible.

(figure 2). Comme l'indique la figure 2, suite au gonflement ou à la dégradation, le principe actif est entièrement libéré.

Microparticules à libération prolongée

De nombreux polymères biodégradables sont utilisés pour la mise au point de systèmes microparticulaires à libération prolongée. Les polymères ou copolymères les plus utilisés sont le poly(lactide) ou poly(lactide-co-glycolide), les poly(orthoesters), les poly(anhydrides), le poly(méthylidène malonate). La mise au point de microparticules peut s'effectuer par différentes méthodes, mais en général, la fabrication de tels systèmes aboutit à la formation de particules, soit de type matriciel ou « pleines » (pour les molécules insolubles dans l'eau), soit renfermant un ou plusieurs réservoirs à contenu aqueux (pour les molécules hydrosolubles). La cinétique de libération à partir de ces particules s'effectue sur une durée très longue allant de quelques semaines à plusieurs mois et variant selon la taille des particules, la nature et le poids moléculaire du polymère.

L'application de tels systèmes pour la libération prolongée de molécules hydrophiles telles que les peptides/protéines ou les acides nucléiques a fait l'objet de nombreuses études. Dans le domaine de l'administration des peptides/protéines, des

applications majeures ont été obtenues pour l'administration de la triptoléine. Il s'agit d'une molécule à effet castrateur qui diminue les taux de testostérone, hormone fortement impliquée dans le cancer de la prostate. Plusieurs sociétés ont développé et mis sur le marché des microparticules de poly(lactide-co-glycolide) pour cette molécule qui, lorsqu'elles sont administrées chez l'homme, permettent de produire un effet pendant une durée de trois mois, évitant au patient les désagréments liés à des administrations fréquentes. C'est le cas du Trelstar® Depot et du Decapeptyl® SR, commercialisés respectivement par Pfizer et Ipsen-Beaufour/Debiopharm. Pour la même application, Sanofi-Aventis a mis sur le marché des microparticules contenant la buséréline (Suprecur® MP). D'autres applications ont été développées pour des peptides ou des protéines tels que l'ocrotéotide (Sandostatine® LAR, Novartis) ou le lanréotide (Somatuline® LA, Ipsen Beaufour) indiqués dans le traitement de l'acromégalie qui résulte d'une augmentation de la sécrétion de l'hormone de croissance. À l'inverse, des microparticules contenant l'hormone de croissance (Nutropin Depot®) sont commercialisées par Genentech pour le traitement des pathologies de la croissance des tissus osseux et musculaires.

La libération prolongée de protéines à partir de microparticules a aussi permis de concevoir des vaccins par voie orale. En effet, lorsqu'elles sont administrées par voie orale, les particules permettent de protéger les vaccins contre la dégradation dans le tube digestif et de les libérer sur une durée prolongée permettant une couverture immunologique sur une période très longue. Il a été montré que certaines particules contenant des antigènes protéiques permettaient de cibler les plaques de Peyer. Ces plaques ont la forme de pièces de monnaies et se trouvent disséminées dans le tube digestif. Elles contiennent des cellules capables de déclencher une réponse immunitaire. Les anticorps produits par ces cellules migrent à différents niveaux tissulaires et peuvent neutraliser des agents pathogènes qui tentent de pénétrer dans l'organisme au niveau des muqueuses (bouche, intestin, poumons, tractus génito-urinaire...). Au sein de notre équipe, nous avons démontré qu'il était possible d'immuniser des souris contre l'infection orale par *Salmonella typhimurium* (figure 3). La vaccination a été réalisée grâce à l'administration orale de microparticules de poly(lactide-co-glycolide) contenant un conjugué

thyroglobuline-phosphorylcholine (la phosphorylcholine est un haptène – substance de faible masse moléculaire qui n'est pas antigénique mais qui peut devenir immunogène après fixation à un porteur, le plus souvent une protéine – présent à la surface de plusieurs souches bactériennes) [2]. Plus récemment, nous avons démontré que la capture des particules par les plaques de Peyer permettait aussi d'induire une tolérance vis-à-vis d'une protéine du lait, la β lactoglobuline, diminuant ainsi les allergies vis-à-vis du lait de vache [3].

Enfin, la libération prolongée peut être envisagée pour l'administration locale d'acides nucléiques, par voie intraoculaire par exemple. Des microparticules de poly(lactide-co-glycolide) contenant des nanoparticules formées d'un complexe polymère cationique/oligonucléotide ont été mises au point pour la voie intraoculaire. Ces particules de grande taille permettent de libérer ces complexes sur plusieurs semaines. Les oligonucléotides sont des fragments de gènes qui, en s'appariant avec une partie de l'ARN messager dans le cytoplasme cellulaire, vont bloquer la production d'une protéine impliquée dans une pathologie donnée. Une fois sortis des microparticules, les complexes vont pénétrer au sein des cellules et libérer leur contenu dans le cytoplasme [4-5]. L'internalisation cellulaire des complexes s'effectue par un mécanisme dénommé endocytose. À la suite d'une invagination de la membrane cellulaire, les complexes se retrouvent dans une vacuole, l'endosome. Cette vacuole se rompt ensuite, libérant les complexes dans le cytoplasme. Enfin, l'acide nucléique se dissocie du polymère cationique et rejoint sa cible. Par ailleurs, la formation de microparticules à partir d'agrégats de nanoparticules a aussi été envisagée. Dans ce cas, ces particules, appelées particules troyennes, sont formées d'agrégats contrôlés de nanoparticules [6].

Microparticules à libération programmée

La libération du principe actif peut être fonction du milieu dans lequel les microparticules sont localisées. Il est donc possible de formuler des microparticules à partir de polymères qui sont sensibles aux variations de pH. Ces modifications de pH peuvent se produire dans le tube digestif où le pH augmente de l'estomac (pH 1-3) jusqu'à l'intestin (pH 6,8) ou dans certaines pathologies où l'activité métabolique produit un environnement légèrement acide ou alcalin. Les polymères sensibles aux variations de pH contiennent des groupements acides (acides carboxyliques) ou basiques (amines) qui acceptent ou libèrent des protons en fonction du pH de l'environnement, entraînant l'ionisation des chaînes polymères. Le gonflement des microparticules contenant les polyélectrolytes est principalement dû à la répulsion électrostatique entre les charges présentes sur la chaîne de polymère, qui se traduit par la libération du principe actif. L'extension du gonflement peut être modulée par d'autres paramètres qui contrôlent la répulsion électrostatique, tels que la force ionique. Il existe de nombreux polymères pour formuler ce type de microparticules et principalement des dérivés du poly(méthyl méthacrylate), poly(acide méthacrylique) et poly(acide acrylique) en mélange ou couplés à d'autres polymères tels que le polyéthylène glycol. Il est aussi possible d'utiliser des polymères tels que le N-isopropylacrylamide pour conférer des propriétés de sensibilité à la température. Celui-ci sera utilisé seul ou en mélange avec des polymères pH-sensibles.

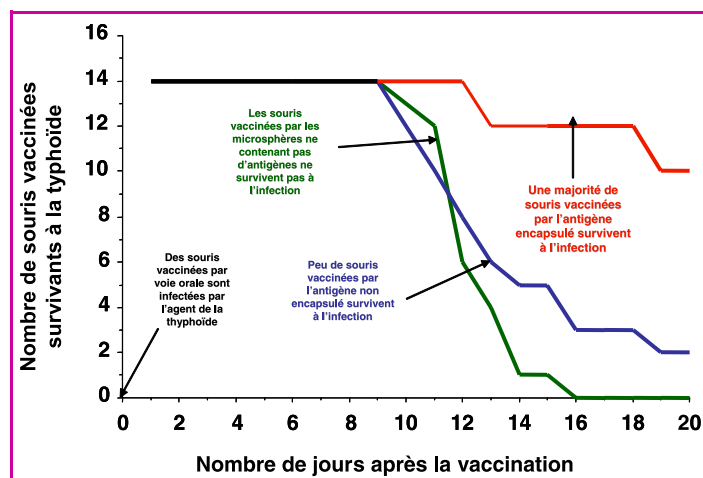


Figure 3 - Protection de souris contre l'infection à *Salmonella typhimurium* après vaccination orale par des microparticules contenant un conjugué thyroglobuline-phosphorylcholine.

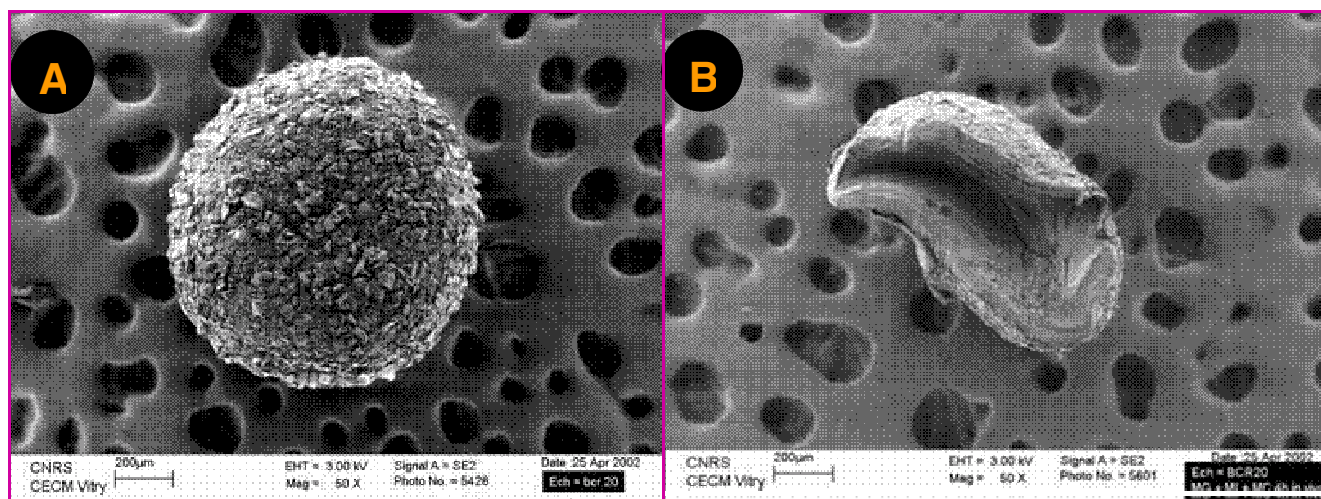


Figure 4 - Billes de pectine intactes avant administration (A) et dégradées dans le côlon après extraction du côlon de souris suite à l'administration orale (B).

Enfin, certains polymères, souvent d'origine naturelle, sont sensibles au milieu enzymatique et seront dégradés uniquement en présence d'enzymes capables de les hydrolyser. C'est le cas de certains polysaccharides (amylose, chitosane, sulfate de chondroïtine, cyclodextrines, dextrans, gomme de guar, inuline, pectine) ou des azopolymères qui sont dégradés par des enzymes de la flore colique. Des microparticules formulées à partir de ces polymères seront capables de libérer *in situ* et de manière spécifique leur contenu dans le côlon.

Les applications des microparticules à libération programmée sont nombreuses. Elles concernent plusieurs voies d'administration, mais la voie orale a fait l'objet du plus grand nombre d'études. Il est ainsi possible d'utiliser des microparticules pH-sensibles pour délivrer de manière spécifique des principes actifs dans l'intestin en échappant au pH acide de l'estomac. Par ailleurs, on pourra envisager des microparticules constituées de polymères thermosensibles pour délivrer spécifiquement des molécules dans des régions inflammatoires du tube digestif où l'on observe des variations de température. Un autre exemple de libération programmée concerne la délivrance colique : des microparticules constituées par des polysaccharides peuvent être dégradées par des enzymes présentes dans le côlon car produites par des bactéries secrétées par la flore colique (figure 4). Il est ainsi possible de libérer localement des peptides, des protéines ou des acides nucléiques ou encore, en raison du temps de transit très long à ce niveau du tractus gastro-intestinal et de la faible activité protéasique locale, de favoriser leur absorption [7]. Ce concept a été appliqué à l'administration orale d'insuline grâce à l'utilisation de microsphères d'azopolymères. Plus récemment, au sein de notre équipe, nous avons utilisé des particules de pectine pour l'administration de β lactamases en vue d'hydrolyser les β lactamines résiduelles [8]. Ces antibiotiques non absorbés dans la partie haute du tube digestif et présents dans le colon sont capables d'induire une résistance aux β lactamines chez des bactéries de la flore colique. Une fois ces bactéries éliminées dans l'écosystème, elles peuvent transmettre leur gène de résistance à des bactéries pathogènes, entraînant ainsi des problèmes de résistance aux antibiotiques forts médiatisés ces derniers temps. L'hydrolyse locale des β lactamines résiduelles devrait permettre de diminuer la résistance des bactéries pathogènes aux antibiotiques.

Conclusion

L'apport de la microencapsulation dans le domaine de l'administration des médicaments a pris un essor considérable ces dernières années avec un certain nombre de produits mis sur le marché, particulièrement dans le domaine des systèmes à libération prolongée. Cette réussite est essentiellement liée d'une part à l'utilisation de biomatériaux biodégradables intelligents et à la meilleure compréhension des mécanismes de libération des principes actifs, et d'autre part à une meilleure connaissance du devenir de ces systèmes dans l'organisme.

Références

- [1] Andrieux K., Desmaële D., D'Angelo J., Couvreur P., *L'Act. Chim.*, **2003**, p. 135.
- [2] Allaoui-Attarki K., Pecquet S., Fattal E., Chachaty E., Couvreur P., Andreumont A., *Infection and Immunity*, **1997**, 65, p. 853.
- [3] Pecquet S., Leo E., Fritsché R., Pfeifer A., Couvreur P., Fattal E., *Vaccine*, **2000**, 18, p. 1196.
- [4] De Rosa G., Quaglia F., Bochet A., Ungaro F., Fattal E., *Biomacromolecules*, **2003**, 4, p. 529.
- [5] Gomes Dos Santos A.L., Bochet A., Doyle A., Tsapis N., Siepmann J., Siepmann F., Schmaller J., Besnard M., Behar-Cohen F., Fattal E., *Journal of Controlled Release*, **2006**, 112, p. 369.
- [6] Tsapis N., Bennett D., Jackson B., Weitz D., Edwards D., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2002**, 99, p. 12001.
- [7] Bourgeois S., Harvey R., Fattal E., *American Journal of Drug Delivery*, **2005**, 3, p. 171.
- [8] Bourgeois S., Laham A., Besnard M., Andreumont A., Fattal E., *Journal of Drug Targeting*, **2005**, 13, p. 277.



E. Fattal



A. Bochet

Elias Fattal (auteur correspondant) est professeur et directeur adjoint, **Nicolas Tsapis** est chargé de recherche et **Amélie Bochet** est maître de conférences, à l'UMR CNRS 8612, Faculté de Pharmacie de l'Université de Paris-Sud*.



N. Tsapis

* UMR CNRS 8612, Faculté de Pharmacie, Université de Paris-Sud, 5 rue Jean-Baptiste Clément, 92296 Châtenay-Malabry.
Courriels : elias.fattal@u-psud.fr,
nicolas.tsapis@u-psud.fr,
amelie.bochet@u-psud.fr