

## **Généralités sur les dendrimères et sur la 2,4 diaminoptéridine**

### **I.1-Définitions**

#### **I.1.1-Dendrimères**

Les dendrimères constituent une classés de macromolécules organiques synthétiques. Le terme «dendrimère» provient du préfixe grec «dendron» qui signifie «arbre». Leur forme reprend celle des branches d'un arbre. Ils constituent une sous-famille des polymères car ils possèdent des caractéristiques similaires.<sup>1</sup> Ils sont constitués d'une séquence répétitive de monomères, appelés "unités de branchement", à partir d'un cœur multifonctionnel de façon radiale et répétitif. Ces types de molécules ont été décrits pour la première fois par Vögtle et coll. en 1978.<sup>2</sup> Les premières structures dendritiques qui ont attiré l'attention générale sont les dendrimères PAMAM développés par Tomalia et coll.

Ces dendrimères PAMAM qui font l'objet de notre étude sont construits à partir d'une molécule de départ qui peut être l'éthylènediamine ou l'ammoniac. Cette molécule initiatrice donne, après une répétition d'une série de réaction, une structure de ramification sphérique. Ce processus se répète, des couches successives sont ajoutées, symbolisant la génération qui est le point focal lors du passage du centre vers la surface du dendrimère.<sup>3</sup>

#### **I.1.1.1-Les différents types de dendrimères**

Les dendrimères peuvent être classé en trois catégories :

##### **I.1.1.1.1-Les dendrimères cationiques**

Ces dendrimères à surface cationiques ont tendance à déstabiliser la membrane des cellules. Leur cytotoxicité dépend de leur capacité à exposer leur surface cationique et au degré de substitution des amines.

##### **I.1.1.1.2-Les dendrimères anioniques**

Contrairement aux dendrimères cationiques, les dendromètres à surface anionique sont peu ou même non toxiques. Les dendrimètres PAMAM avec des groupes anioniques à leur surface ont une cytotoxicité très inférieure sur les cellules Caco-2 (cellules

d'adénocarcinome du colon humain) à celle des dendromères cationiques. Ces dendrimères n'ont aucune activité hémolytique ni cytotoxique pour une variation de concentration.

#### **I.1.1.1.3-Les dendrimères neutres**

La surface des dendrimères peut être modifiée afin qu'ils soient neutres et solubles dans l'eau.

#### **I.1.2-Définition de la 2,4-diaminoptéridine**

La ptéridine est un composé aromatique bicyclique, composé d'un noyau de pyrazine fusionné avec un cycle de pyrimidine. Les ptéridines sont identifiées pour la première fois dans les années 1930 par le chimiste allemand Heinrich Otto Wieland dans l'aile des papillons qui leur donnent leur nom en référence au mot grec pteron, aile.<sup>4</sup> Ainsi, la 2,4-diaminoptéridine est un dérivé de la ptéridine substitué aux positions 2 et 4 par des groupements amines. C'est un composé biologiquement actif contre le paludisme. Elle agit par inhibition de la synthèse des folâtes.

### **I.2-Structures et intérêt**

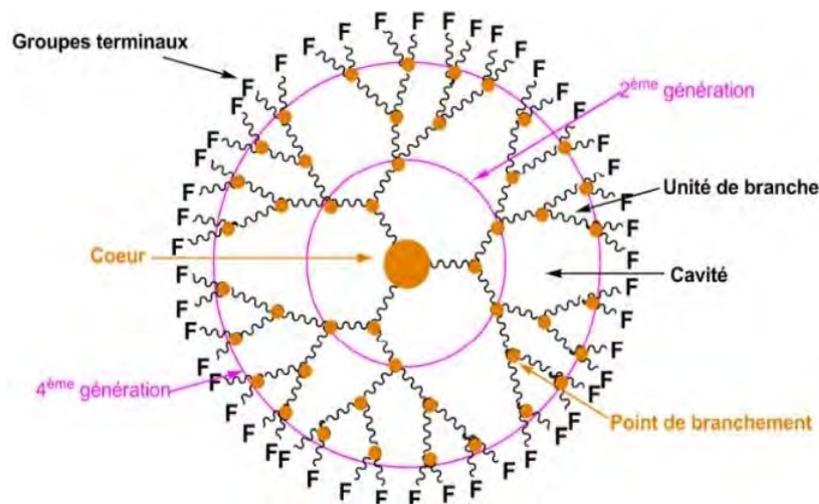
#### **I.2.1-Les dendrimères PAMAM**

Leur structure comme pour tous les dendrimères est basée fondamentalement sur trois paramètres structuraux qui sont (voir figure1) :

- Le cœur central qui est le point focal des motifs connecteurs. Il est constitué d'atomes, de petites ou même de grandes molécules organiques d'intérêt biologique.
- Des branches qui sont connectées au cœur. Elles sont constituées d'une répétition des unités qui possèdent au moins un point de jonction et organisées de façon radiale pour former une série de couches concentriques appelées "générations"(voir figure 1).
- Du nombre de groupes fonctionnels terminaux. Ces derniers sont généralement localisés à la surface du dendrimère et ils jouent un rôle important dans les propriétés physico-chimiques et chimiques du dendrimère. Le nombre de groupes terminaux localisés à la périphérie du dendrimère dépend de la multivalence du cœur et des points de divergence nommés respectivement  $N_c$  et  $N_d$ . Il dépend aussi

du nombre de génération (G) et est égal au produit  $N_c \times N_d \times G$ . La périphérie est l'espace entre le dernier point de divergence et la surface.

Les dendrimères PAMAM possèdent, en dehors de ses trois principaux éléments, des cavités formées à l'intérieur de cette géométrie particulière qui constituent une partie essentielle des dendrimères. Ces cavités peuvent également contenir des petites molécules pour former des "boîtes" dendritiques. Leur accessibilité dépend de la nature du solvant. Elles permettent d'encapsuler des molécules hôtes de taille raisonnable.

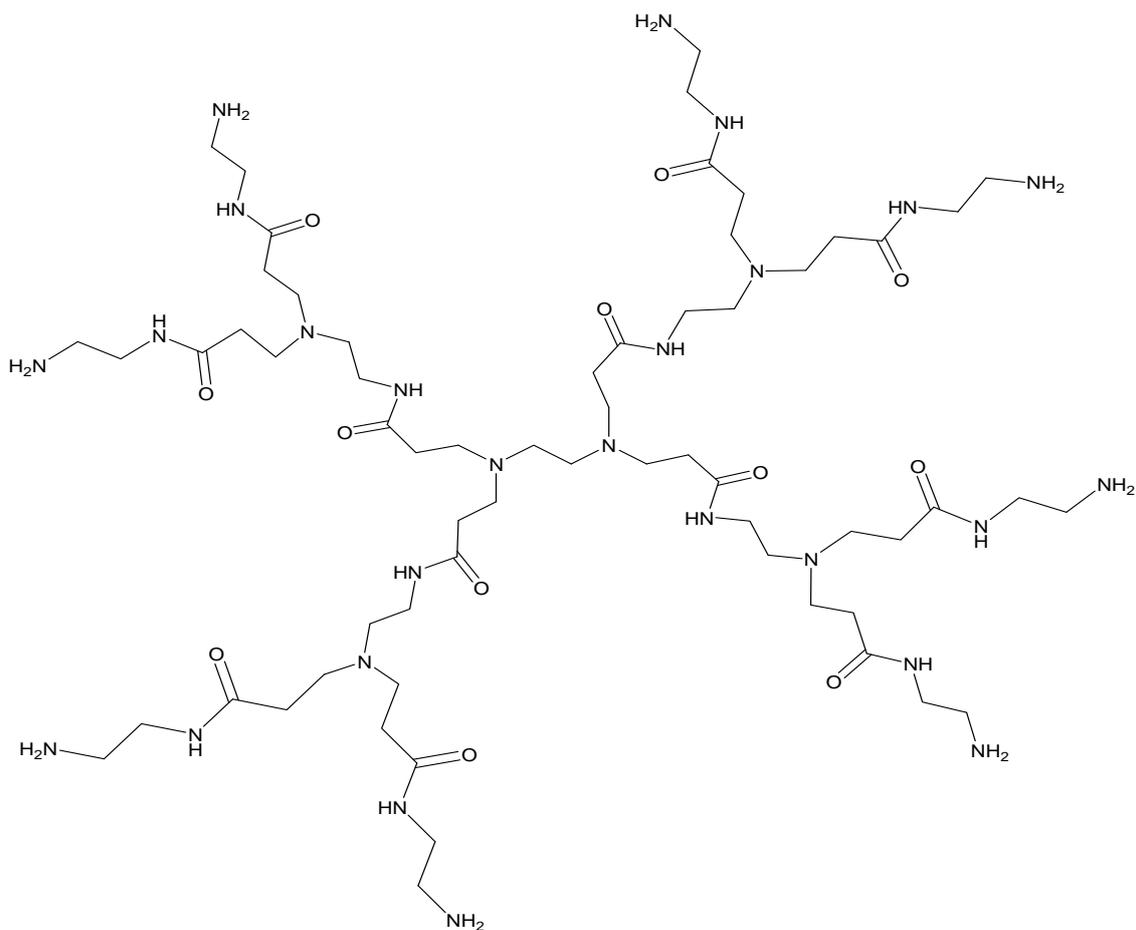


**Figure 1 : Schéma symbolique d'un dendrimère**

### **I.2.1.1-Présentation des dendrimères PAMAM G1 et G2**

Les dendrimères PAMAM sont une classe de dendrimère constituée de sous-unités ramifiées de façon répétitive amide et amine fonctionnalisés. Ils représentent la famille de Tomalia et ses collaborateurs qui ont décrit cette voie synthétique d'obtention de cette classe de macromolécules nommées dendromère PAMAM.<sup>5</sup> Ils possèdent une architecture arborescente hyper-ramifiée. Leur efficacité pour une application dans le développement de médicaments, la biochimie et dans la nanotechnologie est due à leur biocompatibilité, leur contrôle structurel, leur fonctionnalisabilité ainsi que leur faible coût de synthèse.<sup>6</sup> La combinaison d'amine de surface et d'amide au sein de leur structure fait que ces dendrimères ont une biocompatibilité supérieure à celle des autres types de dendrimères. Cela peut être expliqué par le fait que ces motifs de liaisons donnent aux dendrimères PAMAM des propriétés voisines à celles des protéines globulaires.<sup>7</sup> Les molécules utilisées comme initiatrice centrale de cette classe de

dendrimères peuvent varier mais l'utilisation de l'éthylène diamine et de l'ammoniac est plus fréquente. L'accroissement externe de leur structure se fait en alternant deux types de réactions qui sont une réaction de Michael de la surface à terminaison amino sur l'acrylate de méthyle suivie d'une réaction d'amidation des fonctions esters méthyliques par un excès d'éthylène diamine. La terminaison de chaque série de réaction entraîne la formation d'une nouvelle génération. Ainsi la réaction continue jusqu'à l'obtention du dendrimère à génération bien définie. L'exemple d'un tel dendrimère est représenté sur la figure 3.



**Figure2: Schéma d'un dendrimère PAMAM G2**

Leur structure est essentiellement constituée d'amines primaires en périphérie et tertiaires à l'intérieur de la molécule liées entre elles par des connexions amides.

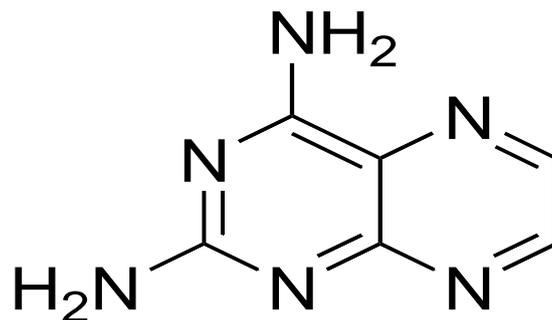
### **I.2.1.2-Intérêt des dendrimères PAMAM**

Grace à leurs architectures et leurs multifonctionnalités, les dendrimères sont des outils très intéressants dans plusieurs domaines d'applications.

- ✓ Ils peuvent être utilisés dans le domaine de la thérapie anticancéreuse par capture de neutrons. Leurs applications dans le domaine biomédical connaissent un succès particulier. En effet, certains dendrimères ont des activités antivirales, antibactériennes ou antitumorales. Les fonctions amines primaires contenues dans leurs structures, après avoir subi une protonation, peuvent participer aux interactions électrostatiques entre des molécules de charges négatives. Par contre les fonctions amines tertiaires dans leurs structures se comportent comme étant des capteurs de protons en rendant tampon le milieu cellulaire particulièrement le milieu acide des endosomes entraînant ainsi une facilitation de la libération des acides nucléiques. Ce phénomène de libération de protons est connu sous le nom d'éponge à protons.<sup>9</sup> Les dendrimères PAMAM que nous étudions ont aussi des propriétés médicamenteuses intrinsèques. En effet, ils ont la capacité d'éliminer les agrégats de protéines prions, les agrégats de protéines mortels responsables de l'encéphalopathie spongiforme bovine (maladie de la vache folle) et de la maladie de Creutzfeldt-Jakob chez l'homme.<sup>11</sup>
- ✓ Ils sont aussi de véritables nanovecteurs efficaces pour le transport d'agents de diagnostic, de médicaments ou de matériel génétique, soit par encapsulation, soit par conjugaison chimique.<sup>8</sup> Ainsi les dendrimères PAMAM qui font l'objet de notre étude sont un exemple typique d'agents de transport. Ils ont une capacité de pénétration dans une large gamme de lignées cellulaires d'où leur utilisation pour l'administration de médicaments et l'administration de gènes. Ces caractéristiques structurales font que les dendrimères PAMAM sont de véritables vecteurs de choix pour une transfection efficace. Ils peuvent être aussi fonctionnalisés en surface par des molécules thérapeutiques. Cette méthode de fixation en surface donne des complexes solubles et stables capables de cibler sélectivement des cellules défectueuses ou pour soigner une maladie sans pour autant libérer prématurément la molécule thérapeutique en charge.<sup>10</sup> Leur architecture leur confie aussi des propriétés d'encapsulation de médicaments afin d'avoir une meilleure efficacité de ces derniers et de les transporter jusqu'à leur cible.

### I.2.2-Structure de la 2,4-diaminoptéridine

Cette molécule appartenant à la famille des antipaludiques est un inhibiteur de la synthèse des folates en se fixant sur la dihydrofolate réductase. En effet, différents germes comme les bactéries et le plasmodium synthétisent eux-mêmes de l'acide foliques.<sup>12</sup> La présence d'un tel antipaludique entraîne le blocage de deux étapes du cycle de la synthèse de l'acide folique synthétisé par le plasmodium. Ce qui entraîne une inhibition du développement de ce parasite dans l'organisme.<sup>12</sup>



**Figure 3 : Schéma de la 2,4-diaminoptéridine**

### I.3-Propriétés des dendrimères

Les dendrimères doivent répondre à un certain nombre de critères afin d'être utilisables dans des applications médicales. Ils doivent être:

- non toxiques.
- non immunogènes s'ils ne sont pas utilisés comme vaccin.
- à mesure de traverser les biobarrières telles que l'intestin, les barrières sang/tissu, les membranes cellulaires.
- capables de rester le temps de séjour nécessaire pour avoir un effet clinique.
- capables de cibler des structures spécifiques.

Un exemple dans ce domaine qui répond à toutes ces critères est d'ailleurs constitué par les dendrimères PAMAM.

Lorsqu'on utilise les dendrimères comme médicament ou comme molécules transporteuses de médicaments ou de gènes *in vivo*, ils doivent avoir un niveau de perméabilité combiné avec une bonne tolérance à l'attaque enzymatique dans le flux sanguin, mais aussi une biodistribution appropriée.

Etant donné que les dendrimères sont d'excellents outils de transport de médicaments thérapeutiques, ils présentent des propriétés qui peuvent être classées soit par leurs toxicités soit par l'effet du solvant ou bien par leurs architectures.

### **I.3.1-La toxicité**

Les dendrimères PAMAM présentent généralement une toxicité qui diffère selon que le milieu soit in vitro ou in vivo.

#### **I.3.1.1-Toxicité in vitro**

La toxicité in vitro des dendrimères dépend de leurs structures, de leurs générations, de leurs temps de séjour dans le milieu étudié, à sa biodistribution et à son métabolisme.<sup>13</sup> En effet, la toxicité des dendrimères cationiques dépend de leur capacité à exposer leurs surfaces cationiques et de leurs poids moléculaires. Ces dendrimères déstabilisent la membrane cellulaire ce qui peut conduire à la lyse provoquant à la mort cellulaire.<sup>14</sup> Contrairement aux dendrimères cationiques, les dendrimères anioniques sont peu ou non toxiques. Une étude sur la toxicité des différents dendrimères montre que les dendrimères PAMAM ont une toxicité inférieure aux autres. En effet, au moment du détachement de leur membrane d'encapsulation appelé endosome, après avoir été absorbés par la cellule, ils causent des lésions aux mitochondries de la cellule et entraînent la mort cellulaire. La toxicité des dendrimères PAMAM a été réduite par neutralisation de leur surface.

#### **I.3.1.2-Toxicité in vivo**

La toxicité in vivo des dendrimères est aussi influencée par la nature de leurs groupes superficiels. Elle est aussi liée à leurs structures, leurs tailles, leurs générations, à leurs temps de séjour, à leurs biodistributions et à leurs métabolismes.

Aujourd'hui peu d'études approfondies sur la toxicité in vivo des dendrimères PAMAM ont été réalisées. Cela peut être dû à leurs divers comportements vis à vis de la modification de leur surface ce qui rend la caractérisation de leurs propriétés in vivo largement dépendante de la classe du dendrimère. Ainsi, les dendrimères cationiques introduits dans le système sanguin sont capables d'interagir avec les composants du sang, de déstabiliser les membranes et provoquer la lyse des cellules.<sup>14</sup> Pour faire des études sur le comportement des PAMAM in vivo, des injections élevées de PAMAM