

## Abréviations

PAMAM	polyamidoamine
G	génération
G1 et G2	première et deuxième génération
Nc	multivalence du cœur
Nd	multivalence des points de divergences
Dend-NH <sub>2</sub>	Dendrimère PAMAM
Zn	Zinc
ADMET	l'absorption, la distribution, la métabolisation et l'excrétion
OMS	Organisation Mondiale de le Santé

## Sommaire

Introduction.....	1
Chapitre I : Généralités sur les dendrimères et sur la 2,4 diaminoptéridine .....	2
I.1-Définitions.....	2
I.1.1-Dendrimères .....	2
I.1.1.1-Les différents types de dendrimères.....	2
I.1.1.1.1-Les dendrimères cationiques .....	2
I.1.1.1.2-Les dendrimères anioniques .....	2
I.1.1.1.3-Les dendrimères neutres.....	3
I.1.2-Définition de la 2,4-diaminoptéridine .....	3
I.2-Structures et intérêt .....	3
I.2.1-Les dendrimères PAMAM .....	3
I.2.1.1-Présentation des dendrimères PAMAM G1 et G2 .....	4
I.2.1.2-Intérêt des dendrimères PAMAM .....	6
I.2.2-Structure de la 2,4-diaminoptéridine.....	6
I.3-Propriétés des dendrimères .....	7
I.3.1.1-Toxicité in vitro.....	8
I.3.1.2-Toxicité in vivo .....	8
I.3.2-L'effet du solvant .....	9
Chapitre II : Synthèse des dendrimères PAMAM G1 et G2 et de la 2,4-diaminoptéridine et intérêt de fonctionnalisation par la 2,4-diaminoptéridine.....	9
II.1-Synthèse des dendrimères PAMAM G1 et G2 .....	10
II.1.1-Synthèse divergente .....	10
II.1.1.1-Etape de la synthèse divergente .....	11
II.1.1.2-Limites de cette méthode .....	12

II.1.2.1-Etape de la synthèse .....	13
II.1.2.2-Limites de cette de méthode .....	14
II.1.2.3-Elimination des impuretés .....	14
II.2-Synthèse de la 2,4-diaminoptéridine.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
II.3-Fonctionnalisation des dendrimères PAMAM G1 et G2 par la 2,4-diaminoptéridine .....	15
II.3.1-Principe de la fonctionnalisation.....	16
II.3.2-Intérêt de la fonctionnalisation des dendrimères PAMAM G1 et G2 par la 2,4-diaminoptéridine .....	16
II.3.3-Méthode de fonctionnalisation des dendrimères PAMAM par la 2,4-diaminoptéridine .....	17
II.3.3-Résultats et discussion .....	18
Conclusion et perspectives.....	22
REFERENCES .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>



## Liste des figures

Figure 1 : Schéma symbolique d'un dendrimère.....	4
Figure2: Schéma d'un dendrimère PAMAM G2 .....	5
Figure 3 : Schéma de la 2,4-diaminoptéridine.....	7
Figure4 : Comportement d'un dendrimères dans un bon et mauvais solvant .....	9
Figure5 : Etape de la synthèse divergente d'un dendrimère PAMAM de génération inférieur ou égale à 2 .....	12
Figure 6 : Schéma généralisé de la méthode de synthèse convergente .....	13
Figure 7 : Schéma réactionnel de la synthèse de la 2,4-diaminoptéridine .....	15
Figure8 : Schéma indiquant les différentes étapes de la fonctionnalisation d'un dendrimère PAMAM par la 2,4-diaminoptéridine d'une manière covalente.....	18

## Introduction

Les dendrimères sont des macromolécules synthétiques caractérisés par une architecture tridimensionnelle, multibranchée et une fonctionnalité élevée. Leur structure chimique s'organise autour d'un point focal central à partir duquel se sont formées des dendrons qui forment les générations. Ces derniers portent à leurs extrémités des groupes fonctionnels. L'arrangement de ses dendrons ou branches laisse apparaître dans la structure dendritique des cavités susceptibles d'encapsuler des médicaments hydrophobes et hydrophiles. De même les groupes terminaux peuvent être fonctionnalisés par des anticorps et des substances bioactives afin d'augmenter leur réactivité et diminuer leur toxicité.

Il existe différents types de dendrimères selon la molécule initiatrice, les fonctions de surfaces, la nature de la réaction de synthèse etc. Ainsi nous pouvons citer les dendrimère PAMAM (polyamidoamine), PEO (polyéthylène oxide), PPI (polypropylènelmines). Une des propriétés de ces dendrimères est leur capacité à transporter les principes actifs jusqu'à leur cible. Ainsi avec la dualité de l'association recommandée, pour lutter contre la résistance des médicaments, nous nous intéressons à la fonctionnalisation de ces dendrimères par la 2,4-diaminoptéridine pour lutter contre le paludisme.

La 2,4-diaminoptéridine est un antipaludique avéré qui agit par inhibition de la synthèse des folâtes. Or certaines bactéries comme le plasmodium qui est l'agent responsable du paludisme synthétisent de l'acide folique qui favorise leur réplication. Ainsi les dendrimère PAMAM G1 et G2 fonctionnalisé par la 2,4-diaminoptéridine est envisagé comme agent thérapeutique contre le paludisme (maladie récurrent au Sénégal et dans encore bon nombre de pays émergents).

Dans ce travail, nous nous intéressons aux dendrimères PAMAM de première génération G1 et de seconde génération G2 ainsi qu'à leur fonctionnalisation par la 2,4-diaminoptéridine. Après une revue de quelques généralités et des propriétés des dendrimères nous nous intéressons aux méthodes de synthèses de notre matériels( dendrimères PAMAM G1, G2 et la 2,4-diaminoptéridine). Après la synthèse de notre matériels, la connaissance du principe de fonctionnalisation nous permet de proposer une méthode de fonctionnalisation des dendrimères PAMAM par 2,4-diaminoptéridine.

## **Chapitre I : 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 cytotoxicite 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 folates.

### **I.2-Structures et intérêt**

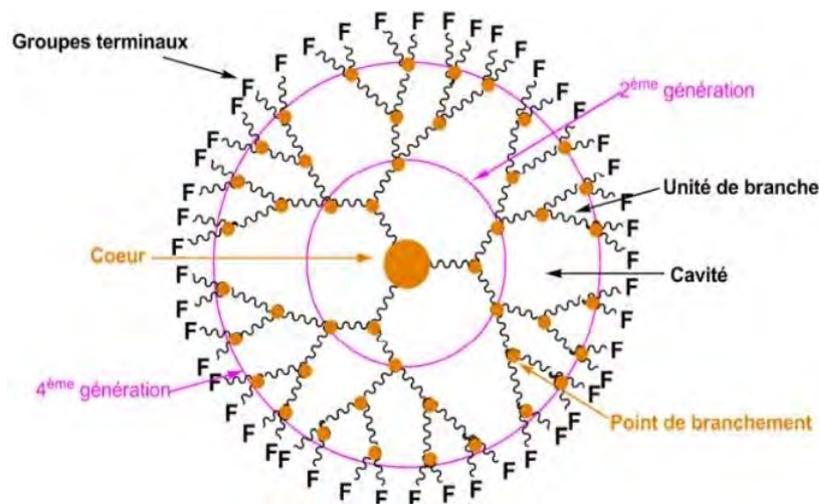
#### **I.2.1-Les dendrimères PAMAM**

Leur structure comme pour tous les dendrimères est basée fondamentalement sur trois paramètres structuraux qui sont (voir figure 1) :

- 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.

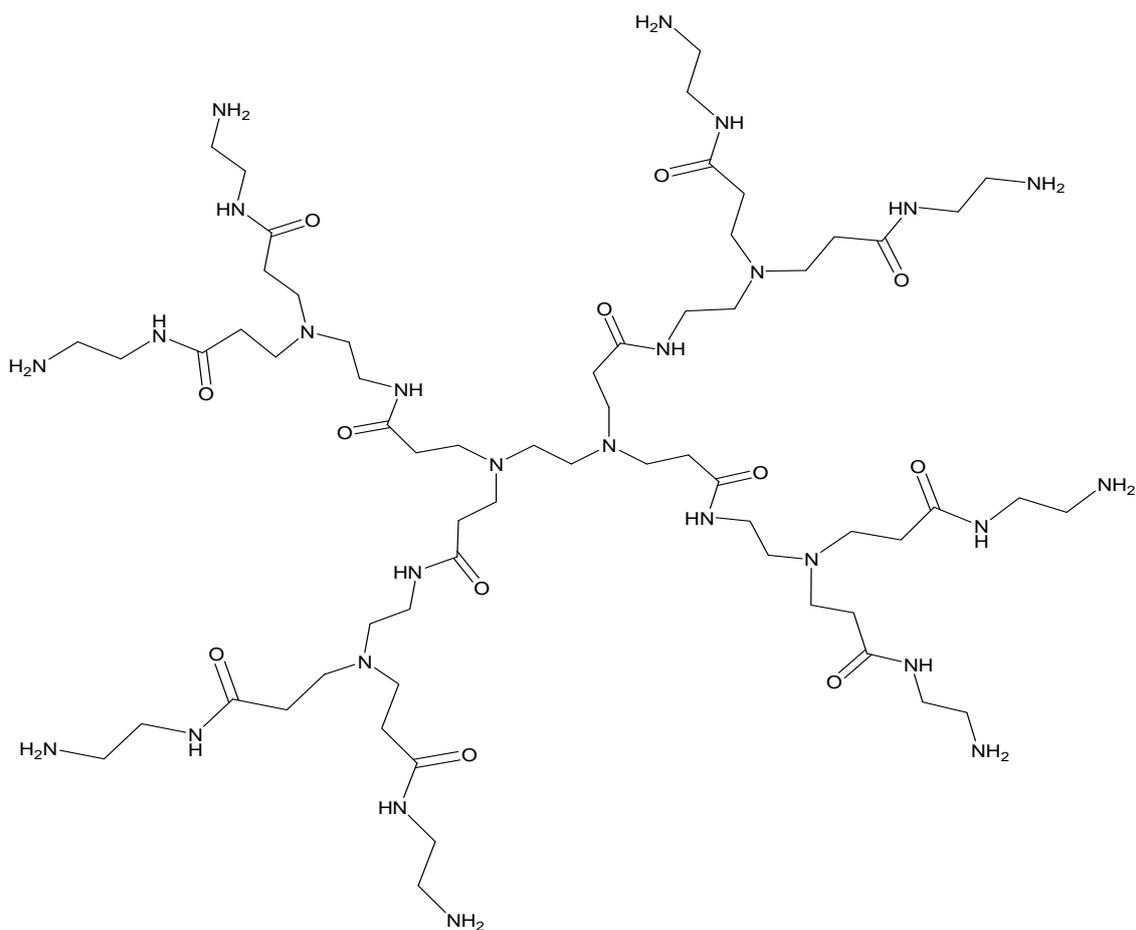


**Figure 1 : Schéma symbolique d'un dendrimère**

### **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.

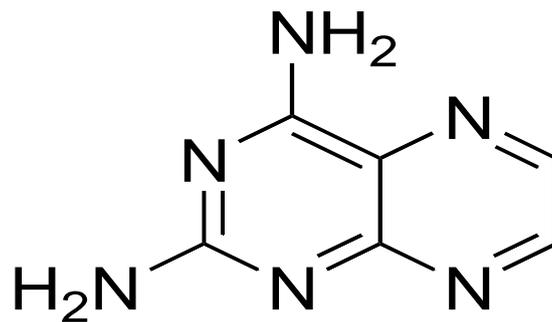
### **I.2.1.2-Intérêt des dendrimères PAMAM**

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**

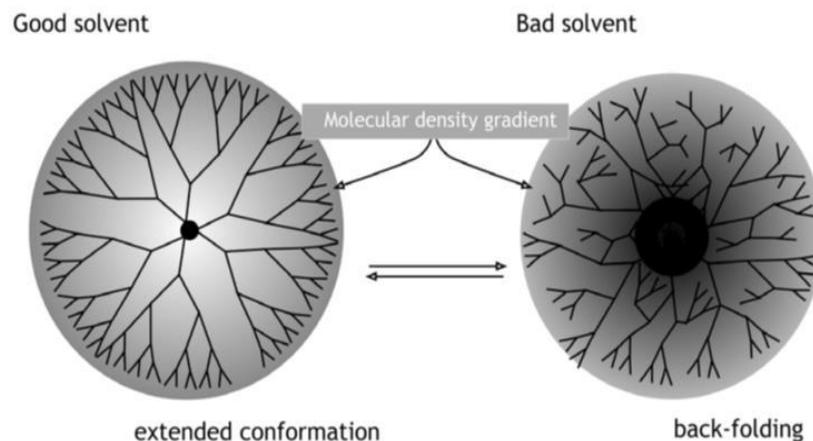
La toxicité in vivo des dendrimères est aussi influencée par la nature de leurs groupes superficiels. Elle est aussi liée à leurs structures, leurs tailles, leurs générations, à leurs temps de séjour, à leurs biodistributions et à leurs métabolismes.

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

sur de longues périodes chez une souris n'ont montré aucun signe de toxicité jusqu'à G5 , et une faible immunogénicité a été observée pour le PAMAM G3.<sup>15</sup> Malgré leurs efficacités, des études plus approfondies de pharmacocinétique et de biodistribution de PAMAM sont nécessaires avant de pouvoir passer aux applications in vivo.

### **I.3.2-L'effet du solvant**

Le solvant joue un rôle très important dans le comportement des dendrimères. Ces derniers sont très sensibles à la solvataion car en fonction des solvants, ils peuvent changer de conformations. Le pouvoir de solvataion est un facteur essentiel quant à l'état conformationnel d'un dendrimère. C'est ce qui fait que, au niveau de toutes les générations des dendrimères une plus grande étendue de back-folding (déformation des générations du dendrimère) est observée avec l'augmentation de la solvataion. Il faut aussi noter que les dendrimères de faibles générations présentent une plus forte tendance au back-folding que ceux des générations supérieures lors d'une mauvaise solvataion.<sup>16</sup>



**Figure4 : Comportement d'un dendrimères dans un bon et mauvais solvant**

Ce schéma montre l'importance du solvant vis-à-vis de la formation des générations du dendrimère.

## **Chapitre II : Synthèse des dendrimères PAMAM G1 et G2 et de la 2,4-diaminoptéridine et intérêt de fonctionnalisation par la 2,4-diaminoptéridine**

Les dendrimères sont des macromolécules à structures très complexes. Leur synthèse est fondamentalement basée sur différentes étapes selon la procédure choisie. Depuis leur découverte et la première description de ce type de molécules, deux méthodes de synthèses ont été principalement développées pour leur synthèse. La première méthode appelée stratégie divergente a été développée par Tomalia. Elle consiste à faire croître la molécule à partir d'un cœur central vers la périphérie. La deuxième méthode appelée stratégie convergente a été développée par Hawker et Fréchet. Cette méthode consiste à faire coupler les unités dendritiques à un cœur multifonctionnel pour obtenir le dendrimère final.<sup>17</sup> Ainsi les dendrimères PAMAM G1 et G2 qui sont l'objet de notre étude suivent les mêmes règles pour leurs synthèses.

Ces molécules sont d'excellentes transporteuses de médicaments du fait de leur architecture. Les dendrimères PAMAM G1 et G2 peuvent être fonctionnalisés par la 2,4-diaminoptéridine qui est une molécule antipaludique. Ainsi, nous allons essayer de voir ce que va donner une telle association dans le système biologique.

### **II.1-Synthèse des dendrimères PAMAM G1 et G2**

#### **II.1.1-Synthèse divergente**

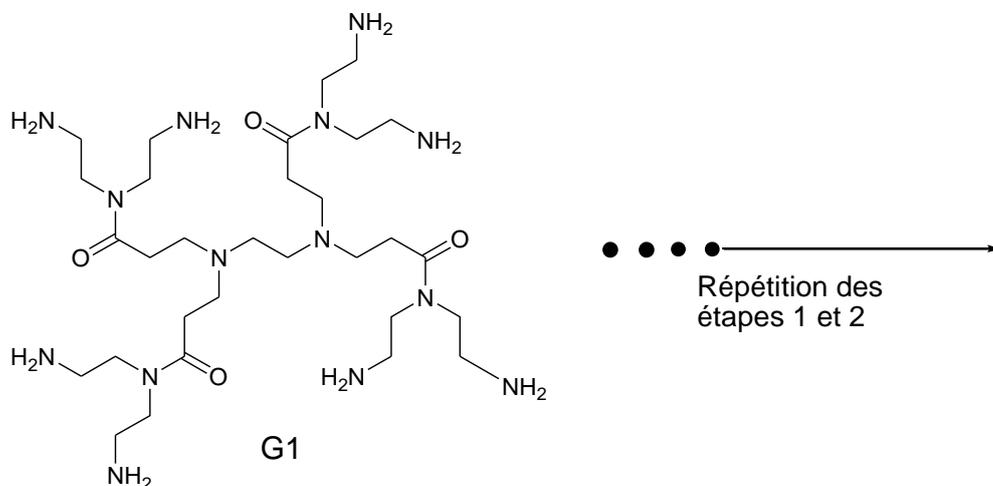
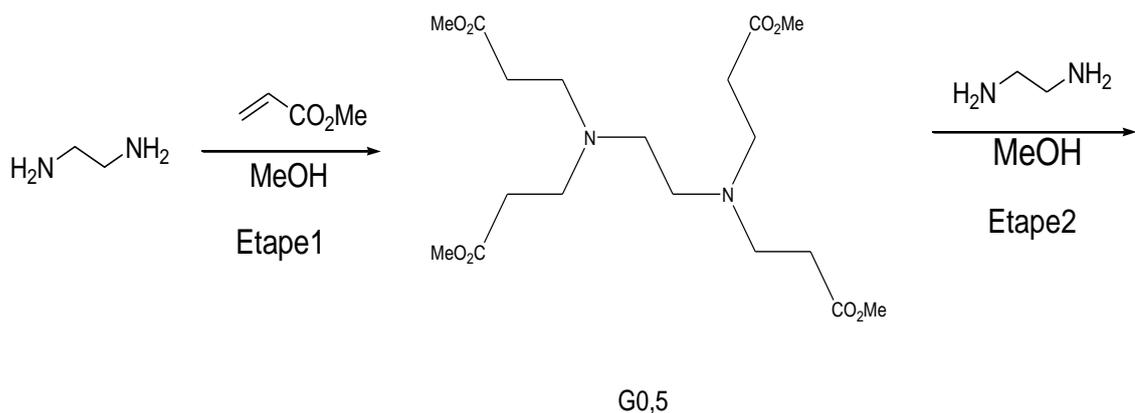
C'est une stratégie de synthèse progressive qui se fait de couche en couche en partant d'une molécule centrale "initiateur" qui contient des groupes fonctionnels capables d'agir en tant que sites actifs dans la réaction initiale jusqu'à la périphérie. Le nombre de groupes fonctionnels augmente de façon exponentielle après chaque réaction ultérieure appelée croissance de génération. Les molécules initiatrices qui donnent naissance aux dendrimères PAMAM peuvent varier mais les plus élémentaires sont l'ammoniac et l'éthylène diamine.

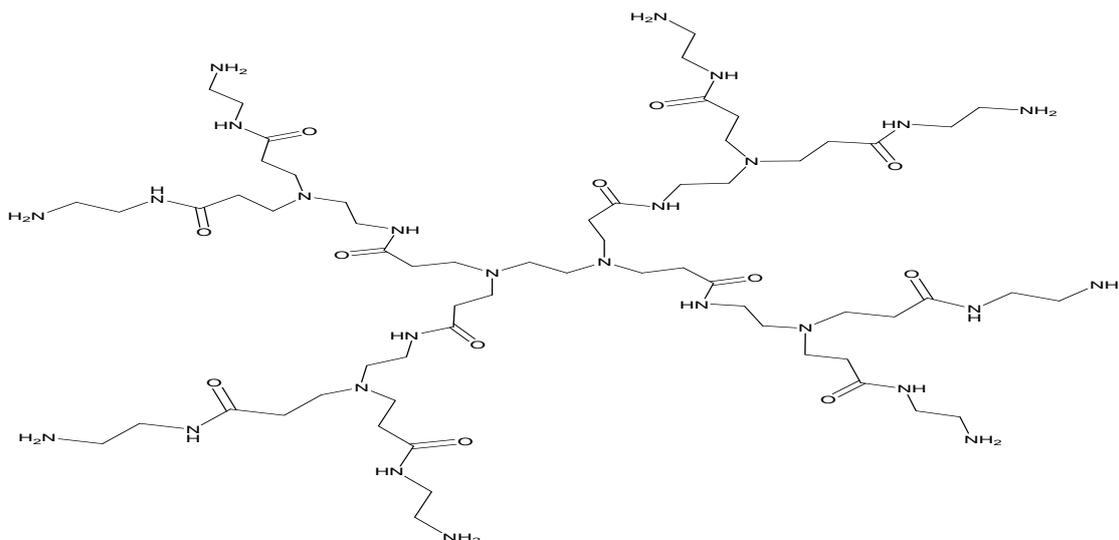
### II.1.1.1-Etape de la synthèse divergente

La croissance externe des dendrimères PAMAM se fait en alternant deux types de réactions :

- La première étape de la synthèse commence par une réaction d'addition de Michael de la surface à terminaison amino sur l'acrylate de méthyle, ce qui donne une couche externe à terminaison ester.
- La seconde réaction est une réaction de couplage avec une molécule d'éthylène diamine pour obtenir une nouvelle surface à terminaison amino.

Ainsi chaque série de réaction forme une nouvelle génération. Le premier cycle complet d'addition de Michael suivi d'un couplage avec de l'éthylène diamine forme la génération 1 du dendrimère PAMAM. D'autres additions de Michael suivies d'une réaction de couplage d'amide donnent lieu à des générations complètes. Cette méthode est illustrée par la réaction proposée ci-dessous :





**Figure5 : Etape de la synthèse divergente des dendrimère PAMAM G1 et G2**

### II.1.1.2-Limites de cette méthode

L'analyse de cette méthode de synthèse permet de citer deux points:

- la probabilité de la fonctionnalisation incomplète croissante avec l'augmentation du nombre de génération. En effet, la hausse de génération entraîne un encombrement stérique entre les groupements à la périphérie du dendrimère. Or, d'après la théorie «dense packing state» de P. De Gennes et H. Hervet, publiée en 1983, il existe toujours une limite théorique à la croissance des dendrimères due à la congestion de sa surface.
- Si l'excès de monomères branchés n'a pas été complètement éliminé, cela entraîne une apparition de petites impuretés dendritiques.

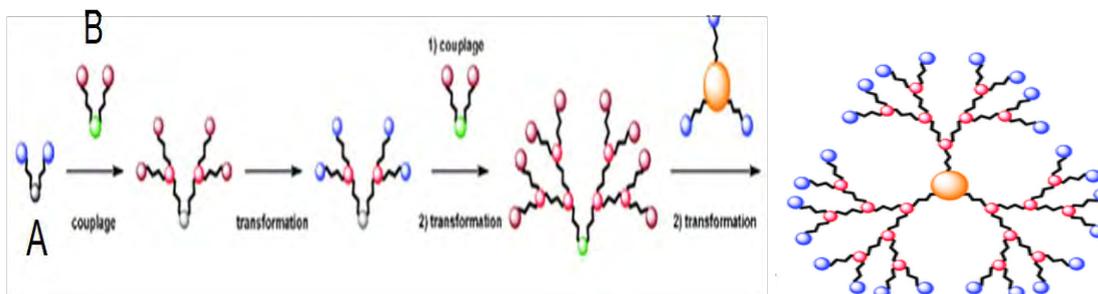
Cette méthode reste toujours une méthode de choix pour les synthèses aussi bien à l'échelle du laboratoire qu'à l'échelle industrielle malgré les inconvénients cités ci dessus.

### II.1.2-Synthèse convergente

Cette méthode a été mise au point par Hawker et Fréchet lors de la synthèse des dendrimères polyéthers dits de Fréchet.<sup>18</sup>

### II.1.2.1-Etape de la synthèse

Contrairement à la méthode divergente, cette stratégie commence par ce qui deviendra être la surface du dendrimère et se poursuit vers l'intérieur. Dans cette méthode, on utilise des groupes protecteurs orthogonaux (deux groupes protecteurs dont les conditions de déprotection ne s'élimineront pas). La croissance du dendrimères de la périphérie au centre se fait en préparant d'abord des dendrons qui seront liés au cœur ultérieurement. Au début, il faut former une molécule A qui comporte un groupement fonctionnel qui servira de point focal et au moins deux autres fonctions qui seront les terminaisons du dendrimère final. Le point focal de A doit réagir avec un monomère B pour permettre la croissance du dendron. Ce monomère B doit comporter aussi au moins 3 fonctions dont l'une constitue son point focale comme pour la molécule A. Il faut noter que les terminaisons et le point focal qui composent A et B doivent être constitués de groupements fonctionnels différents afin d'éviter une formation de liaisons chimiques incontrôlée. En général, on doit protéger les terminaisons de A et le point focal de B pour les rendre inactifs. La réaction de croissance entre la molécule A et le monomère B nécessite que le point focal de A soit activé au préalable pour réagir avec les terminaisons de B afin de former le dendron de G1. Pour poursuivre la croissance ou pour compléter le dendrimère, une réaction d'activation du point focal sur le dendron de G1 est nécessaire. De ce fait le point focal activé peut réagir avec l'unité de répétition B pour former le dendron de G2. La figure ci-dessous illustre un schéma général des différentes étapes de la synthèse convergente :



**Figure 6 : Schéma généralisé de la méthode de synthèse convergente**

### **II.1.2.2-Limites de cette de méthode**

La méthode convergente est une stratégie de synthèse qu'on utilise peu fréquemment dans l'industrie. En effet, on assiste à un faible rendement au cours de cette synthèse car la gêne stérique, dans le cas des dendros volumineux, empêche le couplage efficace avec le point focal de la molécule centrale. Elle est généralement limitée à l'obtention de dendrimères de génération 2 et 3.<sup>19</sup>

Malgré les inconvénients, cités ci-dessus, liés à cette méthode de synthèse, elle présente certains avantages. Dans cette méthode, la purification est effectuée après chaque étape de la synthèse contrairement à la méthode divergente où la purification est très difficile à effectuer par une méthode chromatographique car les réactifs et les produits restent. Il est aussi possible de changer la molécule centrale du dendrimère sans pour autant reconstruire le dendrimère tout entier. Il est aussi possible de fixer plusieurs équivalents du dendron à une molécule centrale polyfonctionnelle.<sup>20</sup>

Il faut aussi noter que la purification des dendrimères PAMAM doit être effectuée par dialyse à travers une membrane qui retient les macromolécules solubles dans l'eau avec un rayon hydrodynamique supérieur à la limite de perméabilité de la membrane utilisée.

### **II.1.2.3-Elimination des impuretés**

Pour éviter la formation d'impuretés au sein des dendrimères PAMAM comme la présence de dimères ainsi que les réactions entre les branches du dendrimère ou même les branches incomplètes, il faut nécessairement trouver des stratégies de synthèse. En effet, toutes ces impuretés forment des nanostructures différentes du dendrimère PAMAM qu'on désire synthétiser et ces nanostructures ne peuvent pas être séparées par les méthodes de purification comme la dialyse car les membranes n'éliminent que les molécules possédant un rayon hydrodynamique inférieur à une limite déterminée. Ainsi pour éviter la formation de ces impuretés, différents chercheurs qui travaillent sur les dendrimères se sont penchés sur les réactions de type «click» classifiées par le Professeur Sharpless en 2001.<sup>21</sup> C'est une réaction chimique qui s'applique pour synthétiser des produits de manière rapide et efficace en assemblant de petites unités entre elles par des liaisons avec des hétéroatomes.

## II.2-Synthèse de la 2,4-diaminoptéridine

Cette molécule antipaludique est un dérivé de la ptéridine substituée par des groupements amino au niveau des atomes de carbones 2 et 4. La réaction commence par une réaction de substitution électrophile en présence d'acide chlorhydrique de la ptéridine sur les atomes de carbones 2 et 4 suivie d'une réduction en présence de Fe/HCl ou Zn/HCl et une neutralisation avec une solution d'hydroxyde de sodium.

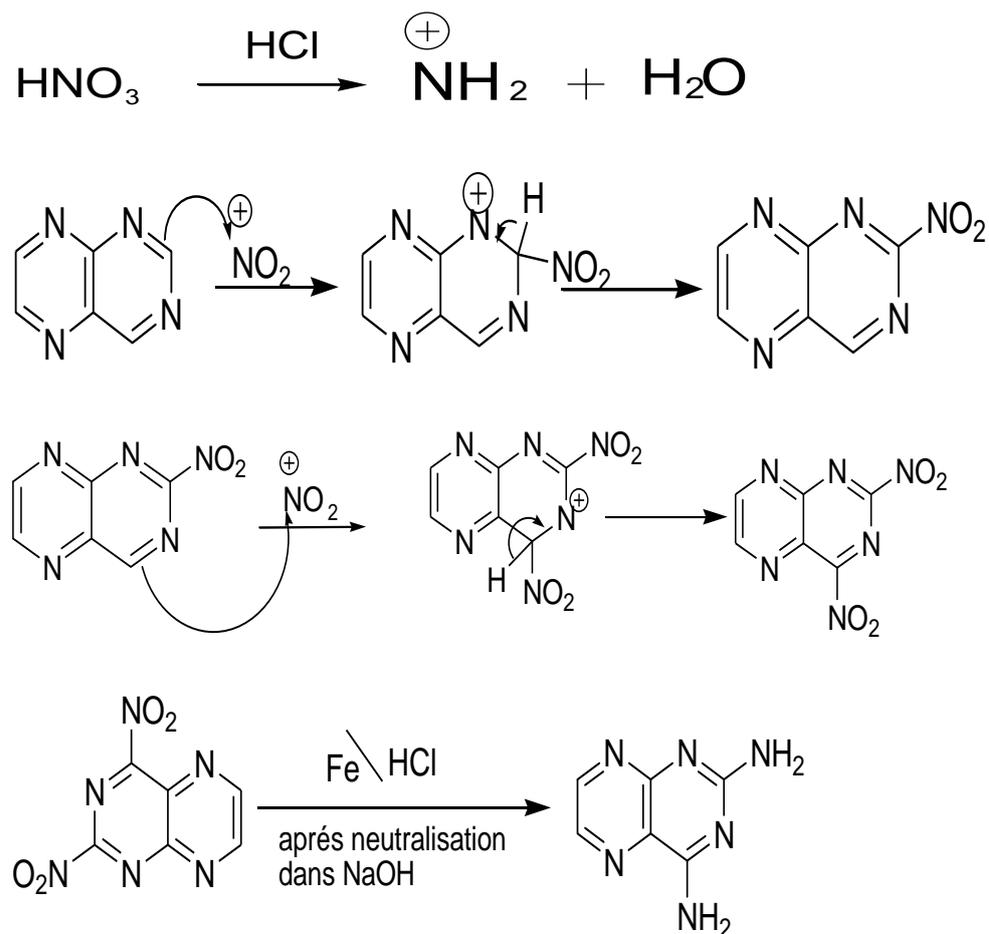


Figure 7 : schéma réactionnel de la synthèse de la 2,4-diaminoptéridine

## II.3-Fonctionnalisation des dendrimères PAMAM G1 et G2 par la 2,4-diaminoptéridine

Les dendrimères PAMAM peuvent être fonctionnalisés par des molécules à visées thérapeutiques afin d'augmenter leur efficacité et de les transporter jusqu'à leur cible.

### **II.3.1-Principe de la fonctionnalisation**

Le manque de molécules transporteuses sûres et efficaces permettant aux molécules thérapeutiques de pénétrer les cellules ou les tissus de l'organisme pose un problème majeur dans le domaine de la thérapie. En effet, la molécule thérapeutique devra traverser différentes barrières biologiques afin d'accéder à sa cible. Ainsi pour que ce travail soit effectué de façon efficace, il est nécessaire que la molécule soit introduite par l'intermédiaire d'un vecteur non immunogène, non toxique biodégradable et possède un temps de survie suffisamment long dans le sang pour lui permettre d'assurer son rôle de transporteur. De ce fait les dendrimères PAMAM en particulier de générations G1 et G2 semblent être une solution à ce problème.

Les dendrimères PAMAM ont une fonction analogue aux enzymes et aux protéines et ils peuvent être aussi fonctionnalisés. Ils ont la particularité de fonctionner comme transporteur de médicaments soit :

- Par encapsulation de médicaments à l'intérieur de leurs structures.
- Par association avec des médicaments au niveau de leurs fonctions de surface par formation de liaisons covalentes ou par l'intermédiaire d'un promédicament électrostatique.<sup>22</sup>

Les groupements amino se trouvant à la surface des dendrimères PAMAM permettent une amélioration de la solubilité des médicaments hydrophobes qui leurs ont attachés.

Dans le cas de la fonctionnalisation des dendrimères PAMAM par la 2,4-diaminoptéridine, cette dernière sera liée de manière covalente avec les groupes terminaux du dendrimère qui sont des groupements amino et sa libération va se faire par hydrolyse chimique ou par l'intermédiaire d'enzymes telles que les hydrolas. Après cette synthèse, la connaissance du principe de fonctionnalisation nous permet de proposer une méthode de fonctionnalisation des dendrimères PAMAM par la 2,4-diaminoptéridin

### **II.3.2-Intérêt de la fonctionnalisation des dendrimères PAMAM G1 et G2 par la 2,4-diaminoptéridine**

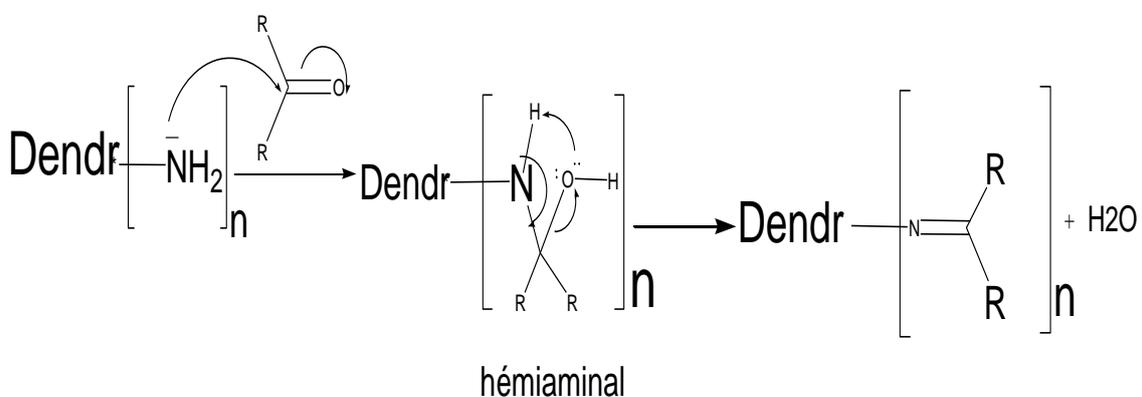
Face à la chimiorésistance du Plasmodium et à la recrudescence du paludisme avec toutes les conséquences que cette maladie engendre sur le plan social et économique, il

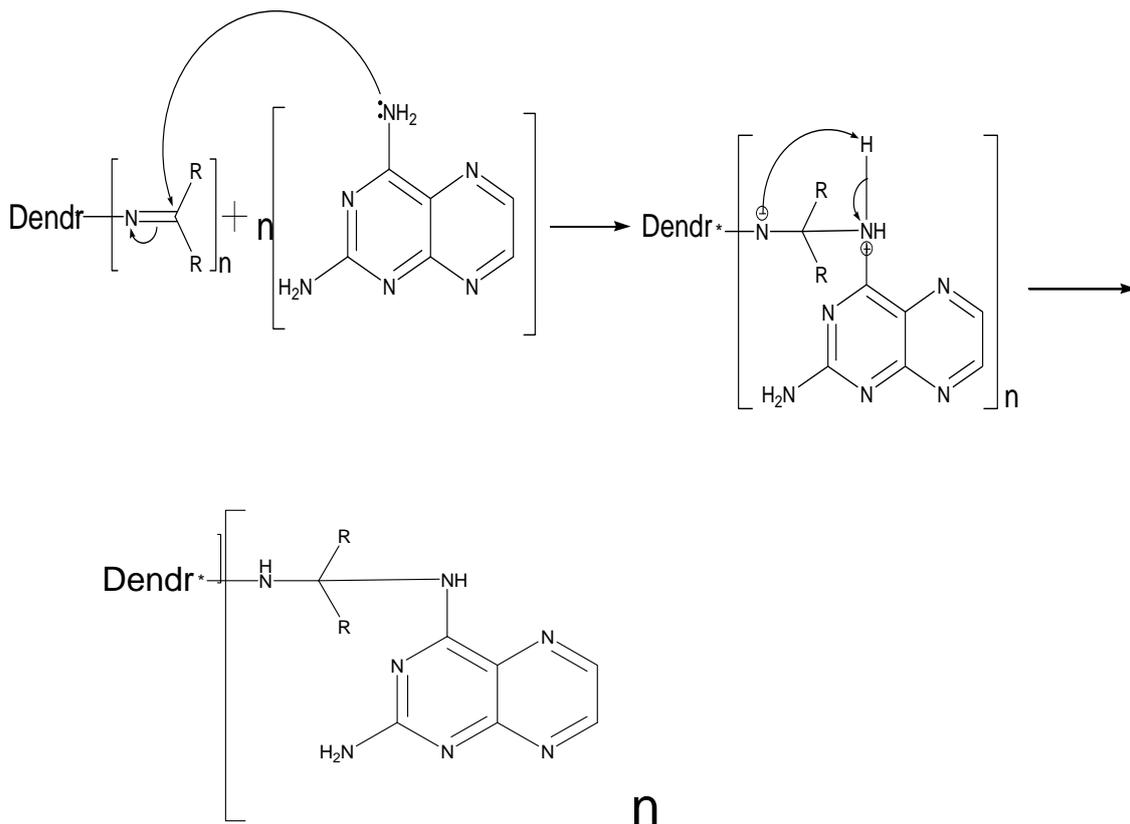
est nécessaire d'optimiser les médicaments qui existent déjà sur le marché mais aussi mettre au point de nouvelles classes de molécules antipaludiques. La 2,4-diaminoptéridine est une molécule appartenant à la famille des alcaloïdes. Ainsi, pour améliorer ses propriétés antipaludiques et aussi la transporter jusqu'à sa cible elle sera associée à des dendrimères PAMAM de générations G1 et G2. La multitude d'atomes d'azotes au sein de cette molécule nous fait penser aux extrémités azotées des dendrimères PAMAM. Cette similitude nous laisse entrevoir une association possible entre ces deux molécules qui pourrait induire une activité antipaludique. La métabolisation de cette association est un facteur très intéressant qu'il faut prendre en compte. Elle change parfois les propriétés de certaines molécules. L'association de ces deux molécules doit être :

- Compatible ;
- Non toxique ;
- Capable de rester en circulant dans l'organisme pendant le temps nécessaire pour avoir un effet thérapeutique ;
- Capable de protéger le médicament qui est la 2,4-diaminoptéridine jusqu'à ce qu'elle atteigne sa cible ;
- Non immunogène ;

### **II.3.3-Méthode de fonctionnalisation des dendrimères PAMAM par la 2,4-diaminoptéridine**

Une méthode covalente de fonctionnalisation d'un dendrimère PAMAM est proposée ci-dessous :





**Figure8 : Schéma indiquant les différentes étapes de la fonctionnalisation d'un dendrimère PAMAM par la 2,4-diaminopteridine d'une manière covalente**

### II.3.3-Résultats et discussion

Cette approche apporte un meilleur contrôle sur les propriétés pharmacocinétiques du médicament contrairement à l'introduction du médicament seul dans l'organisme qui aurait des propriétés différentes. Ainsi une fonctionnalisation externe serait donc envisagée selon le schéma proposé.

La réaction consistant à fonctionnaliser le dendrimère PAMAM par une molécule active contre le paludisme qui est pour notre cas la 2,4-diaminopteridine pourrait se faire suivant différentes étapes selon le schéma réactionnel dans le paragraphe II.3.3. D'abord le dendrimère PAMAM réagit avec un dérivé carbonyle pour former un composé appelé hémiaminal qui est instable. Cette étape de la réaction est accélérée en présence de catalyseur acide.

Ensuite l'hémiaminal se transforme en imine après libération d'une molécule d'eau.

Après l'imine formé va réagir avec la 2,4-diaminoptéridine pour donner le dendrimère PAMAM fonctionnalisé à sa surface par la 2,4-diaminoptéridine par attachement covalent. Néanmoins cette liaison doit être stable durant le transport du médicament jusqu'à la cible thérapeutique, mais elle doit être clivée à l'aide d'enzymes telles que les hydrolases pour en permettre la libération dans l'organisme.<sup>23</sup>

En effet, le parasite responsable du paludisme qui est le plasmodium, une fois entré dans l'organisme vivant synthétise de l'acide folique. Ce dernier est nécessaire pour sa réplication alors que l'organisme vivant n'a pas les enzymes nécessaires pour contrarier la croissance de ces bactéries dans l'organisme. Ce parasite envahit les cellules hépatiques du malade et circule dans le sang. Ainsi cette association de molécules qui est le dendrimère PAMAM fonctionnalisé par la 2,4-diaminoptéridine pourrait avoir un effet inhibiteur de la dihydrofolate réductase. Elle agirait de façon synergique sur la voie de la biosynthèse des folates.<sup>12</sup> L'utilisation de la 2,4-diaminoptéridine seule pourrait conduire à une résistance et cela entraîne un développement plus rapide de la réplication du parasite dans l'organisme. D'ailleurs depuis 2006 l'OMS a recommandé l'utilisation d'association afin de diminuer les risques de résistances. Cette association doit préserver les propriétés chimiques et pharmacologiques telles que l'effet thérapeutique et la toxicité de la molécule ainsi qu'un meilleur contrôle de sa libération. De ce fait pour renforcer son action et s'opposer au développement de la résistance, ainsi que sa durée d'action la 2,4-diaminoptéridine est associée au dendrimère PAMAM qui inhibe la synthèse d'acide folique. Cela constituerait une arme efficace contre le germe du paludisme. Il inhibe la dihydroptéroate synthétase, enzyme microbienne responsable de l'incorporation de l'acide para-aminobenzoïque dans l'acide dihydroptéroïque, précurseur de l'acide folique par le parasite.<sup>24</sup>

Cette association doit répondre à des normes concernant les propriétés pharmacocinétiques appropriées pour protéger et améliorer la qualité de vie du patient. On utilise l'abréviation ADMET (l'absorption, la distribution, la métabolisation et l'excrétion) pour désigner les propriétés pharmacocinétiques. Ce sont ces critères qui décrivent la disposition d'un médicament dans l'organisme. C'est le processus qui permet d'évaluer les concentrations du produit dans les différents tissus et système circulatoire de l'organisme. Les résultats obtenus par ces critères permettent d'analyser la performance et l'efficacité de l'association dendrimère PAMAM-2,4-

diaminoptéridine. Cela permet de juger sa capacité à devenir un médicament et son intérêt à poursuivre son développement pour des études cliniques.<sup>25</sup> C'est l'analyse de l'ADMET qui permettra d'évaluer l'intervalle entre la concentration plasmatique minimale pour avoir un effet thérapeutique et la concentration plasmatique maximale où se manifestent des effets secondaires suite à l'introduction de la molécule active dans l'organisme transportée par le dendrimère PAMAM. Après avoir fixé le dendrimère, il serait judicieux de faire une étude pharmacocinétique après avoir fait les tests d'activité afin de vérifier le comportement du complexe thérapeutique vis-à-vis de l'organisme. Ce processus se fera selon différentes étapes :

- l'absorption ; qui permet de révéler si le produit bioactif administré se trouve dans le système sanguin ou pas. Le choix de la voie d'administration dépend de la cible thérapeutique visée.
- La distribution ; suite à l'absorption du complexe dendrimère PAMAM-2,4-diaminoptéridine la distribution de ce dernier s'effectuerait entre les cellules, les organes et les fluides comme le sang et la lymphe. Il faut noter que la tendance d'un composé à se concentrer dans un milieu dépend de l'affinité entre les paramètres physiologiques et les propriétés physicochimiques de ce composé.
- La métabolisation ; c'est un processus naturel pour augmenter la solubilité physiologique des molécules actives. Cela permet l'accessibilité au système sanguin et l'élimination des corps étrangers. C'est grâce à l'intervention des mécanismes de métabolisation le complexe dendrimère PAMAM-2,4-diaminoptéridine recouvre la cible thérapeutique. Elle améliore l'efficacité du traitement mais parfois elle amène des effets secondaires indésirables.
- L'excrétion ; l'excrétion du complexe dendrimère PAMAM-2,4-diaminoptéridine dépendra de ses propriétés physicochimiques comme sa polarité ou son caractère lipophile. Il faut noter que les composés polaires sont excrétés plus facilement car ils traversent difficilement les membranes qui sont majoritairement constitués de lipides.<sup>26</sup>

L'ADMET permettra de comprendre les interactions entre l'association dendrimère PAMAM-2,4-diaminoptéridine et l'organisme du patient qu'on désire soigner. Pour cela il est nécessaire de mesurer les paramètres gouvernant la distribution du médicament

dans le corps afin de déduire la posologie, c'est-à-dire l'indice thérapeutique qui est donné par la relation suivante :

$$\text{Indice thérapeutique} = \frac{\text{dose thérapeutique}}{\text{dose toxique}}$$

La dose thérapeutique est la quantité de substance nécessaire pour avoir un effet thérapeutique.

La dose toxique est la concentration maximale au-delà de laquelle le médicament devient toxique pour la personne.

Ainsi pour que ce complexe dendrimère PAMAM-2,4-diaminoptéridine soit un bon agent chimiothérapeutique, il faut qu'il ait une toxicité sélective. Il doit inhiber l'agent pathogène où réagir avec le récepteur biologique tout en n'ayant pas des effets secondaire notables.

## Conclusion et perspectives

Au cours de ce travail nous avons décrit la préparation, sur la base de la réaction de Michael, des dendrimères PAMAM de génération G1 et G2 fonctionnalisés par la 2,4-diaminoptéridine. Comme nous le savons, le transport des molécules thérapeutiques dans l'organisme jusqu'à une cible bien définie est un problème majeur dans le domaine médical. Ainsi les dendrimères PAMAM semblent être une solution à ce problème.

Cette vectorisation de la 2,4-diaminoptéridine par le dendrimère PAMAM pourrait être une approche très prometteuse sur le plan médical pour la livraison de cette molécule antipaludique. Grâce à leur architecture bien définie, ils peuvent se lier facilement par liaison covalente avec la 2,4-diaminoptéridine.

La solubilité des dendrimères PAMAM due à la présence des groupements carbonyles dans leur structure nous a permis d'envisager une telle association afin d'améliorer l'activité de cette molécule active ainsi que son temps de séjour dans l'organisme jusqu'à avoir l'effet thérapeutique désiré.

Les recherches que nous avons effectuées nous ont permis de penser que la fonctionnalisation des dendrimères PAMAM par la 2,4-diaminoptéridine est bien possible. De ce fait, il sera judicieux de faire une étude d'activité afin de voir si la synergie désirée sera observée et faire éventuellement une étude en faisant varier les substituants sur la molécule de ptéridine de même que les groupements alkyles du composé carbonyle pour améliorer son activité.

## REFERENCES

- 1-T. Hudson, "Lapinone, menoctone, hyhydroxyquinoline-quinones and similar structures." In "Antimalarial Drugs. Current antimalarial and new drug developments." W. Peter ; W. H. G. Richard, eds Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York and Tokyo, **1984**, 343
- 2-Buhleier E., Wehner F. and Vögtle F. Dendrimers synthesis **1978**, 78, 155.
- 3-Tomalia, Donald A.; Baker, H.; Dewald, J.; Hall, M.; Kallos, G.; Martin, S.; Roeck, J.; Ryder, J.; Smith, P. "Dendritic macromolecules: Synthesis of starburst dendrimers". *Macromolecules*. 19 (9): 2466–8. Bibcode:1986MaMol.19.2466T .doi:10.1021/ma00163a029. **1985**, p 17, 117
- 4-E David Morgan, *Biosynthesis in Insects*, Royal Society of Chemistry, **2007**, p. 136.
- 5-Esfand, Roseita; Tomalia, Donald A "Poly(amidoamine) (PAMAM) dendrimers: From biomimicry to drug delivery and biomedical applications". *Drug Discovery Today*. **2001**, p 129
- 6-Lee, Cameron C; MacKay, John A; Fréchet, Jean M J; Szoka, Francis C. "Designing dendrimers for biological applications". *Nature Biotechnology*. 23 (12): 1517–26. doi:10.1038/nbt1171 .PMID 16333296. **2005**, p 99
- 7-Esfand, Roseita; Tomalia, Donald A. "Poly (amidoamine) (PAMAM) dendrimers: From biomimicry to drug delivery and biomedical applications". *Drug Discovery Today*. 6 (8): 427–436. doi:10.1016/S1359-6446(01)01757-3 . PMID 11301287 .Dendritech Inc "Dendritech". Weihai CY Dendrimer Technology Co., Ltd "CY Dendrimer". **2001**
- 8-Astruc D., Boisselier E., Ornelas C., Dendrimers designed for functions: From physical, photophysical, and supramolecular properties to applications in sensing, catalysis, molecular electronics, photonics, and nanomedicine, *Chem. Rev.*, **2010**, 110, p. 1857
- 9-Behr J.-P., The proton sponge: A trick to enter cells the viruses did not exploit, *Chimia*, **1997**, 51, p. 34.
- 10-Patri, A; Kukowska-Latallo, J; Baker Jr, J. "Targeted drug delivery with dendrimers: Comparison of the release kinetics of covalently conjugated drug and non-covalent drug

inclusion complex". *Advanced Drug Delivery Reviews*. 57 (15):2203–14. doi:10.1016/j.addr.2005.09.014 .PMID 16290254.2025

**11**-Supattapone, Surachai; Nguyen, Hoang-Oanh B.; Cohen, Fred E.; Prusiner, Stanley B.; Scott, Michael R. "Elimination of prions by branched polyamines and implications for therapeutics" .*Proceedings of the National Academy of Sciences*. 96 (25):14529–34. Bibcode:1999PNAS...9614529S .doi:10.1073/pnas.96.25.14529 .JSTOR 121438 .PMC 24470 .PMID 10588739 .**1999**

**12**-www .pharmacorama.com : inhibiteurs de la synthèse des folâtres. Vu le 12/10/**2020**

**13**-Tripathy S., Das M. K. Dendrimers and their Applications as Novel Drug Delivery Carriers. *J App Pharm Sci*.**2013**. 3 (09): 142-149

**14**-Rittner, K; Benavente, A; Bompard-Sorlet, A; Heitz, F; Divita, G; Brasseur, R; Jacobs, E. "New Basic Membrane-Destabilizing Peptides for Plasmid-Based Gene Delivery in Vitro and in Vivo". *Molecular Therapy*. 5(2): 104–14. doi:10.1006/mthe.2002.0523 .PMID 11829517. **2002**, p 63

**15**-Roberts, Jeanette C.; Bhalgat, Mahesh K.; Zera, Richard T. "Preliminary biological evaluation of polyamidoamine (PAMAM) Starburst™ dendrimers". *Journal of Biomedical Materials Research*.**1996**

**16**-Tripathy S., Das M. K. Dendrimers and their Applications as Novel Drug Delivery Carriers. *J App Pharm Sci*.**2013**. 3 (09): 142-149

**17**-Tomalia, D. A.; Baker, H.; Dewald, J.; Hall, M.; Kallos, G.; Martin, S.; Roeck, J.; Ryder Hawker, C. J.; Fréchet, J. M. J., Preparation of polymers with controlled molecular architecture. A new convergent approach to dendritic macromolecules

**18**-a) Launay N., Caminade A.-M., Lahana R., Majoral J.-P., A general synthetic strategy for neutral phosphorus-containing dendrimers, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1994**, 33, p. 1589 ; b) Majoral J.-P., Caminade A.-M., Dendrimers containing heteroatoms (Si, P, B, Ge, or Bi), *Chem. Rev.*, **1999**, 99, p. 845.

**19**-Agrawal A. Kulkarni S. Dendrimers: a new generation carrier. *Int. J Pharm. Sci. rev. res. L*. **2015**. 4(5), 1700-1712

**20**-Lee, Jae Wook; Kim, Jung Hwan; Kim, Byung-Ku; Kim, Ji Hyeon; Shin, WonSuk; Jin, Sung-Ho. "Convergent synthesis of PAMAM dendrimers using click chemistry of azide-functionalized PAMAM dendrons". *Tetrahedron*. **2006**

**21**- Kolb H.C., Finn M.G., Sharpless K.B., Click chemistry: Diverse chemical function from a few good reactions, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2001**, 40, p. 2004.

**22**-Tripathy S., Das M. K. Dendrimers and their Applications as Novel Drug Delivery Carriers. *J App Pharm Sci.*2013. 3 (09): 142-149

**23**-Minko, T. *Drug Discov. Today* **2005**, 2, 1, 15.

**24**-Shukla, Supriya; Wu, Gong;Chatterjee, Madhumita; Yang,Weilian; Sekido, Masaru; Diop,Lamine A.; Müller, Rainer; Sudimack,Jennifer J.; Lee, Robert J.; Barth, RolfF.; Tjarks,Werner "Synthesis and Biological Evaluation of FolateReceptor-TargetedBoronatedPAMAMDendrimersasPotentialAgentsforNeutronCaptureTherapy".

*Bioconjugate Chemistry.*14 (1): 158–67.doi:10.1021/bc025586o .PMID 12526705.

**2003**

**25**-Lee, F. W.; Wu, J. T.; Gan, L. S.; Miwa, G. T.; Balani, S. K. *Curr. Convergent synthesis of PAMAM dendrimers using click chemistry of azide-functionalized PAMAM dendrons* *Top Med. Chem.* **2005**, 5, 11, 1033

**26**-Peer, D.; Karp, J. M.; Hong, S.; Farokhzad, O. C.; Margalit, R.; Langer, R. *Nat. Nanotechnol.* **2007**,2, 751

## Résumé

En somme, les dendrimères PAMAM sont des macromolécules particulièrement très intéressantes pour la délivrance par vectorisation de médicaments. Cet intérêt réside essentiellement dans leurs propriétés de multivalence, ainsi que dans leur très haute capacité de fixation de petites molécules.

Ce document présente la préparation des dendrimères PAMAM G1 et G2 et l'intérêt de leur fonctionnalisation par la 2,4-diaminoptéridine. L'intérêt de cette fonctionnalisation des dendrimères PAMAM G1 G2 par la 2,4-diaminoptéridine a pour but d'augmenter l'activité ainsi que l'efficacité de cette molécule antipaludique et le transport de cette dernière jusqu'à sa cible. Une telle association semble être possible. De ce fait, une étude d'activité sera nécessaire afin de voir si le résultat attendu sera observé.

**Mots clés :** Dendrimère PAMAM G1 et G2 ; 2,4-diaminoptéridine ; fonctionnalisation

## Abstract

Ultimately, the PAMAM dendrimers are macromolecules which are particularly very advantageous for the delivery by vectorization of the drugs. This interest lies essentially in their multivalence properties, as well as in their very high capacity for fixing small molecules. This document presents the preparation of the PAMAM G1 et G2 dendrimers and the advantage of their functionalization with 2,4-diaminopteridine. The advantage of this functionalization of the PAMAM G1 and G2 dendrimers with 2,4-diaminoptéridine is intended to increase the activity as well as the efficiency of this antimalarial molecule and the transport of the latter to its target . Such an association seems to be possible. Therefore an activity study will be necessary to see if the expected result will be observed.

**Keywords:** PAMAM G1 G2 dendrimers; 2,4-diaminopteridine ; functionalization