

LA VECTORISATION DES ANTIBIOTIQUES : DEVELOPPEMENT ET APPLICATIONS THERAPEUTIQUES

TARGETED DELIVERY OF ANTIBIOTICS : DEVELOPMENT AND THERAPEUTIC APPLICATION

E. ZRIBI¹, Z. TRIKI², M. ZRIBI¹, S. SFAR¹.

1- Faculté de Pharmacie de Monastir

2- Service d'anesthésie réanimation, CHU Habib Bourguiba Sfax

Correspondance :

Emna ZRIBI

Faculté de Pharmacie de Monastir

Adresse : emna_zt@yahoo.fr

Résumé

La vectorisation des médicaments s'est beaucoup développée ces dernières années grâce à l'apparition de nouvelles formes galéniques issues de la nanotechnologie. Ces formes d'administration submicroniques permettent un ciblage des antibiotiques au niveau intracellulaire ainsi que le contrôle de leur distribution dans le temps et dans l'espace.

Nous essayons d'exposer l'évolution de ces vecteurs ainsi que leurs applications dans le traitement de certaines maladies infectieuses.

Mots clés : Vectorisation – Antibiotique – Nano Particule – Liposome

Summary

Targeting delivery of drugs has a great developed during last years thanks to the emergence of new galenic forms. These submicronic systems are able to pilot drugs into the organism and to modulate their intracellular distribution.

This article shows the evolution of these new administration systems and their application in the treatment of infectious illnesses.

Key words : Targeting Delivery – Antibiotic – Nanoparticle – Liposom

INTRODUCTION

Vectoriser un médicament, c'est utiliser un support (vecteur) pour acheminer le principe actif sur le site malade dans un but thérapeutique.

Ce concept a été évoqué par Erlich [1] depuis 1906 qui l'a défini comme « magic bullet » capable d'acheminer le médicament d'une manière spécifique vers son site d'action. Aujourd'hui, le développement de nanotechnologie a permis de réaliser ce rêve grâce à l'apparition de nano particule permettant d'améliorer la biodisponibilité relative du médicament au niveau de sa cible et de contrôler sa libération dans le temps et dans l'espace.

Actuellement, la vectorisation des médicaments fait l'objet, de par le monde, de nombreuses recherches offrant des perspectives considérables dans le traitement des cancers ainsi que des maladies infectieuses et virales. Cet article fait le point sur les recherches dans ce domaine en particulier sur le développement de nouvelles formes galéniques capables de vectoriser les anti-infectieux vers la cible.

DEFINITION

Ces vecteurs médicamenteux relevant de la nanotechnologie, sont définis par une taille submicronique (< 1µm) leur permettant d'être administrés par voie intra vasculaire et de circuler dans les capillaires sanguins les plus fins [2].

On distingue les liposomes et les nano particules (nano sphères ou nano capsules)[3].

Les liposomes (figure 1 A) sont des systèmes colloïdaux vésiculaires, biocompatibles et biodégradables. Selon le mode de préparation, les liposomes peuvent être de différentes tailles (0.02 – 10µm) et avoir différents nombres de lamelles. Usuellement, ils sont classés en trois catégories selon leurs tailles et le nombre de bicouches lipidiques : SUV (small unilamellar vesicles), LUV (large unilamellar vesicles) et MLV (multilamellar vesicles). Des principes actifs hydrophiles peuvent être encapsulés dans la phase aqueuse tandis que les molécules lipophiles se localisent dans les bicouches lipidiques.

Grâce à cette configuration de bicouches lipidique, ces liposomes sont capables d'interagir avec les cellules hépatiques selon 4 mécanismes : adsorption, endocytose, échange lipidique et fusion [4].

Les nano particules sont des systèmes colloïdaux dont la structure est constituée de polymères, de préférence biodégradables. Les nano particules (figure 1 B, C) peuvent être de type matriciel (nano sphère) ; dans ce cas le principe actif peut être dispersé ou dissous dans la matrice polymère et être libéré par simple diffusion de la matrice vers l'extérieur ou à la suite de la biodégradation du polymère dans l'organisme. Les nano particules peuvent aussi être de type réservoir (nano capsules) ; dans ce cas, elles sont constituées d'un noyau central entouré par une mince paroi de polymère.

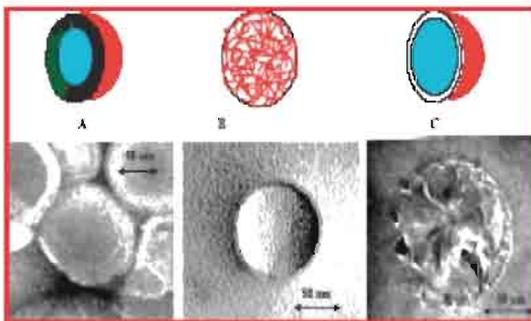


Figure 1 : Liposome A : petites vésicules sphériques formées de bicouches de phospholipides

Nano sphère B : nano particule formée d'une matrice de polymère

Nano capsule C : nano particule formée d'un noyau aqueux ou huileux entouré d'une membrane de polymère

VECTEURS DE 1^{ère} GENERATION : BIO DISTRIBUTION ET EXEMPLES D'APPLICATION

Après administration par voie intraveineuse, les nano particules ainsi que les liposomes interagissent fortement avec les protéines plasmatiques en raison de la très grande surface spécifique qu'ils développent (plusieurs dizaines de m^2/g). Ils sont ensuite reconnus par les récepteurs spécifiques localisés au niveau des macrophages du système des phagocytes mononucléés (SPM). Les vecteurs colloïdaux décorés d'opsonines et circulant dans le sang sont captés par les cellules de Kuppfer (macrophages du foie) et les macrophages de la rate [5].

ACTION SUR LES GERMES INTRACELLULAIRES

La distribution tissulaire (hépatosplénique) et intracellulaire de ces vecteurs de première génération a été mise à profit pour vectoriser des molécules d'intérêt thérapeutique au niveau de ces sites notamment pour le traitement des infections causées par des germes à localisation intracellulaire (*Brucella*, *Salmonella*, *Mycobacterium*). En effet, les macrophages constituent des réservoirs pour ces agents pathogènes. La distribution de l'antibiotique encapsulé au niveau des macrophages augmente la concentration recherchée au niveau de la cible permettant ainsi une réduction de la dose et par conséquent des effets indésirables de la molécule étudiée. La localisation tissulaire (foie, rate), cellulaire (macrophages) et subcellulaire (endosomes/lysosomes) des vecteurs de 1^{ère} génération en font la navette de choix pour le transport d'antibiotique au niveau des cellules infectées [6] (figure 2).

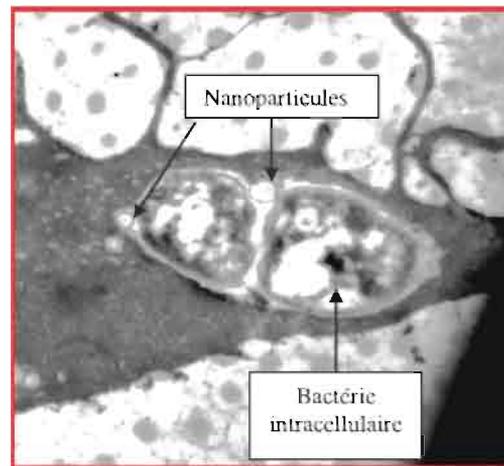


Figure 2 : ciblage d'un germe intracellulaire par une nano particule de 1^{ère} génération (d'après6)

Ceci a été appliqué pour le traitement des infections à *Mycobacterium tuberculosis* par l'administration d'association d'antituberculeux sous forme de nano particules par différentes voies d'administration (orale, inhalation et intraveineuse) [7].

En effet, une augmentation significative de l'efficacité par rapport à la forme libre de 3 antituberculeux (rifampicine, isoniazide et pyrazinamide) a été démontrée suite à leur administration chez la souris par voie orale sous forme encapsulée avec une stérilisation du foyer infectieux à la posologie de 5 doses tous les 10 jours [8].

Un avantage majeur de ces nouvelles formes est représenté également par la possibilité d'administrer les antituberculeux par inhalation

permettant ainsi de les délivrer directement au niveau pulmonaire. Différentes études [9,10] testant l'activité de 3 antituberculeux (rifampicine, isoniazide et pyrazinamide) après nébulisation sous forme encapsulée chez les cochons guinéens) ont montré l'efficacité de cette forme avec une prolongation du maintien de la concentration thérapeutique dans le foyer infectieux (poumon) et une réduction de la toxicité systémique de ces molécules.

L'administration intraveineuse d'antituberculeux sous forme de nano particules permet également une augmentation de leur efficacité par concentration de l'antituberculeux au niveau des macrophage constituant le réservoir essentiel du *Mycobacterium*. Ce ciblage des macrophages a été mis en évidence par des études in vitro. En effet, l'incorporation de l'isoniazide et de la streptomycine au niveau de nano particules a permis non seulement d'augmenter l'accumulation intracellulaire de ces molécules au niveau des monocytes humains cultivés mais aussi de produire une meilleure activité antibactérienne de ces agents contre *Mycobacterium tuberculosis* comparativement à l'activité dans le fluide extracellulaire [11].

Des résultats spectaculaires ont été observés suite à l'administration de liposomes de cephalotine chez des souris infectées par *Salmonella typhimurium* avec une réduction significativement plus importante du nombre de germes viables au niveau de la rate de 10^6 à 10^2 comparativement à la forme libre [12].

Cette activité des nano particules sur les germes intracellulaires a été également testée pour le traitement de la brucellose par la gentamicine encapsulée. Une étude in vitro réalisée sur des lignées monocytaires a montré une activation des macrophages avec phagocytose des nano particules de gentamicine. L'étude in vivo de bio distribution de ces vecteurs après administration chez la souris a révélé une diffusion au niveau des organes cibles du germe à savoir le foie et la rate [13].

REDUCTION DE LA TOXICITE DES ANTI-INFECTIEUX

La distribution hépatosplénique des vecteurs de 1^{ère} génération permet aussi, dans certains cas, de réduire la toxicité des médicaments non seulement en réduisant la dose thérapeutique mais aussi en les détournant des tissus où ils exercent leur toxicité.

Ainsi, la toxicité rénale de l'amphotéricine B a pu être diminuée après son administration sous forme de liposomes [14]. Des spécialités issues de ce concept ont été mises sur le marché comme l'Ambisome (amphotéricine B)

RESTAURATION DE L'ACTIVITE DES BETA-LACTAMINES SUR LES *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTANTS A LA METICILLINE (MRSA)

Ces nouveaux vecteurs, en plus du contrôle de la distribution des antibiotiques, ont permis d'améliorer leur activité sur certains germes habituellement résistants. Ceci a été observé notamment avec la pénicilline sur des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline (MRSA). En effet, une étude in vitro [15] a comparé l'activité antibactérienne de la pénicilline encapsulée et celle de la pénicilline libre après mise en culture pendant 24 h en présence de souches de MRSA. Les résultats ont montré que la pénicilline G encapsulée sous forme de nano particules a une activité plus importante sur les souches de MRSA comparativement à la pénicilline G conventionnelle. De plus, ces nano particules ont montré une activité antibactérienne équivalente sur les souches méti-R et les souches sensibles de *Staphylococcus aureus* indiquant que ces nouveaux vecteurs permettent à l'antibiotique de résister à l'action de bêta-lactamase. Cette hypothèse a pu être vérifiée en testant l'activité de ces nano particules sur des souches de *Staphylococcus aureus* sensibles à la méticilline (MSSA) en présence versus en l'absence de bêta lactamase additionnée au milieu de culture contre un témoin positif de pénicilline G libre. Les résultats ont montré que la forme libre de pénicilline perd son activité en présence de cette enzyme alors que la forme encapsulée gardait le même pouvoir antibactérien.

DEVELOPPEMENT DES VECTEURS DE 2^{ème} GENERATION

La distribution essentiellement hépatique des vecteurs de première génération peut constituer un avantage pour améliorer le traitement des infections localisées au niveau de ce tissu (cas des infections intracellulaires). Toutefois, dans certains cas, cette distribution peut constituer une limite vu qu'elle ne permet pas aux antibiotiques d'atteindre d'autres cibles tissulaires.

Grâce à l'application du concept physico-chimique de répulsion stérique développé par l'équipe de Gennes depuis 1990 [16], ce problème a pu être contourné par recouvrement des vecteurs de polymères hydrophiles comme le polyéthylène glycol (PEG), qui empêche les opsonines de s'adsorber à leur surface (figure 3). Après administration, ces vecteurs pégylés se caractérisent par un temps de demi-vie plasmatique prolongé et une capture hépatique réduite.

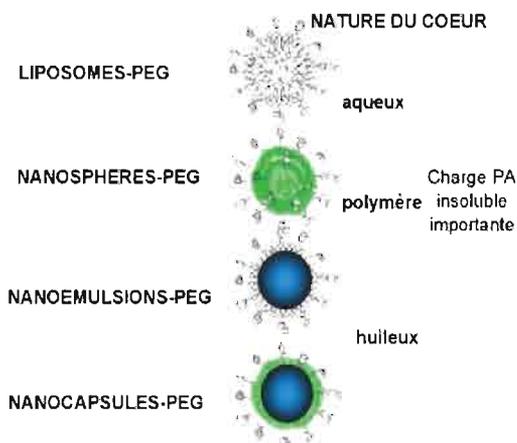


Figure 3 : nano particule et liposome de 2^{ème} génération

Ces vecteurs « furtifs », à rémanence vasculaire prolongée, ont donc une probabilité importante de traverser des endothéliums vasculaires de perméabilité accrue comme ceux localisés au niveau des foyers infectieux (3). Ils ont d'ailleurs montré une efficacité remarquable dans le traitement des pneumonies causés par *Klebsiella pneumoniae*. La survie des rats infectés a été augmentée de 47 à 100% suite à l'administration de liposomes de gentamicine comparativement à la gentamicine libre avec une réduction de 10⁴ du nombre de bactéries au niveau pulmonaire [17].

Un autre domaine d'application thérapeutique a été récemment abordé avec des nano particules pégylées capables de pénétrer dans le tissu cérébral d'animaux de laboratoire atteints d'une maladie s'accompagnant d'une perméabilisation de la barrière hématoencéphalique (BHE). De plus un passage significatif de ces nano particules a été mis en évidence à travers de la BHE d'animaux sains qui est habituellement une barrière infranchissable pour la plupart des molécules thérapeutiques [18]. Cette possibilité de transporter des anti-infectieux jusqu'au cerveau ouvre des perspectives prometteuses à ces vecteurs. Ainsi, une étude récente évaluant la diffusion cérébrale d'antituberculeux encapsulés après administration orale chez la souris [19], a montré une augmentation de la biodisponibilité relative au niveau du cerveau par rapport à la forme libre ainsi qu'une disparition du germe de *Mycobacterium tuberculosis* des méninges suite à l'administration de 5 doses tous les 10 jours. Elle a permis ainsi de conclure que l'encapsulation de ces agents antituberculeux augmente d'une manière significative leur diffusion cérébrale.

VECTEURS DE 3^{ème} GENERATION

Ces vecteurs sont obtenus suite au couplage chimique à la surface du vecteur particulaire

pégylé d'un ligand (anticorps, peptides..) capable de reconnaître de manière sélective des antigènes ou des récepteurs qui sont hyper exprimés à la surface des cellules cibles (figure 4).

VECTEURS PILOTES

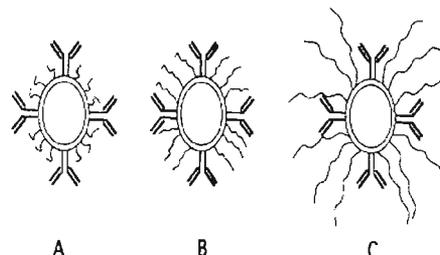


Figure 4 : vecteurs de 3^{ème} génération couplés à des anticorps

Toutefois, cette opération de couplage est une opération délicate pouvant altérer parfois les capacités de reconnaissance moléculaire du ligand avec le récepteur en raison de l'encombrement stérique dû à la particule (3).

Cette stratégie a abouti par exemple à coupler à la surface de liposome pégylé d'amphotéricine B un anticorps monoclonal reconnaissant des glycoprotéines à la surface de l'endothélium vasculaire pulmonaire, très actifs dans l'aspergillose pulmonaire artificielle [20].

CONCLUSION

Bien que l'identification de nouveaux agents anti-infectieux demeure une priorité, le développement des systèmes d'administration submicroniques pour les antibiotiques couramment utilisés représente une alternative intéressante. Les résultats des différentes études citées montrent les avantages majeurs qu'offrent ces nouvelles formes pharmaceutiques capables de transporter les molécules actives au niveau de leur cible sans altérer les organes sains ou l'équilibre physiologique du patient.

Ces nouveaux outils offrent des perspectives considérables qui ont dépassé le simple stade de curiosité de laboratoire puisqu'elles ont déjà donné lieu à la mise sur le marché de médicaments pour le traitement de certaines maladies infectieuses.

RÉFÉRENCES

- 1- Erlich P. Collected studies in immunity. New york : wiley, 1906 : 442
- 2- Kreuter J. Nanoparticles as drug delivery system. In : Nalva HS, editor. Encyclopedia of nanoscience and nanotechnology.. Vol 7. New York : American Scientific Publishers ; 2004 pp. 161–180.

- 3- Andrieux.K, Desmaele D, D'angelo J, Couvreur P. Nanotechnologies et nouveaux médicaments. Cibles thérapeutiques et médicaments 2003 ; 135-39
- 4- Pinto-Alphandry H, Andremont A, Couvreur P. Targeted delivery of antibiotics using liposomes and nanoparticles : research and applications. Internat J Antimicrobial Agents 2000 ; 13 : 155-68
- 5- Juliano RL. Factors affecting the clearance kinetics and tissue distribution of liposomes, microspheres and emulsion. Advanced Drug Delivery Rev 1988 ; 2 : 31-54
- 6- Balland O, Pinto-Alphandry H, Viron A. Intracellular distribution of ampicillin in murine macrophages infected with *Salmonella typhimurium* and treated with (3H) ampicillin-loaded nanoparticles. J.Antimicrobial chemotheapy. 1996 ; 37 : 105-15
- 7- Gelperina S, Kisich K, Iseman MD. The potential advantages of nanoparticle drug delivery systems in chemotherapy of tuberculosis. Am J Respir Critical Care Med 2005 ; 172 : 1487-89
- 8- Pandey R, Zahoor A, Sharma S, Khuller GK. Nanoparticle encapsulated antitubercular drugs as a potential oral drug delivery system against murine tuberculosis. *Tuberculosis (Edinb)* 2003 ; 83:373–78.
- 9- Pandey R, Khuller GK. Antitubercular inhaled therapy: opportunities, progress and challenges. J Antimicrobial Chemotherapy 2005 ; 55 : 430–35
- 10- Pandey R, Sharma A, Zahoor A, Sharma S, Khuller GK, Prasad B. Poly (DL-lactide-co-glycolide) nanoparticle-based inhalable sustained drug delivery system for experimental tuberculosis. J Antimicrobial Chemotherapy 2003 ; 52:981–86
- 11- Anisimova YV, Gelperina SE, Peloquin CA, Heifets LB. Nanoparticles as antituberculosis drugs carriers: effect on activity against *M. tuberculosis* in human monocyte-derived macrophages. *J Nanoparticle Res.* 2000 ; 2: 165–71.
- 12- Dsidero JV, Campbell SG. Liposome encapsulated cephalotin in the treatment of experimental murine salmonellosis. J.Reticuloendothelial society 1983 ; 34 : 279-87
- 13- Lecaroz C, Gamazo C, Blanco-Prieto MJ. Nanocarriers with gentamicin to treat intracellular pathogens. J Nanosc Nanotechnolog. 2006 ; 6 : 3296-302
- 14- Barrett JP, Vardulaki KA, Conlon C et al. A systematic review of the antifungal effectiveness and tolerability of amphotericin B formulations. Clinical Therapeutics. 2003 ; 25 : 1295-320
- 15- Turos.E, Suresh Kumar Reddy G, Greenhalgh K et al. Penicillin-bound polyacrylate nanoparticles : Restoring the activity of beta-lactam antibiotics against MRSA. *Bioorganic and Medicinal Chemistry letters* 2007; 17: 3468-472
- 16- Jeon SI, Lee JH, Andrade JD. Protein surface interactions in the presence of polyethylene oxide. *J Colloidal .Interface science.* 1991; 142 -59
- 17- Bakker W, Lokerse AF, Tenkate MT et al. liposomes with prolonged blood circulation and selective localization in *Klebsiella pneumoniae* infected lung tissue. *J infect Dis* 1993; 168: 164-71
- 18- Calvo P, Gouritin B, Chacun H et al. Long circulating pegylated polycyanoacrylate nanoparticles as new drug carrier for brain delivery. *Pharmceutical Research* 2001, 18 : 1157-166
- 19- Pandey R, Khuller GK. oral nanoparticle-based antituberculosis drug delivery to the brain in an experimental model. *J Antimicrob Chemotherapy* 2006; 57: 1146-52
- 20- Maruyama K, Ishida O, Takizawa T et al. Possibility of active targeting to tumor tissues with liposomes. *Advanced drug delivery* 1999 ; 40 : 89-102.