SYSTEME POLYMERE-MEDICAMENT A BASE DE 1-(2-HYDROXYETHYLE)-2-METHYLE-5-NITROIMIDAZOLE IMMOBILISE SUR POLY(METHYLE METHACRYLATE-CO-ACIDE ACRYLIQUE)

Marcel Popa et Corina Lavinia Dumitriu

Université Technique "Gh.Asachi », Faculté de Chimie Industrielle, Chaire des Macromolécules, Bd. D. Mangeron, nr. 71 A, Iasi, ROMANIA
e-mail: marpopa2001@yahoo.fr

Résumé : L'objet de l'étude est l'obtention et la caractérisation d'un système polymère-médicament capable a libérer d'une manière contrôlée le principe actif, par une réaction d'hydrolyse suivie de sa diffusion. Le polymère support utilisé est le poly(méthyle méthacrylate-co-acide acrylique), tandis que le médicament est le 1-(2-hydroxyéthyle)-2-méthyle-5-nitroimidazole. Le système a été réalisé par estérification du copolymère avec le médicament en présence du dicyclohexyle carbodiimide comme activateur. Une étude de l'influence de certains paramètres du processus sur l'efficacité de la réaction a été effectuée. Les paramètres étudiés sont : les rapports médicament/support, activateur/support, et le volume de solvant. Le produit de couplage avec un contenu maximum de médicament a été caractérisé par des méthodes spectrales, du point de vue du comportement thermique, ainsi que de la capacité de libération du médicament dans des conditions qui simulent celles du tube gastro-intestinal.

Keywords : *système polymère-médicament, immobilisation, métronidazole, libération contrôlée, copolymère*

INTRODUCTION

En comparaison avec les formes traditionnelles d'administration, les systèmes thérapeutiques (surtout de type polymère-médicament) offrent des avantages importants, notamment lorsqu'il est nécessaire d'assurer une concentration constante du médicament dans l'organisme ou une durée d'action élevée [1]. Habituellement administrables par voie orale, ces systèmes sont constitués d'un médicament dispersé dans une matrice polymère ou lié chimiquement à celle-ci. En contact avec les fluides biologiques du tube digestif (par exemple le suc gastrique), le médicament est soit élué, soit hydrolysé et ultérieurement élué, mais d'une manière continue, conformément à une cinétique bien contrôlée, ce que lui assure soit une concentration constante, soit une action pour une période prédéterminé de temps.
De nombreux systèmes ont été conçus pour contrôler la libération du médicament dans le liquide gastrique du tube gastro-intestinal, pour des valeurs de pH situées dans les domaines acide et basique. Conformément au mécanisme de libération, ceux-ci peuvent être divisés en plusieurs catégories [2] : des systèmes basés sur l'osmose [3, 4], sur l'érodibilité (basés sur l'érosion du polymère support), des systèmes diffusionnels, et des systèmes basés sur une réaction d'hydrolyse suivie de diffusion [2, 5]. Dans le dernier cas le médicament est lié chimiquement au support macromoléculaire, soit par liaisons ioniques, soit par liaisons covalentes (notamment de type ester). La littérature rapporte de nombreux systèmes, où le polymère support est soit synthétique, soit naturel (surtout de nature polysaccaridique).
Ce travail présente l'obtention d'un tel système, par l'estérification 1-(2-hydroxyéthyle)-2-méthyle-5-nitroimidazole (metronidazole) sur un copolymère de l'acide acrylique avec le méthacrylate de méthyle, en présence de la dicyclohexyle carbodiimide comme activateur. Nous avons étudié l'influence de quelques paramètres de la réaction de couplage sur l'efficacité (exprimée par le taux du médicament dans le produit du couplage), et les systèmes synthétisés ont été caractérisés par voie spectrale (IR, RMN) et du point de vue de leur capacité à libérer le médicament dans un milieu acide ou basique simulant les fluides biologiques du tube digestif.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Obtention du copolymère support

La synthèse du poly(méthyle méthacrylate-co-acide acrylique) (PMMA-AcA) a été réalisée par copolymérisation en solution (DMF) en travaillant à un rapport molaire MMA/AcA de 1:1, pour une concentration du melange en monomères de 4M. La réaction a été conduite pendant 3 heures à une temperature de 60ºC. Le copolymère a été séparé de la solution obtenue par précipitation avec de l'eau, puis ultérieurement filtré, lavé avec de l'eau pour enlever les traces de poly(acide acrylique), et finalement séché sous vide, à une temperature de 40ºC. Afin de déterminer le taux de groupements carboxyliques du copolymère, une quantité de ce dernier, pésée avec précision, a été suspendue dans un volume exactement mésuré de solution de NaOH 0.1N, de facteur bien connu, pendant 2h, à température ambiante; finalement nous avons fait la titration

d'excès de NaOH avec une solution de H_2SO_4 (0.1N). Le taux de groupements carboxiliques ainsi déterminé est de $5.26 \cdot 10^{-4}$/ moles -COOH/g.

Réaction d'esterification du metronidazole sur le copolymère support

Dans un flacon, le medicament a été dissous dans un volume de THF en conformité avec le programme expérimental. Ensuite, nous avons introduit 0.2g de copolymère, en agitant jusqu'à sa solubilisation complète. L'étape suivante, moment „zero" de la réaction, consiste à ajouter la quantité de diciclohexyle carbodiimide (DCCI), en conformité avec le programme experimental. La réaction se déroule sous agitation pendant 24h (durée équivalente pour toutes les synthèses) à la temperature ambiante (20±1ºC). Le produit est précipité avec de l'eau acidulée, puis filtré. Ultérieurement, le precipité est redissout dans 100ml d'un mélange éthanol-eau (rapport volumique 1.25). Nous réprecipitons ensuite avec de l'eau, nous filtrons et nous lavons sur filtre jusqu'a obtenir un pH neutre. Enfin, le produit est séché sous vide à 40ºC.

Analyse des produits de couplage

Le dosage de la quantité de metronidazole imobilisée a été réalisé par la détérmination du taux d'azote du produit de réaction par la méthode Kjeldahl. Le taux d'azote est évalué à l'aide de la relation suivante :

$$N\% = \frac{V_1 f_1 - V_2 f_2 * 0.000466}{a} * 100 \qquad (1)$$

où: V_1- volume de H_2SO_4 (n/30)
V_2- volume de NaOH (n/30)
f_1- facteur de la solution de H_2SO_4
f_2- facteur de la solution de NaOH
a- quantité de produit de couplage analysée (g)

Des recherches préliminaires ont mis en évidence que le rendement de la réaction de couplage dépend de plusieurs paramètres :
- rapport molaire médicament/support (X_1)
- rapport molaire activateur/support (X_2)
- volume de THF (X_3)

Afin de corréler le taux de metronidazole lié dans le produit de couplage avec les paramètres de la réaction, nous avons proposé une équation du type :

$$y = a_0 + \sum a_i X_i + \sum a_{ij} X_i X_j; \quad i \leq j \qquad (2)$$

où: y- propriété mesurée (pourcentage du médicament couplé)
X_i, X_j –variables indépendantes (paramètres considérés)
a_0, a_i, a_{ij} –coefficients de régression

Pour obtenir les valeurs des coefficients de régression, il est nécessaire de réaliser un grand nombre d'expériences. Il est possible de les réduire en utilisant le programme expérimental composé, centré, de deuxième ordre.
La codification des variables est présentée dans le tableau 1.

Tableau 1. La codification des variables

Variable réelle	Variable codifiée				
	-1.68	**-1**	**0**	**1**	**1.68**
Rapport MN/PAcA-MMA(mol/mol –COOH), X_1	1.1	1.26	1.5	1.74	1.9
Rapport DCCI/PacA-MMA(mol/mol –COOH), X_2	1.1	1.26	1.5	1.74	1.9
Volume de solvant (ml), X_3	10	18.1	30	41.9	50

Le tableau 2 présenté le programme expérimental et les résultats obtenus.
L'équation de régression obtenu finalement a la forme suivante :

$$Y= 14,55 + 2,39\ X_1 + 2,14\ X_2 – 1,31\ X_3 + 0,4\ X_1X_2 + 0,045\ X_1X_3 + 0,085\ X_2\ X_3 +1,36\ X_1^2 + 1,17\ X_2^2 +0,23\ X_3^2 \quad (3)$$

Tableau 2. Le programme expérimental et les résultats obtenus

Nr. crt.	**Variable codifiée**			**Contenu de MN dans le produit de couplage (%)**	
	X_1	**X_2**	**X_3**	**expérimental**	**calculé**
1	-1	-1	-1	17.01	16.81
2	1	-1	-1	17.89	17.71
3	-1	1	-1	18.74	18.74
4	1	1	-1	21.8	21.6
4	-1	-1	1	15.33	13.93
6	1	-1	1	16.21	15.36
7	-1	1	1	17.3	15.55
8	1	1	1	19.39	19.24
9	-1.682	0	0	15.33	11.6
10	1.682	0	0	25.14	25.23
11	0	-1.682	0	13.5	12.15
12	0	1.682	0	23.59	23.54
13	0	0	-1.682	16.94	16.94
14	0	0	1.682	13.5	13.1
15	0	0	0	14.6	14.6
16	0	0	0	14.51	14.46
17	0	0	0	14.49	14.49
18	0	0	0	14.46	14.44
19	0	0	0	14.44	14.58
20	0	0	0	14.58	14.76

Par la comparaison des valeurs théoriques et expérimentales du taux de MN chimiquement liés dans les produits de réaction, nous avons constaté une bonne concordance prouvant par là même que l'équation (1) représente un bon modèle mathématique pour le processus. Nous constatons également qu'il y a une valeur élevée du coefficient de corrélation multiple.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

Le copolymère PMMA-AcA a été caracterisé du point de vue spectral par IR et RMN. Dans le spectre IR nous avons mis en évidence la présence de bandes d'absorption à 1710 cm^{-1} (attribuée aux groupements –COOH), 1435 et 1355 cm^{-1} (attribuées aux groupements $–COOCH_3$), ainsi qu'à 2962 et 2853 cm^{-1} (attribuées respectivement aux groupements $–CH_3$ et $–CH_2$-).
Le spectre RMN présenté dans la figure 1 atteste également de l'obtention du copolymère et permet de déterminer le taux des groupements carboxyliques. Le résultat est en concordance avec celui obtenu par le dosage chimique des groupements –COOH ($2,63x10^{-3}$ mol -COOH/g copol).
La réaction de couplage pour MN sur PMMA-AcA se déroule conformément au schéma présenté dans la figure 2.

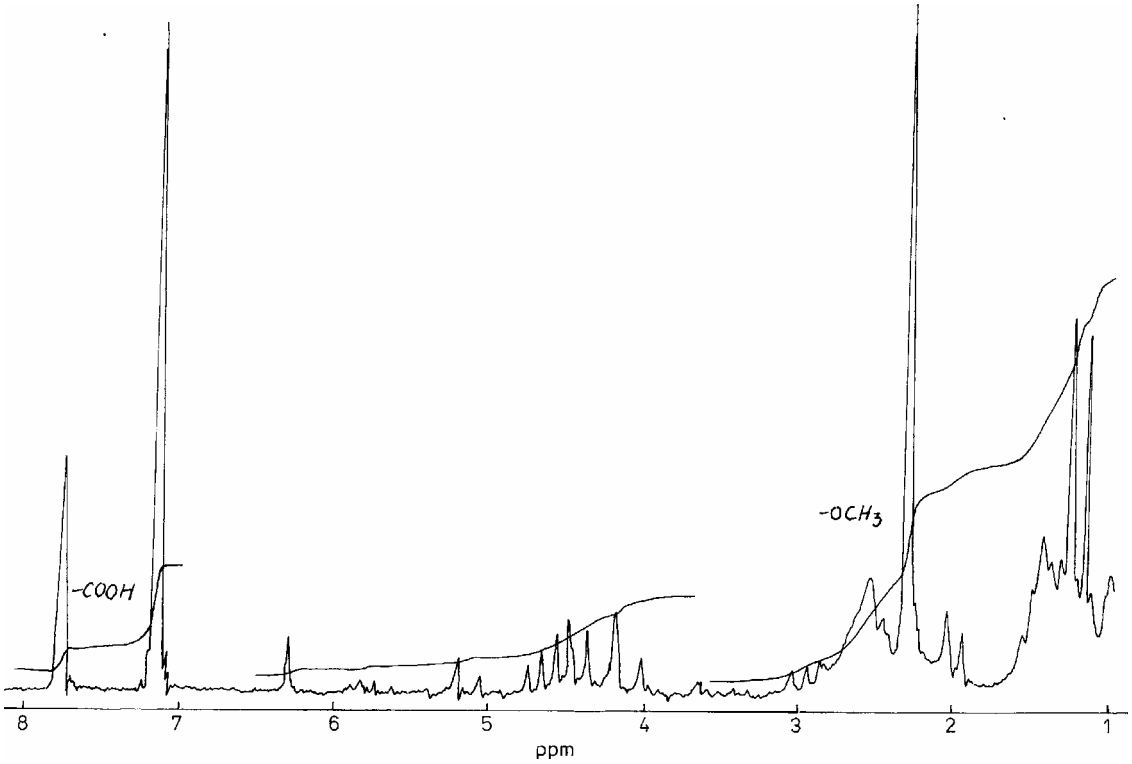

Figure 1- Spectre RMN pour le PMMA-AcA

La liaison chimique du médicament avec le support est prouvée par le spectre IR, qui atteste de la présence du produit de couplage par l'existence de groupements fonctionnels caractéristiques du composé synthétisé (par exemple, la bande d'absorption à 1560 cm^{-1} attribuée aux groupements $–NO_2$) près des bandes d'absorption spécifiques du copolymère, comme cela a déjà été précisé.
La réaction de couplage du MN sur PMMA-AcA est influencée par plusieurs paramètres, l'efficacité de la réaction étant exprimée par le taux de médicament dans les produits de couplage.

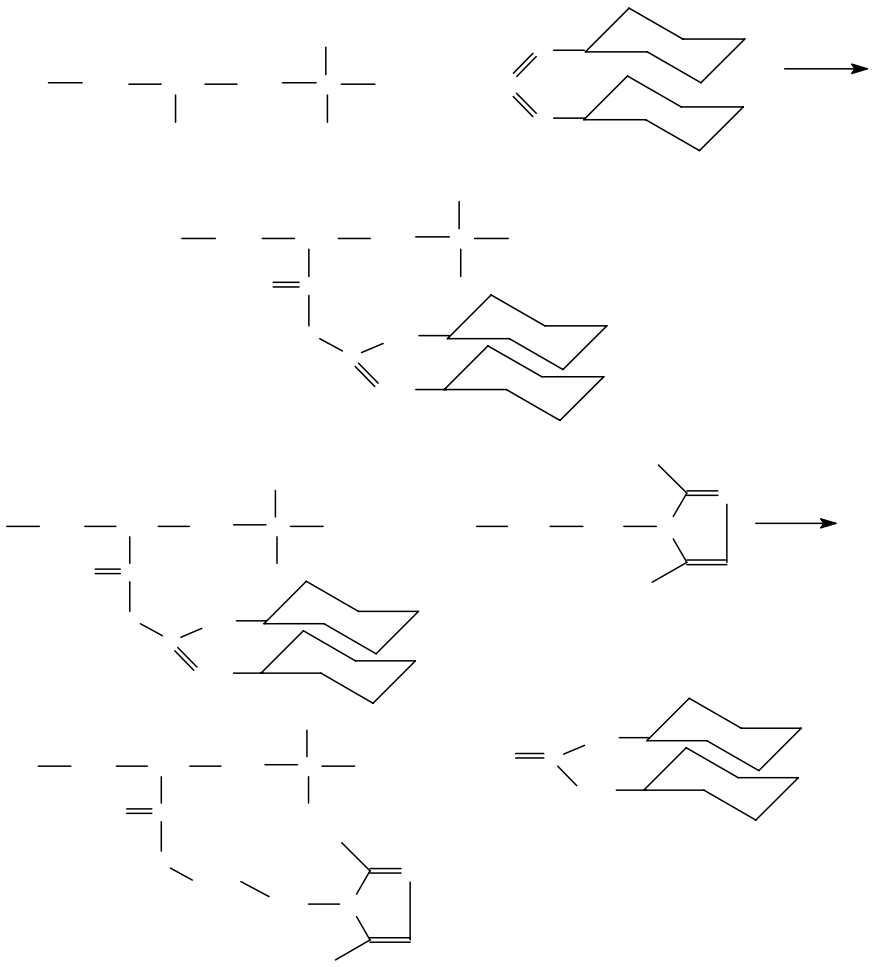

Figure 2- Réaction de couplage de MN sur PMMA-AcA

Influence du rapport MN/support

Le rendement de la reaction de couplage est influencé par le rapport MN/ support en conformité avec la figure 4.
Nous avons constaté qu'avec l'augmentation de la quantité de MN dans le mélange de réaction, le taux de médicament lié chimiquement au support augmente. L'effet est normal parce que, la réaction se déroulant dans un système homogène, elle est évidemment influencée favorablement par l'augmentation de la concentration des réactants. Bien que l'excès de MN soit élevé (1,9 mol/mol COOH), le taux de MN dans le produit de couplage n'est pas très élevé, indiquant une réactivité réduite des groupements carboxyliques du support, probablement grâce aux encombrements stériques qui se manifestent dans celui-ci. Après la réaction de certains groupements carboxyliques, l'accès de l'activateur et du médicament aux autres, est limité du fait de l'encombrement stérique et du volume molaire élevé des composants.

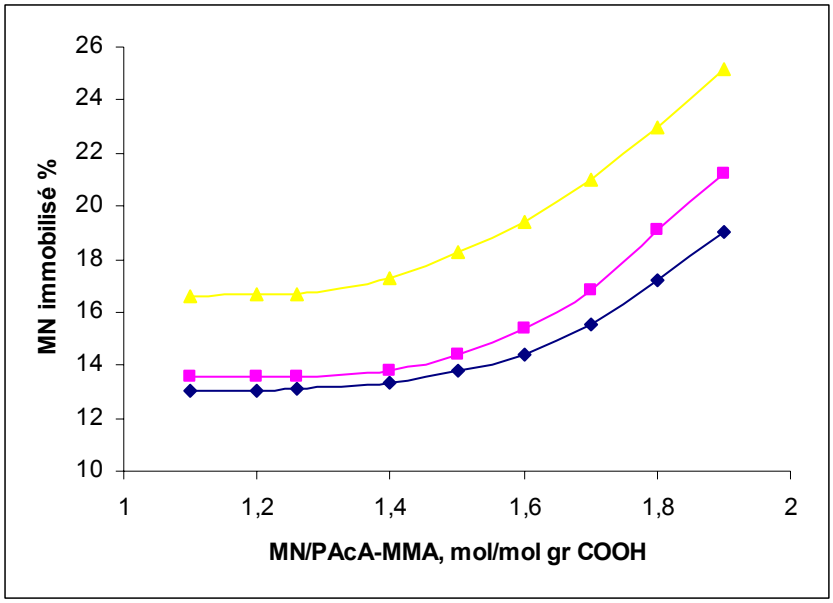

Figure 4. Variation du taux de MN dans le produit de couplage avec le rapport médicament/support. 1 – DCCI/PMMA-AcA = 1,26 mol/mol ; 2 – 1,5 ; 3 – 1,74 ; V_{THF} = 30 ml

Influence du rapport DCCI/ support

Le rapport DCCI/support influence de manière équivalente l'efficacité de la réaction. Nous constatons ainsi une augmentation continue du rendement de la réaction avec l'augmentation du rapport DCCI/support.

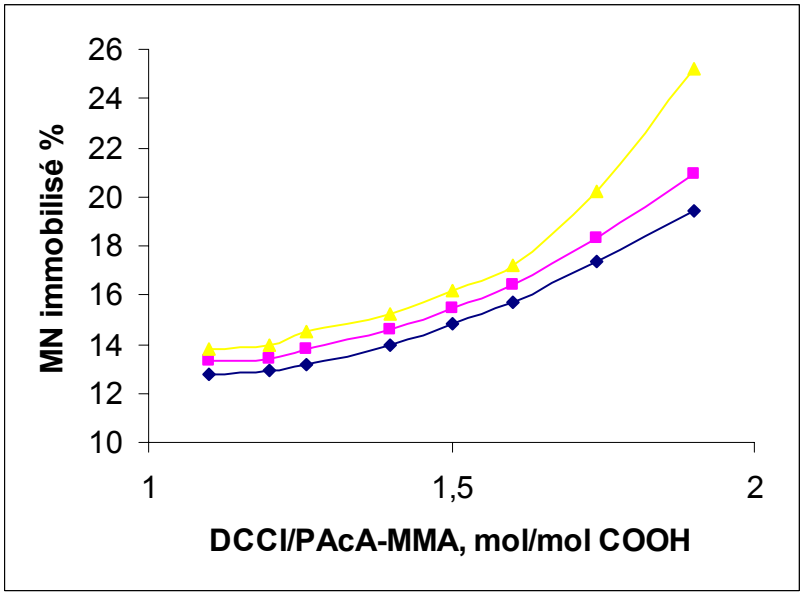

Figure 5. Variation du taux de MN dans le produit de couplage avec le rapport activateur/support. 1 – MN/PMMA-AcA = 1,26 mol/mol ; 2 – 1,5 ; 3 – 1,74 ; V_{THF} = 30 ml

Influence du volume de THF

Du fait que la réaction se déroule dans un système homogène, l'efficacité du couplage augmente avec la diminution du volume de THF. Cet effet peut être expliqué par l'augmentation de la concentration des réactants dans le milieu réactionnel.

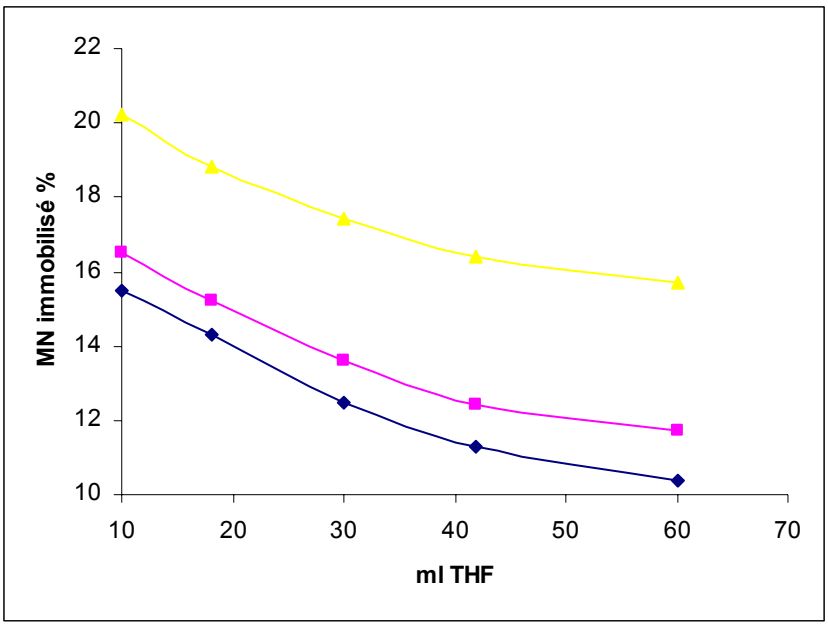

Figure 6. Variation du taux de MN dans le produit de couplage avec le volume du solvant. 1 – MN/PMMA-AcA = 1,26 mol/mol ; 2 – 1,5 ; 3 – 1,74 ; DCCI/PMMA-AcA = 1,5 mol/mol

Des conclusions similaires peuvent être obtenues par l'analyse des surfaces de réponse dans un espace tridimensionnel, par exemple en fonction du rapport DCCI/PMMA-AcA et du volume de solvant (figure. 7).
Nous constatons que l'efficacité la plus élevée pour la réaction de couplage est atteinte si de faibles volumes de solvant et des rapports élevés médicament/support sont utilisés.
Par exemple, un taux de MN dans le produit de réaction d'environ 30 % peut être obtenu dans les conditions de réaction suivantes:

- rapport MN/support=1.9 mol/mol COOH
- rapport DCCI/support=1.9 mol/mol COOH
- volume THF=10 ml,

Pour le produit avec ce taux de MN nous avons étudié la cinétique du processus de libération, dans les conditions d'hydrolyse basique et acide.
Dans le cas de l'hydrolyse basique, la libération du MN est pratiquement totale après 6 heures (figure. 8). Donc, la libération du métronidazole dans le tube digestif de l'organisme humain a lieu avec une vitesse constante prouvant ainsi son caractère retard.
La libération du métronidazole a été étudié dans un milieu acide, ou nous constatons que le processus est plus rapide (figure 9).

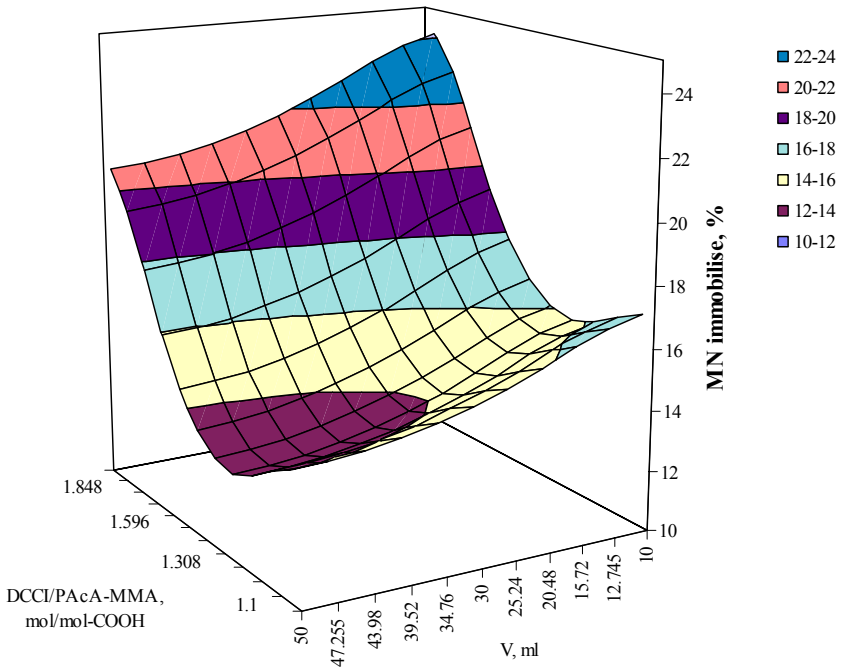

Figure 7. Surfaces de réponse en espace tridimensionnel, en fonction du rapport DCCI/PMMA-AcA et du volume de solvant

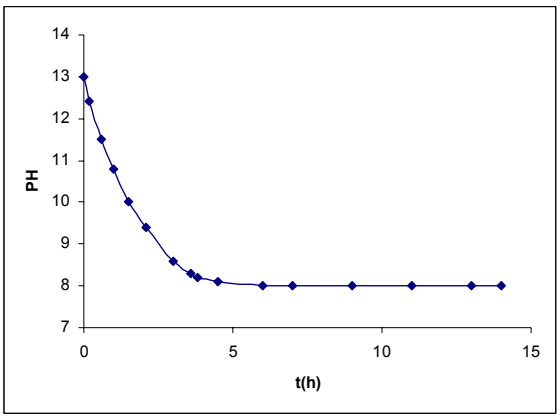

Figure 8. Variation du pH en fonction du temps pour l'hydrolyse basique d'un produit de couplage avec un taux de Mn de 30 % (T=37±1^{0}C)

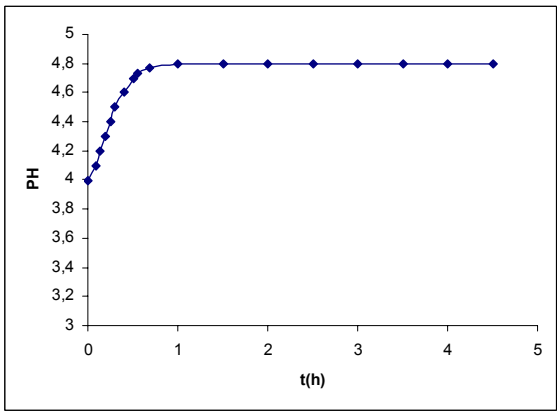

Figure 9. Variation du pH en fonction du temps pour l'hydrolyse acide d'un produit de couplage avec un taux de Mn de 30 % (T=37±1^{0}C)

CONCLUSIONS

1. Le poly(méthyle méthacrylate-co-acide acrylique) peut être utilisé comme support pour l'immobilisation du métronidazole par des liaisons esters, en présence de la dicyclohexyle carbodiimide comme activateur.

2. La réaction du couplage est influencée favorablement par l'augmentation de la quantité du métronidazole et de l'activateur dans le substrat de réaction, et par la diminution du volume du solvant. Tous ces paramètres ont pour effet l'augmentation de la concentration du médicament dans le système, avec des conséquences favorables sur la réaction d'estérification.
3. Le métronidazole peut être libéré des produits de couplage par l'hydrolyse acide ou basique, qui simule les conditions du tube gastro-intestinal.

BIBLIOGRAPHIE

1. Keilman, K.: *Therapeutic systems,* Stuttgart: Georg Thieme, **1984**.
2. Vergnaud, J. M. : *Controlled drug release of oral dosage forms*, New York, Ellis Horwood, **1993**.
3. Higuchi, T.: *U.S. Patent*, 2, 760, 805, **1973**.
4. Bayne, W. F., Place, V. A., Theenwes, F.: *Pharmacologist*, **1981**, 23, 203.
5. Feijen, J.: XIV *Meet of French Polymer Group*, Rouen, November, **1984**.
6. Dumitriu, S., Popa, M., Dumitriu M., Pandele, T. : *J. Bioact. Compat. Polym*., **1990**, 5, 301.
7. Popa, M., Sunel, V., Rusu-Balaita, L. : *J. Biomat. Appl.,* acceptée pour publication en **2003**.
8. Popa, M., Sunel, V., Rusu-Balaita, L. : *Molecules*, **2003**, 8, 297.
9. Popa, M., Sunel, V., Rusu-Balaita, L., Basu, C. :*Eurasian Chem. Tech. J.*, acceptée pour publication en **2003**.
10. Popa, M., Sunel, V., Rusu-Balaita, L., Timofte R. S. :*Proccedings 2eme Colloque Franco- Roumaine de Chimie Appliquée* 11-12 octobre **2002,** Bacau, 61-64.

Received: 07.28.2003