

Studies of Toxicokinetics and biodistribution of dendrimers of the fifth generation

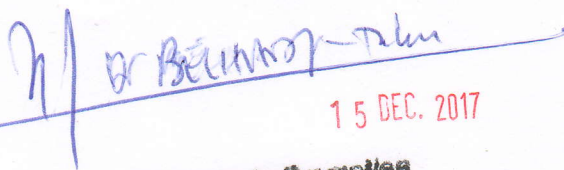
BELHADJ-TAHAR, Clément FAYE, Thomas REGNIER, Laurent GARRELLY, Bertrand NASSAR et Yvon COULAIS

In situ targeted therapy is indicated for inoperable or resistant to conventional treatments advanced tumors. In this domain, the use of dendrimers as supravecteurs antimitotic agents seems promising. However, the safety for human health and the environment of these macromolecules is a prerequisite for their introduction in humans. We have recently begun work to pharmacology and toxicology of potential anticancer agents in situ from poly-lysine dendrimers combined with the metal complexes. In this letter, we show that the preliminary results of our studies of toxicology and toxicokinetics on a poly-lysine dendrimer fifth generation ($n = 5$, Mw: 172 300 g).

G5 dendrimer solution (6 mM) was labeled with technetium-99m by ligand substitution method (carbonyl \rightarrow lysine). The radiochemical purity was verified by thin layer chromatography (TLC-C18) coupled to a radioactivity detector (Raytest MiniGITA). Then labeled dendrimers were injected by directly intravenously to a batch of male Wistar rats (previously anesthetized and placed under observation) to achieve the toxicokinetic studies and biodistribution. Similarly, the biological behavior relative to the elements depicted and blood plasma proteins was studied.

There are no precipitation of product and no thrombus formation in the injection site. More it was not observed respiratory signs after administration of Boulus this product (1000 mg / L). The liver appears to be the prime target of G5 dendrimers, followed by pulmonary and renal parenchyma. Unlike to retention liver constant (4.74% ID / g), pulmonary localization is transient with constant clearance $\lambda = 0.57 \text{ h}^{-1}$ ($T_{1/2} = 1.2 \text{ h}$). Its elimination is mainly renal estimated at 3.3 h of plasma half-life. Other organs (including heart, brain) and the muscles are not sites of accumulation of this product.

We have developed a robust method for marking poly-lysine dendrimers with technetium-99m with a rate of radiochemical yield $> 99\%$. The kinetics and tissue distribution of the compound have been studied. Preliminary results of the toxicological work in favor of the safety of this macromolecule, probably in connection with his stealth and non-immunogenic nature already described by B. Romestand. Therefore, these G5 dendrimers seem well tolerated in vivo (in a concentration of 1000mg / L) and can be considered as potential supravecteurs for targeted therapy.



15 DEC. 2017

Association Française de Promotion
de la Recherche Médicale (AFPreMed)
9, rue de Prof. Antoine Baisset
31100 TOULOUSE
Tél. 06 23 77 32 77 - Fax 05 62 14 18 75
Association loi 1901 - JO du 3 novembre 2007
N° SIRET 504 439 712 00010



Etudes de Toxicocinétique et de biodistribution de dendrimères de cinquième génération

Hafid BELHADJ-TAHAR¹, Clément FAYE², Thomas REGNIER², Laurent GARRELLY², Bertrand NASSAR¹ et Yvon COULAIS¹



1- Recherche & Expertise Toxicologiques (AFPreMed), 31100 Toulouse ;
2- COLCOM, Cap Alpha, Avenue de l'Europe - Clapiers, 34940 Montpellier

Correspondance : contact@afpremed.org



I- Introduction

La thérapie ciblée *In situ* est particulièrement indiquée pour les tumeurs évoluées non opérables ou résistantes aux traitements conventionnels. Dans ce domaine, l'utilisation de dendrimères comme supravecteurs des agents antimittotiques semble prometteuse. Cependant, l'innocuité pour la santé humaine et l'environnement de ces macromolécules est une condition préalable pour leur introduction chez l'homme. Nous avons récemment initié des travaux de toxicologie et pharmacologie des agents anticancéreux *In situ* potentiels à partir de dendrimères poly-lysines combinés à des complexes métalliques. Dans cet abstract, nous rapportons les résultats préliminaires de nos études de toxicologie et toxicocinétique concernant un dendrimère poly-lysine de cinquième génération (n=5 ; PM : 172 300 g).

II- Méthodes

Une solution de dendrimère G₅ (6 mM) a été marquée avec du technétium-99m par méthode de substitution de ligands (carbonyle → lysine) (Fig1). La pureté radiochimique a été contrôlée par chromatographie sur couche mince (CCM-C₁₈) couplée à un détecteur de radioactivité (Raytest MiniGITA). Puis les dendrimères ainsi marqués ont été injectés par voie intraveineuse directe à un lot de rats Wistar mâles (préalablement anesthésiés et mis sous observation) pour réaliser les études de toxicocinétique et de biodistribution. De même, le comportement biologique vis-à-vis des éléments figurés sanguins et des protéines plasmatiques a été étudié.

III- Résultats et Discussion

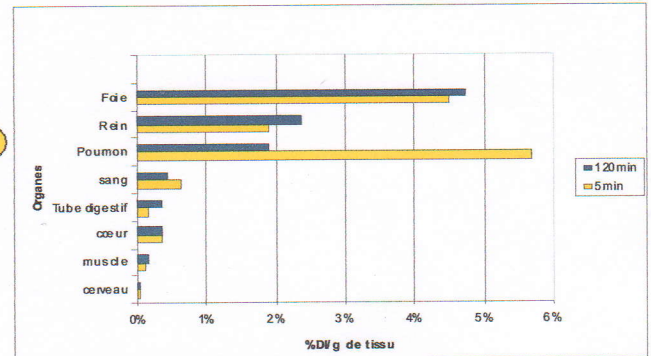
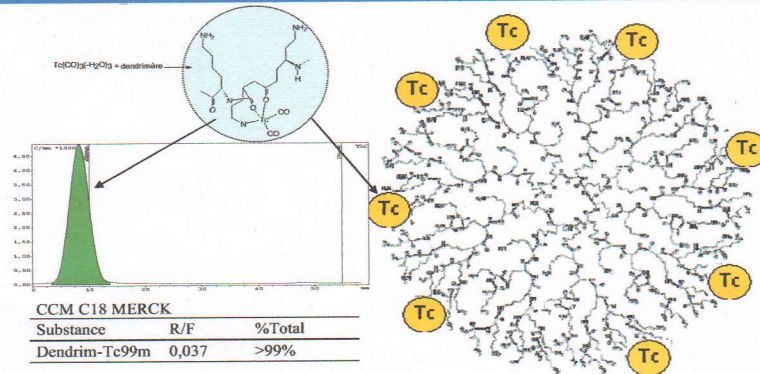


Fig 1. Marquage au ^{99m}Tc et caractérisation de dendrimère G₅

Fig 2. Distribution tissulaire de ^{99m}Tc-dendrimer G₅

Il n'y a pas de précipitation de ce produit ni de formation de thrombus sur le site d'injection. De même il n'a pas été observé de signes respiratoires après administration de boules de ce produit (1000 mg/L). Le foie semble être la cible privilégiée des dendrimères G₅, suivi par les parenchymes pulmonaire et rénal. Contrairement à la rétention hépatique constante (4,74 %DI/g), la localisation pulmonaire est transitoire avec une constante de clairance $\lambda=0,57h^{-1}$ (T_{1/2} : 1,2h). Son élimination est principalement rénale de demi-vie plasmatique estimée à 3,3h. Les autres viscères (notamment cœur, cerveau) et les muscles ne représentent pas des sites d'accumulation de ce produit.

IV- Conclusion

Nous avons mis au point une méthode robuste de marquage des dendrimères poly-lysines au technétium-99m avec un taux de rendement radiochimique >99%. La cinétique et la distribution tissulaire du composé ont été étudiées. Ces résultats préliminaires ont montré l'innocuité de cette macromolécule en relation probablement avec son caractère furtif et non immunogène déjà décrit par B. Romestand [1]. D'autres études en mode chronique et répété sont en cours. Par conséquent, ces dendrimères G₅ semblent être bien tolérés *In vivo* (à la concentration de 1000mg/L) et peuvent être considérés comme des supravecteurs potentiels pour la thérapie ciblée.

1. B. Romestand et Coll. Dendrigrapt Poly-L-lysine: A Non-Immunogenic Synthetic Carrier for Antibody Production *Biomacromolecules* 2010, 11, 1169-1173.



8èmes Journées Cancéropôle Grand Sud Ouest
Montpellier du 10-12 octobre 2012

