

E.N.S.S.I.B.
ÉCOLE NATIONALE SUPÉRIEURE
DES SCIENCES DE L'INFORMATION
ET DES BIBLIOTHÈQUES

UNIVERSITÉ
CLAUDE BERNARD
LYON I

DESS en INFORMATIQUE DOCUMENTAIRE

RAPPORT DE RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE

Applications cliniques de l'acide polylactique -
Reconnaissance cellulaire par des
polymères et copolymères greffés de l'acide lactique

Patricia RIVOIRE

Sous la direction de Mme PARROT LOPEZ
Université Claude Bernard, Lyon I



Année 1996-1997

1997
11)
26

E.N.S.S.I.B.
**ÉCOLE NATIONALE SUPÉRIEURE
DES SCIENCES DE L'INFORMATION
ET DES BIBLIOTHÈQUES**

**UNIVERSITÉ
CLAUDE BERNARD
LYON I**

DESS en INFORMATIQUE DOCUMENTAIRE

RAPPORT DE RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE

**Applications cliniques de l'acide polylactique -
Reconnaissance cellulaire par des
polymères et copolymères greffés de l'acide lactique**

Patricia RIVOIRE

Sous la direction de Mme PARROT LOPEZ
Université Claude Bernard, Lyon I

Année 1996-1997

1997
17)
26

Applications cliniques de l'acide polylactique -
Reconnaissance cellulaire par des
polymères et copolymères greffés de l'acide lactique

Patricia RIVOIRE

RÉSUMÉ :

Ce rapport présente la méthodologie employée et les résultats obtenus lors d'une recherche bibliographique de publications et de brevets principalement, décrivant d'une part les applications cliniques de l'acide polylactique et d'autre part les différentes méthodes ayant permis de greffer des antennes sur les polymères ou copolymères de l'acide lactique.

DESCRIPTEURS :

Polymère biodégradable
Microsphère
Nanosphère
Acide polylactique
Applications cliniques
Copolymère
Greffage
Reconnaissance cellulaire

ABSTRACT

This report deals with the method employed and the results obtained during a bibliographical research about the clinical applications of polylactic acid and the ways of grafting anchors on the polymers or copolymers of lactic acid.

DESCRIPTORS

Biodegradable polymer
Microsphere
Nanosphere
Polylactic acid
Clinical applications
Copolymer
Grafting
Cell attachment

SOMMAIRE

Introduction.....	p. 6
-------------------	------

PREMIERE PARTIE : MÉTHODOLOGIE

Analyse du sujet.....	p. 7
<i>I - Recherche manuelle.....</i>	<i>p. 7</i>
I.1 - Dictionnaires, ouvrages et index.....	p. 8
I.2 - chemical Abstracts.....	p. 8
<i>II - Recherche sur Internet.....</i>	<i>p. 12</i>
II.1 - Interrogation de la base Medline.....	p. 12
II.2 - Interrogation de la base Uncover.....	p. 15
II.3 - Interrogation de la base NetFire.....	p. 17
II.4 - Interrogation de la base de brevets du serveur d'IBM.....	p. 18
<i>III- Interrogation en ligne du serveur DIALOG.....</i>	<i>p. 19</i>
III.1 - Choix des bases.....	p. 19
III.2 - Interrogation de CA Search.....	p. 20
III.3 - Interrogation de Polymer Online.....	p. 22
<i>IV - Interrogation du logiciel WINSPIRS.....</i>	<i>p. 24</i>
<i>V - Recherche sur le CD-ROM DOC THÈSES.....</i>	<i>p. 25</i>
<i>VI - Compléments à la recherche.....</i>	<i>p. 25</i>
VI.1 - Les Current Contents.....	p. 25
VI.2 - Les références des publications.....	p. 26
<i>VII- Synthèse des résultats et conclusion.....</i>	<i>p. 27</i>

DEUXIEME PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

<i>I - Présentation de l'Acide PolyLactique.....</i>	<i>p. 28</i>
II.1 - Introduction.....	p. 28
II.2 - Propriétés du PLA.....	p. 28
II.3 - Méthodes d'analyse du PLA.....	p. 29
 <i>II - Applications cliniques de l'Acide PolyLactique.....</i>	 <i>p. 30</i>
II.1 - Applications à la chirurgie.....	p. 30
II.1.1 - Réalisation d'outils aidant à la réparation de fractures.....	p. 30
II.1.2 - Réalisation d'outils à texture fibreuse.....	p. 30
II.1.3 - Réalisation de seringues.....	p. 31
II.1.4 - Réalisation de matrices permettant la régénération de tissus.....	p. 31
II.1.5 - Limites du PLA en chirurgie.....	p. 32
II.2 - Applications en pharmacologie : Systèmes à libération contrôlée.....	p. 32
II.2.1 - Introduction.....	p. 32
II.2.2 - Polymères couramment utilisés.....	p. 33
II.2.3 - Applications pratiques des systèmes à libération contrôlée.....	p. 34
II.2.4 - Limites de l'utilisation des polyesters biodégradables.....	p. 35
II.2.5 - Méthodes de caractérisation des sphères.....	p. 35
II.3 - Méthodes de greffage d'antennes sur l'acide polylactique.....	p.36
II.2.1 - Synthèses de polymères d'acide lactique introduisant des groupes fonctionnels en bout de chaîne.....	p. 36
II.2.2 - Synthèses de copolymères d'acide lactique introduisant des groupes fonctionnels.....	p. 38
II.2.3 - Méthodes ne faisant pas intervenir de liaisons covalentes entre le polymère et les antennes.....	p. 39
II.2.4 - Conclusion.....	p. 40

TROISIEME PARTIE: RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

<i>I - Présentation.....</i>	<i>p. 41</i>
<i>II - Classement.....</i>	<i>p. 41</i>
<i>III - Bibliographie.....</i>	<i>p. 42</i>

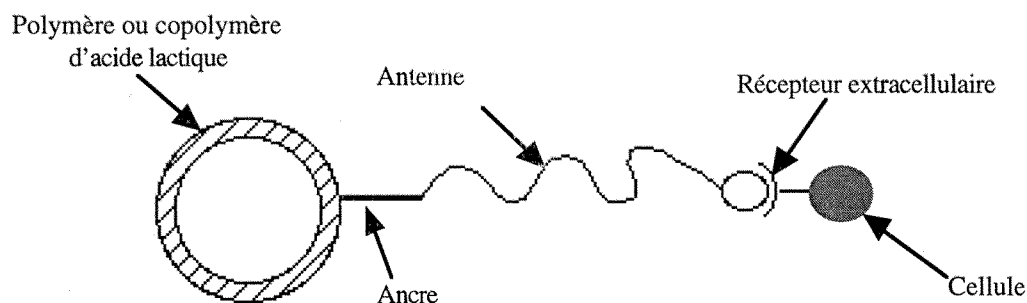
Je tiens à remercier Mme Parrot Lopez pour son aimable diponibilité, son aide pour la compréhension de certaines publications ainsi que pour le choix de ce sujet très motivant et instructif.

Je remercie aussi Rima à qui j'adresse tous mes vœux de réussite pour sa thèse.

INTRODUCTION

L'acide polylactique (PLA) est un polymère synthétique, biodégradable, non toxique et parfaitement caractérisé. Il a, de ce fait, trouvé de nombreuses applications dont les plus importantes se situent dans le domaine de la médecine. Le PLA a commencé à intéresser les chercheurs dans les années 70 et déjà, des implants, des microsphères pour la libération prolongée de médicaments ont été commercialisés ou sont en cours de développement.

Cependant, de par sa structure, il ne possède pas d'ancres sur lesquelles greffer des antennes afin de cibler son action sur une cellule particulière (voir figure ci-dessous). Trouver un moyen de greffer des ancres au PLA par l'intermédiaire de ces copolymères, permettrait au PLA de continuer son développement spectaculaire.



Reconnaissance cellulaire par des polymères ou copolymères greffés

PREMIÈRE PARTIE:

MÉTHODOLOGIE

ANALYSE DU SUJET

Un premier entretien avec Mme Parrot Lopez, dans le but de définir précisément le sujet, a permis de décider que ce dernier devait être divisé en deux grandes parties:

⇒ une première partie traitant d'un sujet assez général, consistant à rechercher toutes les *applications cliniques de l'acide polylactique*;

⇒ une deuxième, beaucoup plus spécifique, concernant *les greffages ayant été effectués sur l'acide polylactique et ces copolymères*.

Ces deux parties étant très différentes - il existe certainement une profusion d'informations sur la première et extrêmement peu sur la deuxième -, la méthode utilisée pour les interrogations devra, elle aussi, être différente.

De plus, ce sujet traitant de modifications *chimiques* d'un polymère utilisé principalement dans le domaine *médical*, les informations pourront se trouver aussi bien dans les bases utilisées en médecine que dans celles utilisées en chimie.

On peut alors proposer quelques mots-clés prenant en compte les deux parties permettant de débiter la recherche:

acide polylactique - Applications cliniques - nanoparticules - microsphères - polymère biodégradable - acides aminés - peptides - glycosides.

Ce sujet se situe dans un cadre un peu particulier puisqu'il traite d'un polymère sur lequel le laboratoire de Mme Parrot Lopez travaille depuis peu. Très peu de bibliographie existe donc à ce sujet au sein du laboratoire. Malgré la précision de l'énoncé du sujet, il est possible que certaines références, apparemment hors sujet, puissent être intéressantes (telles des méthodes d'analyse ou des propriétés physiques du PLA). De plus, seules les références vraiment utiles et apportant quelque chose de nouveau seront relevées, afin de ne pas surcharger de bibliographie le laboratoire.

I - RECHERCHE MANUELLE

Avant de commencer la recherche bibliographique proprement dite, une recherche manuelle s'est avérée nécessaire, afin de se familiariser avec le sujet et de avec le vocabulaire utilisé par les spécialistes. Elle a en effet permis de mieux cerner l'optique du sujet, le cadre dans lequel il se situe: on est ainsi plus apte à juger de la pertinence ou non d'une référence.

I.1 - Dictionnaires, ouvrages et index

La bibliothèque universitaire de Lyon 1 possède une quantité importante d'informations dans le domaine de la chimie.

Trois types d'ouvrages, localisés par interrogation du catalogue informatisé de la bibliothèque, ont été consultés:

⇒ ceux ayant permis de se documenter sur les polymères en général

Ces derniers ont permis de bien "s'imprégner" du vocabulaire spécifique (copolymère block, ABAttriblock...) et de faire le point sur les propriétés physiques utiles à ces composés (cristallinité, masses moléculaires, thermoplasticité...)

⇒ ceux mentionnant l'acide polylactique en particulier

(*Encyclopaedia of polymer Science and Engineering, ACS Symposium Series*). Les informations trouvées dans ce cas se sont révélées beaucoup plus pointues. Elles ont néanmoins permis de se faire une première idée de l'importance du polymère de l'acide lactique, de ses applications, du travail effectué.

⇒ ceux enfin, mentionnant les polymères biodégradables et leur utilisation comme sphère à libération contrôlée (*Encyclopaedia of polymer Science and Engineering, Polymeric Drugs & drug delivery Systems - ACS Symposium Series 469, 1990*).

Les dictionnaires et index comme le *Merx Index* et le *Dictionary of Chemical Names & Synonyms*, n'ont pas permis de trouver d'informations sur l'acide polylactique. Il n'y est pas répertorié. Nous y avons cependant trouvé

- le nom 'officiel' du monomère, l'acide lactique: **l'hydroxy propanoïc acid** dont il existe une configuration D et une configuration L.

- l'existence de son dimère cyclique répertorié sous le nom **lactide** ou **dilactide**.

Seul le *Dictionary of Organic Compounds (Fifth Edition)* nous a apporté une information spécifique à l'acide: son Registry Number (numéro de classement d'une molécule dans Chemical Abstracts): **26000-51-6**.

I.2 - Chemical Abstracts

⇒ Présentation

The American Chemical Society publie, chaque semaine, un fascicule de la revue *Chemical Abstracts*. chaque fascicule contient environ 9 000 notices extraites de la littérature chimique mondiale, ainsi que celle des sciences annexes (biologie, médecine, physique, géologie...). Ces notices sont préparées par 1 200 personnes à partir d'articles de périodiques, de communications faites à un congrès, d'ouvrages, de rapports techniques, de brevets, de thèses.

Les notices tirées d'articles de périodiques sont de loin les plus nombreuses; il est utile de présenter leur structure:

Numéro du volume de Chemical Abstracts : Numéro de la notice.
Titre de l'article. Auteurs (nom, initiale du prénom). Affiliation du 1er auteur. *Titre du périodique en italique*, abrégé suivant la norme ISO 833 (1974). **Année de publication en caractère gras**, Numéro de volume et entre parenthèses numéro du fascicule, Pages extrêmes de l'article, (Abréviation indiquant la langue de l'article entre parenthèses).
Texte du résumé. Numéro de registre CAS pour la substance en question.

Beaucoup de notices de brevets ont aussi été sélectionnées durant la recherche, la connaissance de leur structure a facilité leur lecture:

Numéro du volume de Chemical Abstracts : Numéro de la notice.
Titre du brevet. Nom, prénoms des inventeurs ou personnes ou associations à qui les droits du brevet sont concédés, (Nom du cessionnaire) Pays d'origine du brevet suivi du numéro d'enregistrement, à noter si l'on souhaite obtenir une reproduction du document auprès du dépositaire de brevets (Numéro de brevet dans le classification internationale des brevets (I.P.C.)), Date de publication, Autre pays d'application + numéro et date d'application dans le pays, Nombre de pages, Mention d'un brevet équivalent (famille de brevets).
Résumé. Numéro de registre CAS pour les substances intervenantes.

Les thèses et les ouvrages ne contiennent pas de résumé, ils sont simplement signalés.

⇒ Méthode générale de recherche dans Chemical Abstracts

Les articles traitant d'un sujet précis peuvent être localisés à l'aide de plusieurs index (chacun couvre une période de 5 ans):

- Key-Word Index
- Patent Index
- General Subject Index
- Chemical Substance Index
- formula Index
- Index of Ring Systems
- Author Index
- Index Guide (thésaurus)

Le premier index à consulter dépend du type de recherche à effectuer. Dans un cas comme le notre, où une molécule possède un nom générique (acide polylactique) et non celui de la nomenclature, l'*Index guide* est très important puisqu'il indique:

- le nom sous lequel la molécule est indexée
- son 'Registry Number' (numéro d'indexation en trois parties, classé par type de produit, propre à une molécule, attribué par Chemical Abstracts et utilisé dans d'autres ouvrages, tel que les Merck index, le dictionary of organic compounds ou Index Medicus)
- les termes synonymes.

On a ensuite consulté le *chemical Substance index* où les références des articles traitant d'une molécule donnée sont indexées.

On peut ensuite aller consulter celles-ci dans les volumes semestriels (ou hebdomadaires pour les plus récents) où elles sont présentées de manière bibliographique comme présenté précédemment.

⇒ Recherche effectuée

Les recherches ont été effectuées sur les années 1992 à 1994.

L'index Guide ne nous a malheureusement pas permis de trouver les informations espérées. Le fait que la molécule recherchée soit un polymère, explique ce traitement particulier; il faut consulter l'index au nom du monomère et se référer à la rubrique *polymérisation*.

L'acide lactique indexé sous le nom *propanoic acid, 2-hydroxy* ne renvoie qu'au dimère et non au polymère. L'Index guide le plus récent présent dans la bibliothèque date de 1987, il est possible que le polymère n'ait été indexé que plus tard.

Nous avons tout de même pu consulter les Chemical Abstracts, en consultant les 6 'Substance Index' des années 1992 à 1994 à la rubrique: Propanoic acid, 2-hydroxy, polymers.

⇒ Résultats

Il est évident que cette recherche est extrêmement fastidieuse et que, comparée à une interrogation en ligne, le temps passé, à période couverte égale, est aberrant. Cependant, prendre le temps de consulter le support papier, en début de recherche, présente un intérêt informatif: cette étape permet d'avoir une vision plus globale du nombre de publications parues sur l'acide polylactique, du domaine dans lequel des recherches ont été effectuées...

12 références ont été relevées dans les index, 8 ont été sélectionnées après consultation du résumé dans les Chemical Abstracts.

En ce qui concerne les applications cliniques de l'acide polylactique, sur les 7 références sélectionnées, 3 ont été retenues, principalement parce que les autres traitaient du sujet de façon trop approfondie: il s'agit simplement de répertorier les applications existantes, sans analyser leur synthèse, leur mise en application, etc...

Une seule référence a été trouvée pour permettre le greffage d'antennes sur le PLA en bout de chaîne, elle s'est révélée pertinente.

On peut noter que les résumés sont de qualité ; ils permettent de bien juger de la pertinence d'une référence.

Nous avons calculé deux taux de pertinence, sachant que certaines références (relatant des applications cliniques de PLA) ont été écartées même si elles étaient dans le cadre du sujet. En effet, outre le fait que certaines traitaient du sujet de façon trop approfondie, il existe une profusion de références associées au PLA en tant que microsphère pour la libération contrôlée de médicament. En effet, chaque fois qu'une nouvelle molécule est encapsulée, un papier est publié. Il en est de même pour les implants : chaque nouvel implant dans une nouvelle partie du corps fait l'objet d'une publication. L'objectif de cette synthèse n'étant pas de référencer toutes les molécules ayant été encapsulées, ni toutes les parties du corps ayant subi des implants, ces publications, bien que pertinentes ne seront pas utiles à la synthèse ; c'est pour cela que nous les avons écartées.

Nous avons ainsi calculé :

- un premier taux de pertinence, avant d'écarter certaines publications pouvant être considérées comme répondant à la question mais qui ne seront pas utiles à la synthèse : **83,3 %** (8 références sur 12 étaient dans le cadre du sujet **avant consultation des résumés** ; 8 sur 8 après consultation des résumés)

- un second taux de pertinence après les avoir écartées : **50 %** (4 références sur 8 ont été conservées).

Il est, selon nous, plus juste de calculer ces 2 taux de pertinence afin de mieux juger de la pertinence d'une base sans trop être influencé par la particularité du sujet traité.

Ces remarques s'appliquent en fait à toutes les bases interrogées.

En ce qui concerne le temps passé à la recherche (effectuée sur 2 années seulement) et au dépouillement des références, il s'élève à environ **8 heures**.

II - RECHERCHE SUR INTERNET

Internet a certainement été l'outil de recherche le plus utilisé pour cette recherche. Ceci peut s'expliquer par quelques points attrayants comme:

- l'existence de bases de données parfaitement adaptées au sujet (Medline, Beilstein, serveur de brevets d'IBM...)

- la possibilité de modifier une stratégie d'interrogation (en testant la pertinence des mots-clés, en complétant la liste), sans se soucier des facteurs temps et coût ...même si le chargement des documents est parfois long!

Il est donc difficile de juger de la pertinence de la stratégie employée : les requêtes sont modifiées au fur et à mesure, un premier tri des références obtenues est fait directement à l'écran et seules celles qui paraissent pertinentes sont imprimées.

II.1 - Interrogation de la base Medline

⇒ *Présentation de la base (tableau 1)*

URL: <http://www.healthgate.com>

Medline	
Domaine:	Sciences biomédicales, vétérinaires
Période couverte:	1966 à nos jours
Mise à jour:	hebdomadaire / délai d'insertion de 2 à 6 mois
Type de données:	bibliographiques
Documents:	3 700 périodiques (dont 100 périodiques français) - 650 titres en plus de la base papier Index Medicus - 70% résumés d'auteurs
Producteurs	National Library of Medicine - NLM (USA)
accès en ligne	BRS, Datastar, Dialog, Dimdi, Questel, STN
Mode d'interrogation:	Langage naturel (option ReADER) 13 opérateurs booléens Thésaurus

Tableau 1 : Données de la base Medline

Medline est considérée comme la plus grande base biomédicale mondiale, la normalisation et la rigueur de l'indexation faisant partie de ses points forts. C'est grâce au soutien de sponsors que la recherche dans cette base ainsi que la sortie des résultats sont disponibles gratuitement sur l'Internet.

Medline peut aussi être interrogée à partir d'un autre serveur ; la base porte le nom PubMed :

URL : <http://www4.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed/>.

Cette base contient 8,8 millions d'articles dont les sources sont :

- l'ensemble de la base Medline
- des articles non encore indexés sur Medline
- un petit nombre d'articles tirés du journal Medline.

Interroger Medline gratuitement est aussi possible à partir du logiciel Winspurs (voir IV).

⇒ Interrogation

La difficulté de l'interrogation en ligne tient au fait que l'acide polylactique est écrit de différentes manières dans les publications; on trouve ainsi des orthographes telles que: poly(lactic) acid, poly-lactic acid, poly(D-lactic acid), poly(L-lactic) acid, poly(D,L-lactic) acid, D,L-polylactic acid, ou encore poly((±)-lactic acid), avec ou sans espaces. On parle aussi de polylactide (lorsque le polymère est synthétisé à partir du dimère de l'acide lactique et non du monomère) ou d'acide polylactique en français.

Lorsque l'on peut l'utiliser, la troncature au milieu permet d'avoir le plus de chances possibles de recueillir toutes les références répondant à la question. Cette dernière n'existe pas sur Medline, nous avons commencé par utiliser l'opérateur NEAR (**poly NEAR lacti* NEAR acid***), mais devant le bruit causé et la non pertinence - la recherche se faisant par mot et non par chaîne de caractères - nous n'avons pas trouvé d'autres alternatives que de saisir toutes les possibilités.

Une recherche multicritère a été effectuée.

Medline donne la possibilité d'interroger soit sur les mots de tous les champs simultanément, soit sur les mots du titre ou du résumé, ainsi que sur le nom de l'auteur et sur ses initiales. La recherche peut aussi être limitée *dans le temps*, *à des publications de langue anglaise* ou encore à *des publications contenant un résumé*. Une option permet également une recherche automatique des pluriels.

La richesse des opérateurs booléens listés ci-après (au nombre de treize) facilitent la précision des requêtes: AND, OR (ou inclusif), XOR (ou exclusif), NOT, ADJ[n] (les 2 mots sont séparés par n mots, l'ordre a une importance), NEAR[n] (les 2 mots sont séparés par n mots, l'ordre n'a pas d'importance), WITH (mot appartenant à une même phrase), SAME (mots appartenant à un même paragraphe), NOTWITH, NOTSAME, NOTNEAR, NOTADJ.

L'intitulé des questions a consisté à croiser les différentes appellations du PLA listées ci-dessus avec les divers mot-clés relatifs au sujet; ceci a conduit aux questions suivantes :

Q1 :

(polylacti* OR "poly(lactic acid)" OR "poly(D,L-lactic acid)" OR "poly(L-lactic acid)" OR "poly(D-lactic acid)" OR D,L-polylacti*NEAR acid* OR ("**biocompatible materials**" AND **polymer**)) AND **clinical applications**

⇒ 6 ref.

Q2 :

(polylacti* OR "poly(lactic acid)" OR "poly(D,L-lactic acid)" OR "poly(L-lactic acid)" OR "poly(D-lactic acid)" OR D,L-polylacti*NEAR acid*) AND (**carbohydrate** OR **glycosid***)

⇒ 0 ref.

Q3 :

(polylacti* OR "poly(lactic acid)" OR "poly(D,L-lactic acid)" OR "poly(L-lactic acid)" OR "poly(D-lactic acid)" OR D,L-polylacti*NEAR acid*) AND (**peptid*** OR **amino acid***)

⇒ 3 ref.

Q4 :

(polylacti* OR "poly(lactic acid)" OR "poly(D,L-lactic acid)" OR "poly(L-lactic acid)" OR "poly(D-lactic acid)" OR D,L-polylacti*NEAR acid*) AND (**target*** OR **graft*** OR "**cell recognition**" OR "**cell attachment**" OR "**cell adhesion**")

⇒ 67 ref.

Remarques :

- Ajouter à l'interrogation les équivalents français du PLA (lactique au lieu de lactic) n'apporte aucune référence nouvelle.

- La présence de parenthèses dans la dénomination du PLA complique encore l'interrogation puisqu'elles font aussi partie du langage d'interrogation. Il faut donc utiliser les guillemets qui compromettent l'utilisation de la troncature.

Les termes "Biocompatible Materials", "Polymer" et "Cell Recognition" ont été utilisés car ils font partie du MeSH (thésaurus de Medline).

- Les interrogations ont été limitées aux publications munies d'un résumé.

⇒ Résultats

Cette base regroupant les publications du domaine médical, et non de la chimie, est alors théoriquement plus adaptée aux applications cliniques du polymère qu'aux possibilités de fonctionnalisation de ses copolymères. Les 70 références issues des questions 2,3 et 4 n'ont effectivement pas permis de trouver de références sur le greffage d'antennes.

Il n'y a, de plus, aucun doublon avec la recherche précédente effectuée sur une base de la chimie.

Sur les 76 références obtenues, un premier tri à l'écran a réduit ce nombre à 13 références. Beaucoup concernaient les médicaments encapsulés dans les microsphères de PLA ainsi que des études de biodégradabilité (utiliser NOT biodegrada* dans les questions pourrait supprimer des références intéressantes : le PLA est très souvent associé aux mots "biodegradables", "biodegradation").

La première pertinence¹ de la base est de **71,05 %** (52 références dans le cadre du sujet sur 76). Sur ces 13 références, 4 apportaient vraiment quelque chose de nouveau et ont été conservées, ce qui donne une deuxième pertinence de **5,26 %** (4 références sur 76).

Medline a permis de trouver, notamment, une publication de 1996 sur quelques applications cliniques du PLA et sur les problèmes constatés, ainsi qu'une autre, récente (1994), sur son utilisation dans la régénération de tissu.

Le temps passé à interroger et à dépouiller les références s'élève à environ **6 heures**.

II.2 - Interrogation de la base Uncover

⇒ Présentation de la base (tableau 2)

URL: <http://www.carl.org/uncover>.

Objectif d'Uncover

Uncover se présente comme un service en ligne de livraison dans l'heure d'articles de périodiques.

Les articles apparaissent sur Uncover en même temps que la parution du périodique, ce qui fait qu'Uncover met en ligne la base la plus à jour du domaine scientifique. Cette rapidité est rendue possible car les articles, dépouillés quotidiennement, ne sont ni résumés ni indexés.

D'autres services tel l'envoi, par E-mail, de la table des matières des derniers périodiques parus, telles des réponses à des requêtes stockées et suivies toutes les semaines, sont aussi proposés.

¹ En tenant compte des remarques faites sur l'interrogation de la base précédente (CA papier), nous avons là encore, distingué 2 types de pertinence.

Coût d'Uncover

La recherche dans la base est gratuite.

Seuls les articles commandés sont facturés: 8,5 \$ par article, plus les droits de copyright, plus un supplément 'fax' si le demandeur se situe hors des USA ou du Canada. Un système d'abonnement à l'année existe: 900 \$ pour un mot de passe et une réduction de 2 \$ sur chaque article commandé.

Le service de réponse aux questions ponctuelles et d'envoi de tables des matières de 50 journaux par E-mail est facturé 20 \$ pour l'année.

Uncover	
Domaine:	Sciences et techniques, sciences biomédicales
Mise à jour:	mise à jour la plus récente des bases de ce domaine
Type de données:	bibliographiques
Documents:	17 000 périodiques de langue Anglaise (7 millions d'articles, 5 000 citations / jour)
Producteurs	The Uncover Company (Denver)
Mode d'interrogation:	Multicritères : nom d'auteur, titre du périodique et mots du titre

Tableau 2 : Données de la base scientifiques du serveur d'Uncover

⇒ Interrogation et résultats

La recherche a été effectuée sur les mots du titre et a été très générale. Le peu de références concernant le PLA a permis d'interroger uniquement sur le mot clé "acide polylactique". Les différentes orthographes du PLA ont conduit à 54 références dont 6 ont été retenues puis 3. En effet, deux des six références appartenaient à un périodique difficile à se procurer ("Indian Drugs"), quant à la troisième, elle avait déjà été retenue à la suite de l'interrogation de Medline. La première pertinence est de **48,15 %** (26 références traitant du sujet sur 54) ; la deuxième pertinence de **5,55 %**.(3 références sur 54). L'intitulé de la question était très vaste !

II.3 - Interrogation de Netfire™, base du Beilstein

⇒ *Présentation de la base (tableau 3)*

adresse: **http://www.beilstein.de:8080/** (serveur Web européen)
site miroir aux USA à l'adresse **http://www.beilstein.com**

Netfire™	
Domaine:	Chimie organique et chimie appliquée à la médecine
Période couverte:	de 1980 à nos jours
Type de données:	bibliographiques
Documents:	160 périodiques les plus connus de la chimie organique et médicale
Producteurs	Beilstein information Systems GmbH (Londres)
Mode d'interrogation:	AND, OR, NOT, and NEAR * troncature de n caractères (droite, gauche, milieu) ? troncature d'1 caractère

tableau 3 : données de la base du Beilstein

Objectif de NetFire

Cette base, qui utilise le moteur de recherche NetFire, n'a pas pour but de se substituer aux chemical Abstracts puisqu'elle ne couvre que le domaine de la chimie organique, qu'elle possède moins de facilités d'interrogation (Registry Number, descripteurs...), des notices moins complètes. cependant, elle présente le grand avantage de fournir les résumés d'auteurs; elle est très conviviale: les mots recherchés apparaissant dans les notices sont surlignés en rouge.

Beilstein offre aussi la possibilité de sélectionner la période ou les périodiques dans lesquels la recherche doit être effectuée.

Coût de NetFire

L'accès à NetFire se fait par inscription à l'année (coût très faible, d'après les producteurs); cependant durant les 6 premiers mois (décembre 96 à juin 97), afin de promouvoir ce site, l'accès sera gratuit.

⇒ *Interrogation et résultats*

La possibilité de troncature au milieu a été un grand avantage.

Nous avons effectué une interrogation multicritère, le moteur de recherche permettant une

recherche dans les champs auteurs, mots du titre et /ou/ sauf mots du résumé et offrant la possibilité de restreindre la recherche à certains périodiques, à une période. Chaque champ est muni d'une liste d'autorité.

La période couverte par cette base étant assez restreinte (de 1980 à nos jours), nous avons là encore posé une question très vaste : **poly*lactic* NEAR acid***.

40 références ont été obtenues dont 28 ont été sélectionnées après un premier tri à l'écran. Une seule référence à été conservée.

II.4 - Interrogation de la base de brevets du serveur d'IBM

⇒ *Présentation de la base (tableau 4)*

URL : <http://www.ibm.com/patents>

Serveur d'IBM - Base de brevets	
Domaine:	multidisciplinaire
Période couverte:	de 1971 à nos jours
Type de données:	bibliographiques + images scannées des page des brevets de 1980 à 1996 (comportant aussi des schémas)
Documents:	2 Millions de brevets de l'United States Patent & Trademark Office (USPTO)
Producteurs	IBM
Mode d'interrogation:	Expert (AND, OR, ACCRUE, NOT) Multicritère (Numéro de brevet, Inventeur, assigné, titre, résumé) Troncature à droite et à gauche de n caractères : * d'un caractère : ?

tableau 4 : Données de la base de brevets IBM

Objectif de la base d'IBM

Cette banque de données a été constituée par IBM pour son usage interne, dans le but de servir la communauté scientifique, de montrer que l'Internet peut servir à partager ou à diffuser de grandes bases de données. C'est aussi un fort coup de pub médiatique!

Coût de la banque de données

Elle est consultable gratuitement, en offrant, de plus, la possibilité de visualiser les croquis des

brevets (certaines pages ont été scannées) ainsi que leur bibliographie.

Il est possible de commander les brevets par l'intermédiaire de ce serveur; ils sont facturés.

⇒ Interrogation et résultats

L'interrogation a surtout porté sur la deuxième partie du sujet : les possibilités de greffage d'antennes sur les copolymères du PLA.

Bien que la troncature existe, nous ne l'avons pas utilisée dans l'intitulé des questions, puisqu'il est signalé sur le serveur que son utilisation entraîne des temps de recherche dans la base beaucoup plus longs.

Le bruit apporté par les questions suivantes - malgré leur imprécision - étant raisonnable, ne pas utiliser la troncature ne nous a pas posé de problèmes.

Q1 :

poly <AND> lactic <AND> **amino** <AND> **acid** <OR> **glycoside** <OR> **carbohydrate** <IN>
(abstract <OR> title)

⇒ 22 ref.

Q2 :

poly <AND> lactic <AND> acid <AND> **copolymer** <NOT> **blend** <AND> **targeted** <IN>
(abstract <OR> title)

⇒ 1 ref.

Remarque :

- Les interrogations ne peuvent porter que sur la langue anglaise puisque tous les brevets de cette base sont de langue anglaise.

- La séquence "<NOT> blend" (blend=mélange) a dû être utilisée car certaines références traitent de simples mélanges de polymères et non de copolymère avec des liaisons covalentes.

Sur les 23 références, 12 ont été sélectionnées après un premier tri à l'écran. Deux références ont finalement été conservées, dont celle de la seconde question. Les deux taux de pertinence sont donc de **52 %** (12/23) et de **4,25 %** (2/23).

Le temps passé sur ce site a été évalué à 2 heures.

III - INTERROGATION EN LIGNE DU SERVEUR DIALOG

III.1 - Choix des bases

La consultation du catalogue des bases des serveurs DIALOG et QUESTEL a permis de conclure qu'un nombre élevé de bases existait dans le domaine de la chimie (21 pour DIALOG).

Après élimination des bases se rapportant à une chimie autre que celle qui nous concerne, comme la chimie analytique (Analytical Abstracts...) ou la chimie de l'industrie du papier (PAPERCHEM) ainsi que celles traitant de toxicité (Registry of Toxic Effects of Chemical Substances) et de sécurité (Chemical Safety Newbase) ou encore les bases factuelles comme CHEMNAME, Kirk Othmer Online, Chapman and Hall Chemical Database etc., nous avons jugé que 3 bases seraient intéressantes: CA Search, Polymer Online et Beilstein Online. La recherche manuelle dans les Chemical Abstracts ayant conduit à des brevets, il peut être utile d'interroger la base de brevets DERWENT.

Cependant, en ce qui concerne Beilstein Online et DERWENT, l'existence de sites Internet regroupant le même type de données (NetFire du Beilstein Information Systems et celui d'IBM) ont fait écarter ces base. Il aurait cependant été intéressant de comparer les résultats fournis par ces 2 modes d'interrogation!

III.2 - Interrogation de CAsSearch

⇒ Présentation de la base (tableau 5)

CAsSearch	
Domaine:	chimie et ses applications
Période couverte:	de 1967 à nos jours
Mise à jour:	bimensuelle
Type de données:	bibliographiques, texte intégral, tableaux
Documents:	14 000 revues, thèses américaines, compte rendu de congrès, brevets de 30 pays différents (12 millions de références, 500 000 nouvelles notices / an)
Producteurs	Chemical Abstract Service, OH, USA
Mode d'interrogation:	vocabulaire contrôlé, possibilité d'utiliser des Registry Number, le dessin de la structure chimique grâce au logiciel DARC.

tableau 5 : Données de CAsSearch

Chemical Abstracts est la référence dans le domaine de la chimie; l'interrogation en ligne, bien que tellement plus avantageuse que la consultation papier possède l'inconvénient de ne pas fournir les résumés d'articles; il est alors possible d'aller les consulter via un numéro de référence sur le support papier!

L'utilisation des Registry Number a vraiment permis de simplifier l'intitulé des questions!... Elles ont consisté à croiser le PLA (RN = 26 100-51-6) avec les divers mot-clés associés au sujet, en éliminant les articles de langue japonaise ou russe. L'interrogation des bases précédentes a permis de noter la présence de copolymères d'acide lactique et d'éthylène glycole ou de caprolactone. Ces derniers sont considérés comme du bruit puisqu'ils ne possèdent aucun groupe fonctionnel utile au greffage d'antennes.

Devant le peu de références relatant le ciblage des microsphères de PLA, la stratégie a consisté à trouver le plus de termes possibles évoquant la fonctionnalisation du polymère ou des copolymères d'acide lactique dans un but de reconnaissance cellulaire. Nous avons ainsi abouti aux questions suivantes :

Q 1 :

? S RN=26 100-51-6 NOT LA = JAPAN? NOT LA = RUS?

S1 685

? S Receptor? OR functionalis? OR recogni?

? S S1 AND S2

S3 8

? S peptid? OR glycosid? OR galactose OR (acid? (N) amin?)

S4 283 902

? S S4 AND S1

S5 70

Sur les 70 références de cette dernière question, seulement 20 ont été récupérées afin de tester leur pertinence. Elle s'est avérée assez décevante, la majorité des brevets traitant de peptides, de glycoside ou d'acide aminé comme substance incorporée dans les microsphères de PLA, et non comme antennes.

Une nouvelle interrogation a alors été effectuée, sans mentionner de nom de substances.

Nous avons aussi interrogé sur les applications cliniques du PLA, mais en restreignant la recherche aux documents de synthèse.

Q 2 :

? S1 RN=26100-51-6 NOT LA = JAPAN? NOT LA = RUS?

S1 685

? S1 AND (clinical (W) application? ?) AND review/DT

S2 1

? S S1 AND (modification? ? OR derivat? OR graft? OR anchor? OR vectoris? OR target?)

S3 28

? S S1 AND copolymer? NOT glycol NOT caprolactone

S4 41

La référence sur les articles de synthèse des application cliniques du PLA est un doublon (elle a aussi été trouvée sur Medline). Les deux brevets issus du site d'IBM et celui trouvé par consultation des Chemical Abstracts papier ont été retrouvé parmi les références récupérées. Quant aux autres références (principalement des brevets), après lecture des résumés sur le support papier, seulement 1 référence, très pertinente, a été retenue.

Les résultats sont donc assez décevants : pertinence de **5,1 %** (5/98)... Cependant, le fait de trouver une référence très pertinente (non trouvée dans les bases précédemment interrogées), en plus de ce faible pourcentage, illustre bien les avantages et les inconvénients des bases contenant une très grande richesses d'informations.

⇒ *Coût*

	durée de connection en heure	coût en \$
première session	0,416	8,72
deuxième session	0,366	7,67
TOTAL	0,782	16,39

prix / heure en \$	temps de connection	total en \$	prix / ref.	nbr de ref.	total en \$	TOTAL en \$
90	0,782 h	70,38	1,75 \$	98	171,5	241,88

III.3 - Interrogation de Polymer Online

⇒ *Présentation de la base (tableau 6)*

Polymer Online est la version en ligne de l' *Encyclopaedia of polymer Science and Engineering*. C'est ainsi une base en texte intégral ; elle contient cependant les données bibliographiques appelées dans le texte.

Polymer Online	
Domaine:	Science et ingénierie des polymères de tous les secteurs
Période couverte:	de 1985 à nos jours
Mise à jour:	Irrégulière : dépend de celle du support papier
Type de données:	bibliographiques, texte intégral, tableaux
Documents:	équivalent online de l'Encyclopædia of Polymer Science & Engineering (les 17 volumes + supplément + index cumulatif) = 12 535 enregistrements
Producteurs	John Wiley & Sons
Mode d'interrogation:	Interrogation d'une grande variété de champs : résumé, titre, descripteur, tête de chapitre, titre de tableaux, titre des lignes et colonnes des tableaux...

tableau 6 : Données de polymerOnLine

⇨ Interrogation et Résultats

L'index du support papier a déjà été consulté en début de recherche ; l'interrogation a alors été faite de façon à trouver d'autres passages de l'encyclopædie mentionnant l'acide polylactique, qui aurait pu nous échapper lors de la consultation du support papier. La question a, dans cette optique, été faite sur les mots du texte, mais cette interrogation n'a apporté aucune nouvelle référence à notre synthèse.

⇨ Coût

durée de connection en heure	coût en \$
0,444	9,34

prix / min en \$	temps de connection	total en \$	prix / ref.	nbr de ref.	total en \$	TOTAL en \$
60	0,444 h	26,67	1,75	12	21	47,67

IV - INTERROGATION DE WINSPIRS

Le logiciel Winspirs utilise le moteur de recherche spirs et regroupe trois bases de données du domaine biomédical: Medline, Biosis et EMBase. Il permet l'interrogation par thésaurus en ligne, pour la base Medline uniquement, et de croiser les requêtes. Seul EMBase a été interrogée, Medline ayant déjà été consultée sur Internet et Biosis correspondant moins bien au sujet. L'interrogation a été faite sur les postes de la bibliothèque de pharmacie de Lyon 1.

IV - Interrogation de EMBase

⇒ Présentation de la base (tableau 7)

EMBase	
Domaine:	médecine, pharmacologie, toxicologie (50% des références concernent les médicaments)
Période couverte:	de 1974 à nos jours
Mise à jour:	hebdomadaire / délai d'insertion: moins de 30 jours
Type de données:	bibliographiques
Documents:	3 500 périodiques dont 55% sont européens (170 sont français) - avant 1991, on trouve quelques livres et rapports de congrès - 4,8 millions de références - 65% résumés d'auteurs
Producteurs	Elsevier Science Publishers (Pays-Bas)
Mode d'interrogation:	Expert, multicritère
Accès en ligne	BRS, Datastar, Dialog, Dimdi, STN

tableau 7 : Données de la base Winspirs

⇒ Interrogation et résultats

Le même type d'interrogation que pour CASearch a été effectué, sachant que le logiciel offre aussi la possibilité de croiser les requêtes. Cette base a permis de trouver 8 références pertinentes (sur 18) dont deux sont des doublons. Cette base semble assez adaptée au sujet de la recherche puisque son taux de pertinence est parmi les plus élevé (44,4 %).

V - RECHERCHE LE CD-ROM Doc Thèses

⇒ Présentation de la base

CD-ROM doc Thèse	
Domaine:	multidisciplinaire
Période couverte:	de 1972 à nos jours pour les lettres et les sciences de 1983 à nos jours pour les disciplines de la santé
Mise à jour:	semestrielle
Type de données:	bibliographiques
Documents:	thèses soutenues dans les universités françaises
Producteurs	Chadwick - Healey France
Mode d'interrogation:	elle peut se faire par auteur, mot du titre, mot-clé, directeur de recherche, discipline, université, année

tableau 8 : Données du CD-ROM Doc Thèse

⇒ Interrogation et résultats

L’interrogation du champ “mot-clé”, n’a donné aucune référence pour acide polylactique (ou autres orthographes), cependant en élargissant la question aux nanoparticules et au microsphères, 43 références ont été extraites. Un premier tri à l’écran en a éliminé 38. Finalement 1 seule a été conservée.

VI - COMPLÉMENT À LA RECHERCHE

VI.1 Les Current Contents

⇒ Présentation de la base

Les Current Contents (revue éditée par l’Institute for Scientific Information (ISI)) relèvent, toutes les semaines, les sommaires d’environ 1000 périodiques dès leur parution.

Ils permettent ainsi de consulter les références trop récentes pour figurer dans les bases de données.

Ils sont regroupées selon trois grands thèmes:

- Physical, Chemical & Earth Sciences,
- Life science, Engineering,
- Computing & Technologie.

A la fin de chaque fascicule se trouvent deux index (par sujets et par auteurs), ce qui les rend rapides et faciles à utiliser.

Interrogation

On cherche donc 'acid polylactique' ainsi que ses autres orthographes dans l'index des sujets des fascicules Physical & Earth Science. Ce dernier renvoie à un numéro de page où l'on trouve le nom du périodique, les auteurs et le titre de l'article. Si celui-ci s'avère intéressant, on consulte la publication.

Résultats

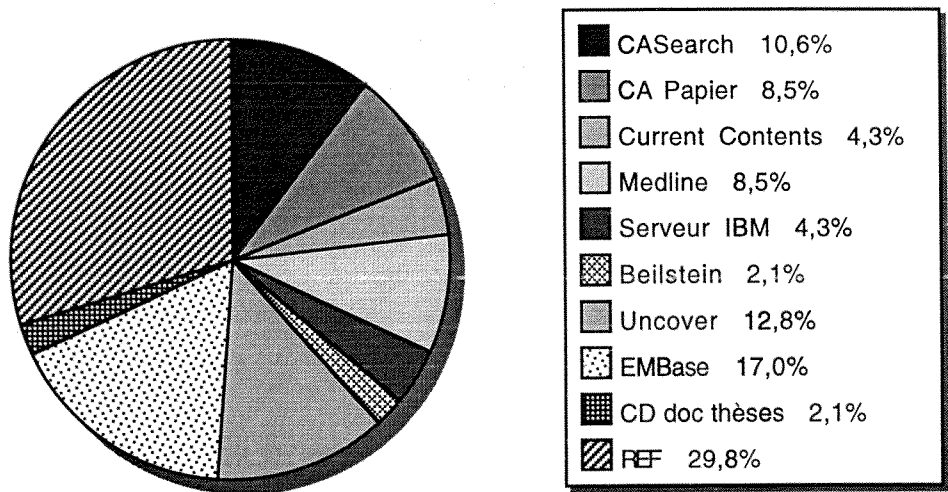
2 références sur les 15 sélectionnées en consultant les fascicules régulièrement, ont été retenues après consultation des publications. Le taux de pertinence (**13,3 %**) est donc très faible, mais les références trouvées peuvent apporter beaucoup d'informations puisqu'elles sont très récentes.

VI.2 La bibliographie des publications et des brevets

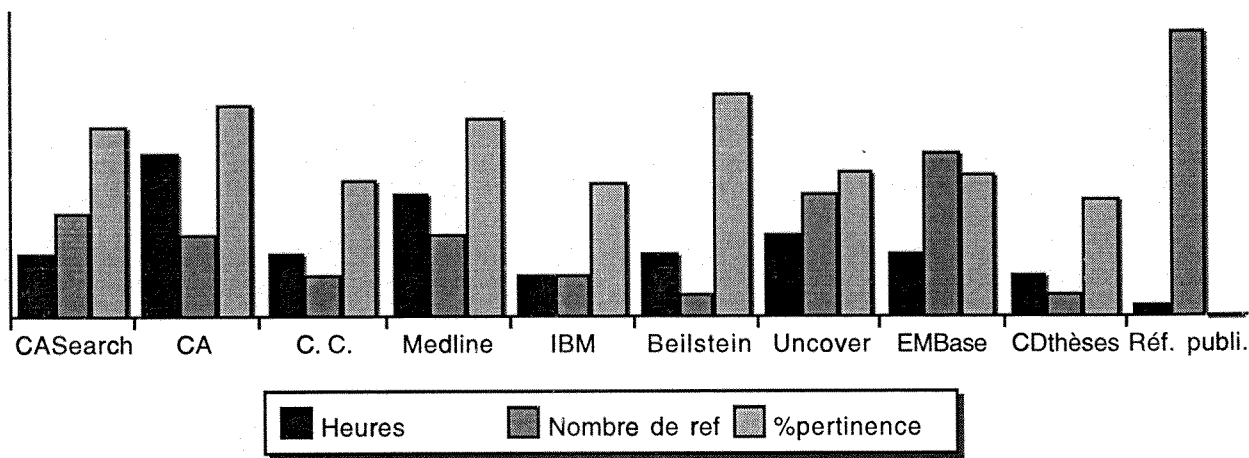
14 références ont été trouvées en utilisant les bibliographies citées par les publications trouvées; Même si ce travail apporte souvent des références anciennes, avec un taux de pertinence faible, il s'avère très productif et permet d'élargir la recherche à des molécules identiques auxquelles on avait pas forcément pensé. La consultation de ces références a permis de réaliser, un peu tard, que l'on aurait pu élargir la recherche aux polyesters!

VII - SYNTHÈSE DES RÉSULTATS ET CONCLUSION

Répartition des références selon les différentes bases



Corrélation entre nombre de références, temps et pertinence.



Echelle non respectée

Ces graphes montrent bien qu’aucune base, même pour un sujet donné, ne présente les mêmes propriétés. On constate aussi que les outils de recherche informatisée, malgré leur diversité, ont donnés des résultats peu satisfaisants, rendant nécessaire et même pertinentes les recherches manuelles pourtant longues et fastidieuses.

DEUXIÈME PARTIE : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

I - Présentation de l'acide polylactique

I.1 - Introduction

Initialement développés il y a plus de 30 ans, c'est essentiellement pour leurs applications dans le domaine de la médecine, que les polymères de l'acide lactique (*fig. 1*) sont connus.

En effet, leur *non-toxicité*, leur *biocompatibilité* et *biodégradabilité* en composés naturels largement présents dans l'organisme, ont permis de fabriquer des matériaux bien acceptés par le corps humain. Une fois qu'ils ont joués leur rôle, ils disparaissent de l'organisme par hydrolyse enzymatique, sans recours à la chirurgie.

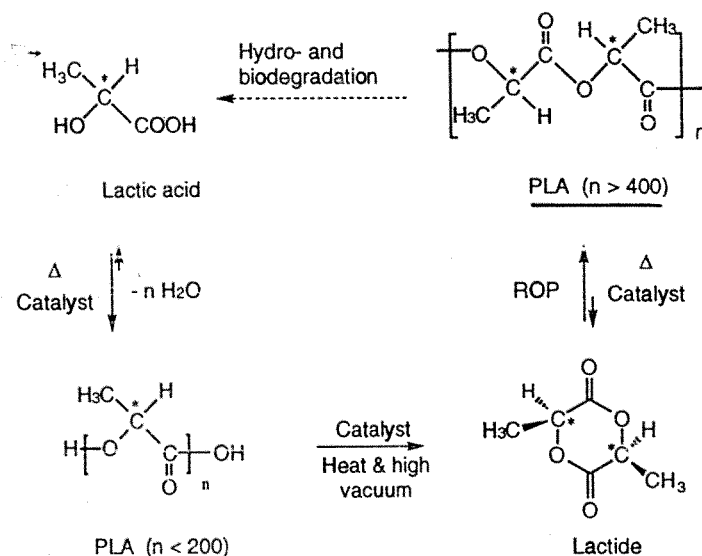


fig. 1 Schémas réactionnels de la synthèse du PLA ¹

I.2 - Propriétés ^{2, 4}

♦ De part de sa structure, l'acide lactique est optiquement actif, de sorte qu'il existe l'*acide L-poly lactique (PLLA)*, l'*acide D-poly lactique (PDLA)*, ou l'*acide D,L-poly lactique (PDLLA)*. L'isomère L est rapidement métabolisé par l'organisme humain, alors que l'isomère D ne l'est pas du tout. Les polymères formés à partir d'isomères optiquement purs sont très cristallins et hydrolysés lentement alors que le polymère formé à partir d'un mélange racémique (50% L et 50% D) est presque totalement amorphe et s'hydrolyse rapidement (*tableau 1*).

On peut donc moduler les propriétés physiques du polymère en fonction du pourcentage d'isomère L ou D introduit. Introduire des monomères d'acide glycolique permet aussi de diminuer la cristallinité du PLA et donc d'augmenter sa vitesse de dégradation.

<i>Polymère</i>	<i>Tps de dégradation</i>	<i>Propriété</i>
PLLA haute MW	Mois - années	Cristallin
PLLA faible MW	Quelques semaines	Cristallin
PDLA haute MW	Semaines - mois	Amorphe

Tableau 1. Temps de dégradation comparés du PLLA et du PDLA

- ♦ L'acide polylactique est un polymère thermoplastique.
- ♦ C'est un polymère synthétique qui, contrairement aux polymères naturels (hydrophiles) est lipophile, donc insoluble dans l'eau, l'éthanol et le méthanol, mais soluble dans des solvants organiques comme le dichlorométhane, le tétrachlorure de méthane, le chloroforme, l'acétone, le dioxane et l'acétate d'éthyle.
- ♦ L'acide-L-polylactique possède un point de fusion élevé : ~ 185°C ; il se dégrade après chauffage prolongé à 200°C.
- ♦ Les faibles masses molaires (< 3 000) sont obtenues par condensation directe de l'acide polylactique. Les polymères de plus hautes masses molaires sont formés par ouverture du dimère lactide (fig. 1) . Des conditions particulières de réaction (quantité de catalyseur, temps de réaction...) permettent d'obtenir des polymères avec une masse molaire déterminée. On peut aussi préciser que l'alcool laurylique est utilisé dans le contrôle des masses molaires des polymères d'acide lactique ²

 I.3 - Méthodes d'analyses du PLA (détermination des masses molaires, spectres RMN)

- ♦ La masse molaire d'un polymère de l'acide lactique est évaluée par chromatographie à perméation de gel. ^{1, 4}
- ♦ Quelques publications proposent le spectre ¹³C - RMN ^{1,4} des polymères de l'acide polylactique.

II. Applications cliniques de l'acide polylactique

II.1 - Applications en chirurgie

II.1.1 - Réalisation d'outils aidant à la réparation de fractures (fixation d'implants)⁶

Dès les années 60, l'hydro-dégradabilité et la bio-compatibilité de l'acide polylactique ont tout de suite été appliquées en chirurgie, lorsque la guérison implique la mise en place d'un "outil étranger" (implants aidant à la réparation de fractures...) qui est ensuite retiré lors d'une seconde opération chirurgicale, après la guérison. Se dégradant petit à petit dans le corps, il évite ainsi le stress psychologique d'une seconde intervention.

Ses propriétés thermoplastiques, ont permis de le mouler en différentes formes (plaques, vis, agraphe...outils habituellement réalisés en acier inoxydable).

Les résultats se sont avérés être équivalents à ceux des outils métalliques, avec même plus de succès dans les cas délicats comme les fractures de la maléole ou de l'épaule, ou encore comme les fractures crano-faciales (fractures des zygomatiques, par exemple). Ces implants possèdent, en effet, une certaine élasticité qui les rend plus confortables.

II.1.2 - Réalisation d'outils à texture fibreuse

Les polymères biodégradables comme le PLA ont aussi trouvé des applications dans la suture de blessures⁷. La plaie est recousue à l'aide d'un monofilament de polymère attaché à une aiguille chirurgicale (*fig. 2*). Lorsque les points sont faits, l'aiguille est retirée et la suture resserrée. Il n'y a plus besoin de 'retirer les fils' puisque, tout en aidant les tissus à se recoller, le filament se dégrade progressivement.

Ces filaments peuvent être synthétisés de sorte qu'ils soient plus ou moins élastiques et/ou qu'ils se dégradent plus ou moins vite.

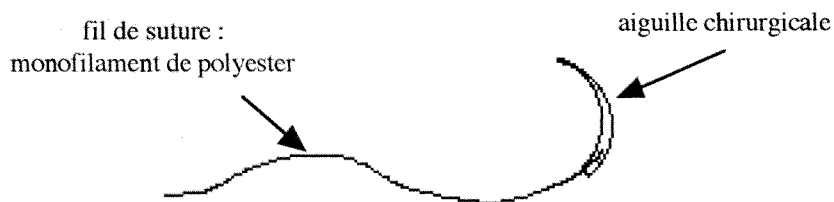


fig. 2

Dexon[®] (100% PGA), Vicryl[®] (90% PGA - 10% PLA) font partie des matériaux de sutures commercialisés.

D'autres outils à texture fibreuse utilisant les polymères biodégradables ont été imaginés, comme des prothèses des ligaments ou des tendons, des gazes...

II.1.3 - Réalisation de seringues

Un brevet Japonais ⁸ à été déposé sur des seringues biodégradables à base de copolymères de D-ou L- ou D,L- acide lactique.

II.1.4- Réalisation de matrices permettant la régénération de tissus : Le "tissue engineering"

Cette nouvelle technique consiste à améliorer le processus de fabrication de nouveaux tissus dans le but de remplacer et de régénérer complètement des tissus endommagés ⁶. Elle n'est, pour l'instant, au point que pour les tissus osseux qui ont un fort potentiel de régénération. Cependant, ces connaissances pourraient s'appliquer à d'autres tissus, beaucoup plus récalcitrant à la réparation, comme les cartilages, les ligaments et les tendons.

Le PLA est utilisé comme une matrice, placée à l'endroit où le processus de régénération doit être amorcé. Ceci répond aux trois règles ⁹ devant être respectées pour imiter le processus de régénération des tissus :

- 1 - fournir des signaux optimas et réguliers pour initier le processus
- 2 - fournir des cellules, comme les protéines de la famille des "Bone Morphogenetic Proteins" (BMPs) capables de répondre aux signaux moléculaires.
- 3 - fournir une matrice extracellulaire (PLA) qui, d'une part, guidera la reconstruction de l'os (fig.3) et d'autre part, contiendra les BMPs.

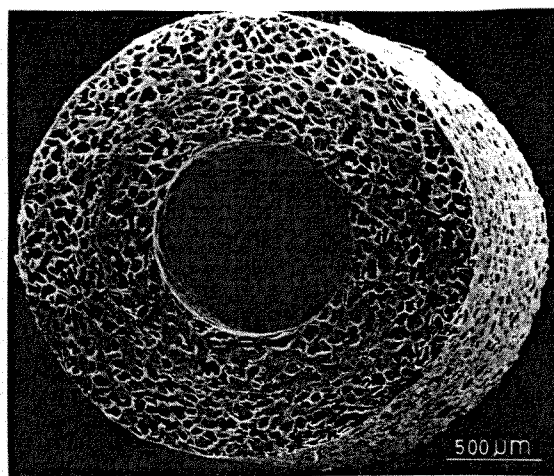


fig.3 Guide de reconstruction d'un nerve
copolymère de PLLA et de ϵ -caprolactone

II.1.5 - Limites du PLA en chirurgie

♦ Problèmes dus à la stérilisation des outils en PLA :

Après leur fabrication, les implants doivent être stérilisés puisqu'ils seront appelés à être insérés dans le corps humain. Cependant, les méthodes classiques utilisées pour stériliser, font appel soit à des hautes températures, soit à des milieux humides soit encore à des radiations. Toutes ces conditions opératoires risquent de modifier de manière sensible les propriétés physiques et mécaniques des outils en PLA ⁶. Aucune méthode de stérilisation propre à ces matériaux n'a pour l'instant été mise au point.

♦ Risques d'inflammation des tissus :

Des symptômes d'inflammation chronique ⁶ dûs à la présence d'un corps étranger ont été observés lors des tests *in vivo*.

Ces inflammations - non infectieuses - sont apparues 7 à 20 semaines après l'implant et ont été observées dans 14% des cas.

Cette réaction dépend de l'âge du patient (seulement chez les patients de 40 ans et plus) et de la région du corps dans laquelle l'implant a été introduit.

♦ Faibles capacités d'adhésion aux cellules et ne possède aucun groupe fonctionnel pour greffer des molécules ayant un fort potentiel d'attachement aux cellules.

II.2 - Applications en pharmacologie: Systèmes à libération contrôlée

II.2.1 - Introduction ^{10, 11}

Le rôle d'un système à libération prolongée peut être exprimé ainsi:

“avoir la bonne quantité de substance active, au bon moment et au bon endroit”.

Leur principe de libérer progressivement la substance active qu'ils contiennent, avant de se désagréger, améliore à la fois l'efficacité de cette dernière et le confort du malade en diminuant le nombre de prises nécessaires.

Ils peuvent être divisés en deux catégories:

➡ Les *systèmes à libération contrôlée* qui libèrent le médicament dans tout le corps par l'intermédiaire du système de circulation sanguine.

➡ Les *systèmes à libération ciblée* qui libèrent le médicament sur ou tout près de sa zone d'action. Ils présentent l'avantage d'une part d'être plus efficaces en libérant localement une grande concentration de produit et d'autre part de diminuer le risque d'effets secondaires.

On distingue aussi, d'une part :

➡ les systèmes où le polymère sert uniquement de support physique au principe actif: aucune liaison chimique n'est créée entre le principe actif et le polymère

des systèmes où le principe actif est lié par une liaison chimique labile au polymère.

Ces systèmes permettent à la fois de prolonger la libération et de diriger le principe actif vers son récepteur,

d'autre part (fig. 4):

➡ les systèmes type réservoir où la substance est entourée par le polymère; la substance se trouve dans son état moléculaire (aggrégat, cristaux, liquide),

➡ les systèmes homogènes ou monolithiques, dans lesquels la substance est dissoute ou dispersée à travers la matrice.

Dans certains cas, la substance peut-être adsorbée ou chimiquement liée à la surface du polymère, ou encore piégée dans les pores du polymère.

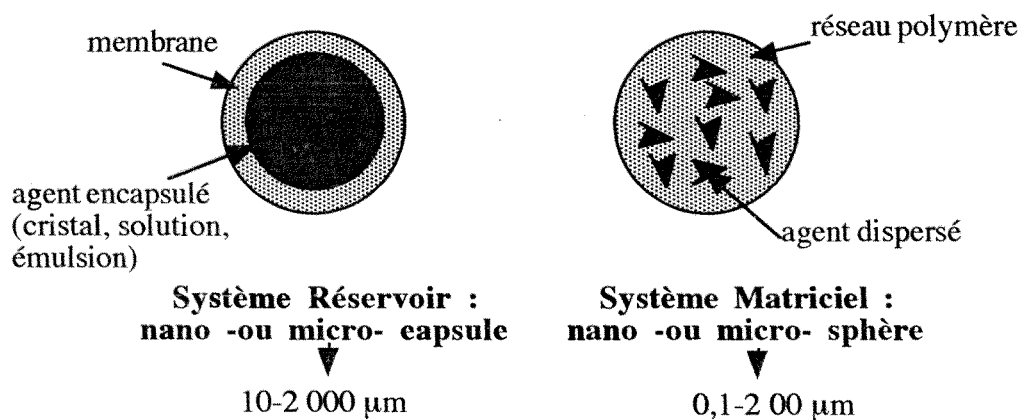


fig. 4 : Différence entre système réservoir et système matriciel.

Le taux de diffusion dépend de la quantité de médicament encapsulé et décroît avec le temps. Ces systèmes peuvent être administrés de différentes façons :

cutanée, orale, nasale, parentérale (en dessous d'une certaine taille ($7\text{ }\mu\text{m}$), ils sont injectables).

Les systèmes les plus avancés sont faits de copolymères d'acide lactique et d'acide glycolique.

Les systèmes polymères matriciels sont parmi les plus simples à réaliser en laboratoire.

II.2.2 - Polymères couramment utilisés :

Plusieurs types de polymères sont utilisés pour leurs propriétés de biodégradabilité, qu'ils soient naturels (albumine, gélatine, collagène, polysaccharides, erythrocytes,...) ou synthétiques (PLA, PGA, acide poly(D,L-éthylglycolique), poly(ϵ -caprolactone),...). Les polymères synthétiques sont préférés aux polymères naturels, leur structure étant parfaitement définie, leur propriétés n'évoluant pas d'un lot à un autre; il n'y a de plus, pas de risque de contamination, et ils peuvent être produits en

grande quantité.

II.2.3 - Applications pratiques des systèmes à libération prolongée

L'utilisation de polymères biodégradables comme système à libération prolongée (fig.5) n'a vraiment été étudiée que depuis les 20 dernières années.

Dans les années 1980, la découverte des peptides et hormones thérapeutiques comme les cytokines, les anticorps monoclonaux et les facteurs de croissances a fait que ces systèmes à libération prolongée ont surtout été étudiés pour ces peptides et protéines. De plus, ces molécules ne pouvant pas être administrées par voie orale, (elles se dénaturent dans le système gastrointestinal), les encapsuler dans des microsphères ont permis d'éviter cette dégradation.

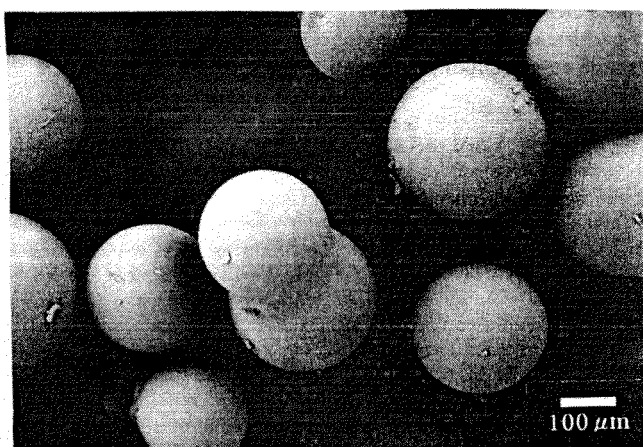


fig. 5 : Microsphères de PLGA Contenant 20 % (w/w) d'insuline bovine) vues au microscope à balayage ¹²

On trouve, par exemple, des applications dans la libération contrôlée

La libération contrôlée s'avère être un mode de diffusion très adaptée à la prise, par exemple :

- de substances pour cesser de fumer,
- de substances contraceptives ¹³,
- de substances anticancéreuses ¹⁴,
- de substances contre l'acné ¹⁵ (microsphères appliquées sur la peau, qui grâce à leur petite taille traversent la couche de l'épiderme par les follicules du système pileux)

Divers types d'agents thérapeutiques délivrés grâce à un système à libération prolongée, ont effectivement été commercialisés (tableau 2):

Famille :	Substance active :
Narcotiques, antagonistes :	Naloxone, Cyclazocine, Morphine, Naltrexone
Stéroïdes, hormones, contraceptifs :	D-norgestrel, Progestérone, Norethindrone
Anti malaria :	Sulfadiazine
Protéines :	Insuline, enzymes
Anti bactériens :	Chloramphénicol, 4-homosulfanilamide
Ophtalmiques :	Hydroxycortisone
Anti-inflammatoires :	(±)-6-méthoxy- α -méthyl-2-naphtaleny-éthanol
Vitamines :	Acide nicotinique, niacin
Anti-cancéreux :	Cyclophosphamide, <i>cis</i> -dichlorodiaminoplatinim

Tableau 2 : substances commercialisées sous forme de microsphères

D'autres tables présentant les substances les plus couramment introduites dans les microparticules de PLA, qu'elles soient solubles ou insolubles dans l'eau de petite ou de grande taille, peuvent être trouvées dans les références ² et ¹⁶ ; les masses molaires des polymères ayant servi à la création des microparticules sont aussi indiquées, ainsi que les références des articles relatant de chaque synthèse.

Les microsphères de PLA peuvent aussi trouver une application thérapeutique dans la production d'une dose de vaccin ¹⁶. Des microsphères pour la vaccination contre le tétanos ont ainsi été préparées.

II.2.4- Limites de l'utilisation des polyesters biodégradables

Les polymères de l'acide lactique comportent des fonctions acides terminales ; si les microsphères sont chargées avec des substances instables en milieu acide, ces dernières risquent de se dégrader. Une étude ¹² a ainsi montré la dégradation d'insuline bovine à l'intérieur des particules de PLGA. Elle serait due aux conditions acides imposée par le polymère.

II.2.5 - Méthodes de caractérisation des sphères

♦ La détermination du diamètres des sphères ainsi que le profil de distribution peut s'avérer difficile compte tenu de la taille des sphères (< micron). Cependant diverses méthodes ¹⁷ ont été proposées telles que :

- la PCS Photon correlation Spectroscopy
- la SEC Size-exclusion Chromatography
- la FFF Field-Flow fractionation.

Uchida *et al.*, ont utilisé un Microtrac Particle Size Analyser, ¹⁸ qui évalue la taille moyenne des

microsphères.

Une autre méthode utilisée par Wang *et al.*,¹⁴ consiste à déposer les microsphères sur une plaque de verre et à les observer grâce à un microscope électronique connecté à une caméra vidéo. Les signaux sont ensuite traités par ordinateur.

- ♦ Analyse par diffraction aux rayons X^{1,19}

III - MÉTHODES DE GREFFAGE D'ANTENNES SUR L'ACIDE POLYLACTIQUE

La référence²⁰ propose des exemples d'antennes greffées sur des polymères, l'acide polylactique n'est cependant et malheureusement pas mentionné dans cet ouvrage.

III.1 - Synthèses de polymères d'acide lactique introduisant des groupes fonctionnels en bout de chaîne

- ♦ L'United States Surgical Corporation a déposé en 1992 un brevet⁷ présentant 3 synthèses de polyesters terminés par un acide aminé et dont l'enchaînement des séquences est parfaitement contrôlé. Le principe de ces synthèses consiste à faire réagir un par un les monomères jusqu'à ce que le polymère, ainsi formé, ait la taille souhaitée. Le premier monomère est un acide aminé auquel viennent ensuite s'ajouter des hydroxyacides (acide lactique, par exemple)

Les acides aminés s'appliquant le mieux à cette invention sont la glycine, l'alanine et la valine.

⇒ Réaction de la fonction hydroxy e de l'AA (synthèse en phase liquide)

La première synthèse (*fig. 6*) forme une **liaison ester** entre l'acide aminé et l'hydroxyacide. Pour cela, la fonction amine de l'acide aminé et la fonction acide de l'hydroxyacide sont protégées, respectivement et préférentiellement par le t-butyloxycarbonyl (tBoc) et par le benzyl (Bz). Ensuite, un deuxième hydroxyacide, dont la fonction carboxyl est de préférence protégée pour éviter des réactions parasites, est additionné au dimère, créant une deuxième liaison ester. Il faut pour cela déprotéger la fonction carboxyl du premier hydroxyacide.

Le processus est répété avec d'autres hydroxyacides, jusqu'à ce que le polymère ait atteint la longueur désirée. La protection du dernier hydroxyacide est alors enlevée, et le polymère peut être traité (greffage d'antennes sur la fonction amine à l'extrémité du polymère, moulage...).

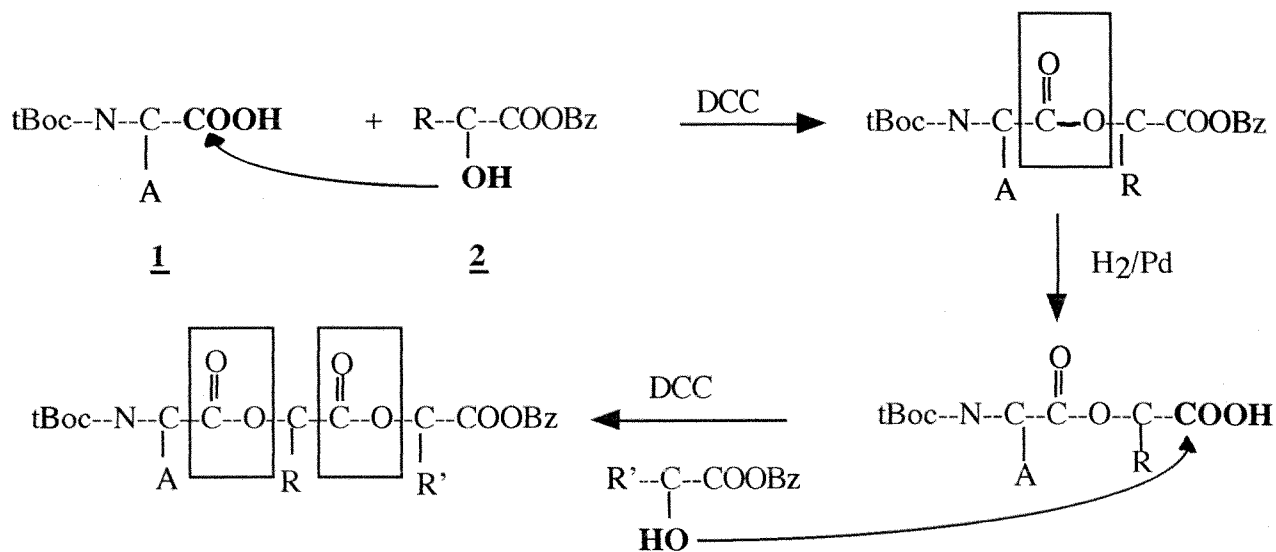


fig. 6

→ Réaction de la fonction amine de l'AA (synthèse en phase liquide)

La deuxième méthode (fig. 7) crée une **liaison amide** entre l'acide aminé et l'hydroxyacide en protégeant, à l'inverse du cas précédent, la fonction acide de l'acide aminé et la fonction hydroxy de l'hydroxyacide. La chaîne polymère croît selon les mêmes principes que précédemment. Le groupe fonctionnel à l'extrémité du polymère est alors, dans ce cas, un groupe COOH.

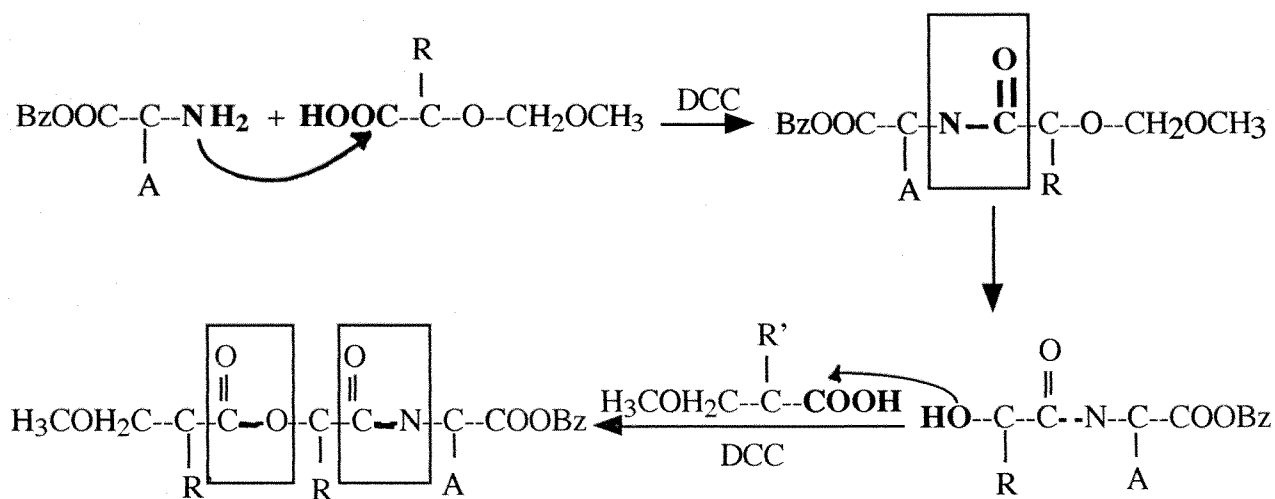


fig. 7

→ Synthèse en phase solide (sur résine)

Une troisième méthode repose sur la possibilité **d'automatiser ces réactions** successives. Elle consiste à créer une liaison covalente (soit ester soit amide) entre un acide aminé et un support polymère, insoluble (résine) de sorte que les molécules n'ayant pas réagi sont enlevées par filtration ou par lavage. Lorsque le polymère est synthétisé, la liaison est rompue.

◆ Synthèses de polydepsipeptides

Polydepsipeptides est le nom donné aux copolymères d' α -amino et d' α -hydroxy acides. Ils comportent une fonction amine terminale sur laquelle pourraient être greffées des antennes.

Des copolymères de L-alanine et d'acide lactique ($R = H$), d'acide α -aminoisobutyrique et d'acide lactique ($R = CH_3$). (fig. 8) ont été synthétisés ^{21,23,24} et entièrement caractérisés (les spectre IR et RMN sont présents dans la publication).

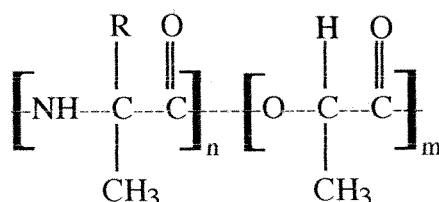


fig. 8 : Copolymères de L-alanine et d'acide lactique ($R = H$),
d'acide α -aminoisobutyrique et d'acide lactique ($R = CH_3$)

On peut citer aussi des copolymères de L-valine et d'acide L-lactique.²²

III.2 - Synthèse de copolymères introduisant des groupes fonctionnels

◆ Barrera *et al.* ²⁵, proposent une synthèse aboutissant à un copolymère d'acide lactique et de lysine porteur d'une ancre $(CH_2)_4NH_2$. Chaque antenne est greffée sur les ancres des différentes séquences de lysine. Ces antennes peuvent être de nature peptidique comme le cas du tripeptide RGD montrant des propriétés d'attachement aux cellules.

Cet exemple de copolymère (acide lactique - lysine) greffé constitue le premier polymère biodégradable synthétique capable d'adhérer à une cellule.

La copolymérisation s'effectue par condensation du dimère cyclique acide lactique - lysine avec un dimère d'acide lactique (le lactide).

Un copolymère block de masse molaire 64 000 g/mol. est obtenu.

L'analyse 1H -RMN a permis d'évaluer à 1,3 %, le pourcentage en mole de lysine dans le copolymère. Afin d'augmenter ce pourcentage, la concentration de dimère (acide L-lactique, lysine) a été augmentée ; ceci a conduit à un polymère amorphe et de masse molaire plus faible.

La déprotection de la fonction amine a aussi entraîné une baisse de la masse molaire (hydrolyse du polymère due à la présence d'eau à l'état de traces) ainsi qu'une diminution de 10 à 30% du nombre de lysines.

Le polymère finalement obtenu contient en pourcentage : 0,35 % d'amines déprotégées, soit en mole : **48 μmol . de fonctions NH_2 / g de copolymère**. Il se dégrade 3 fois plus vite que le PLLA commercial.

Les essais afin de tester l'efficacité des antennes ont effectivement permis d'immobiliser des peptides RGD à la surface d'un film de polymère. Des difficultés ont été rencontrées dans la recherche d'un solvant capable de solubiliser à la fois le polymère, les peptides et l'agent liant (CDI).

Un mélange DMSO/CH₂CL₂ a été utilisé.

Une diminution anormale du nombre de fonctions amines a aussi été constatée, et serait due à une réaction parasite de couplage inter polymères.

En conclusion de cette publication, il est mentionné qu'une quantité infime de peptides suffit à engendrer l'adhésion à une cellule, les résultats obtenus sont donc prometteurs et pourront être appliqués à d'autres ligands.

♦ Yamaoka *et al.* ²⁶, propose une autre méthode de greffage de peptides RGD en utilisant des fonctions COOH. Elles sont produites par hydrolyse, en milieu alcalin, de la surface d'un film de PLLA. Un film de PLLA (d'épaisseur 0,2 mm et de masse molaire $2 \cdot 10^5$ ou $3 \cdot 10^5$), préparé par compression à chaud (220°C), a ainsi été immergé dans une solution de soude 3,75 M. Le milieu réactionnel a ensuite été neutralisé par ajout d'HCL 0,01 M et le polymère lavé à l'eau. Un agent fluorescent ayant une grande réactivité vis à vis des groupes carboxyles (9-anthryl diazométhane (ADAM)) a permis d'évaluer le nombre de fonctions COOH présentes à la surface du film. Les chromatogrammes obtenus par chromatographie en phase gazeuse ont montré que l'hydrolyse ne modifiait ni la masse molaire du polymère, ni la distribution des masses, ni ses propriétés mécaniques. De ces observations a été conclu que seule la surface du film était hydrolysée.

Cette méthode a permis de greffer entre 0,01 et 0,31 mg de RGD / cm² de film.



III.3 - Méthodes ne faisant pas intervenir de liaisons covalentes entre le polymère et les antennes

♦ Enrobage des sphères par un autre polymère comportant des ligands

Maruyama *et al.* ²⁷ proposent une méthode permettant la synthèse de nanoparticules de PLA ou de polystyrène comportant des chaînes carbohydrates à leur surface. Ces chaînes ne sont pas chimiquement liées au polymère. En effet, les sphères de PLA sont au cours de leur formation, enrobées d'un polymère contenant des carbohydrates : le PVGA ou le PVLA (fig..

Les carbohydrates sont les agents de reconnaissance entre les cellules; les carbohydrates utilisés dans cette publication reconnaissent les hépatocytes.

♦ Attachement de peptides contenant le tripeptide RGD sur une surface solide ²⁸

Un groupement hydrophobe (acides aminés hydrophobes, acides gras) attaché à des peptides permet de faciliter leur attachement à une surface solide (polystyrène, polycarbonate, silicone, polyuréthane, PLA...). Les peptides ainsi que la surface sont mises en solution aqueuse ; lorsque ce milieu sera séché, le domaine hydrophobe de chaque peptide adhèrera à la surface.

III.4 - Conclusion

Toutes les publications s'accordent à dire que l'utilisation du PLA en médecine est très prometteuse. De plus, pouvoir greffer des antennes bioactives permettant la reconnaissance entre cellules sur des copolymères de PLA avec ancres, lui assurerait un avenir encore plus prometteur.

Cependant, aussi loin que cette recherche bibliographique a permis d'aller, les publications relatant le greffage sur le PLA ou ces copolymères ne concernent que les antennes peptidiques RGD. Il existe en effet d'autres ligands (comme les carbohydrates) capables de se lier à des récepteurs extracellulaires, mais ils n'ont apparemment encore jamais été greffés sur les copolymères du PLA.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

I - Présentation

La norme Z44 005 : “Documentation - Références bibliographiques : contenu, forme et structure” a servi de base pour la présentation des références d’articles de périodiques, de brevets, de publications en série et de thèses trouvés lors de la recherche.

➡ Les articles de périodiques seront ainsi référencés selon la structure suivante :

- **NOM, puis INITIALES DES PRÉNOMS.**, en majuscule. Si il y a plusieurs auteurs, ceux-ci seront séparé par des virgules. Au delà de trois, on indiquera la mention ‘*et al*’,
- Titre de l’article,
- *Titre du journal hôte*, en italique, et abrégé selon la norme lorsque cela n’entraîne pas d’ambiguïté,
- Éléments d’identification du périodique et de l’article: année, volume, numéro, pages.

➡ les brevets selon la structure suivante :

DEPOSANT, *Titre du brevet*, **NOM** de l’inventeur, Pays de dépôt, N° de publication, Date de publication (année-mois-jour).

➡ Les thèses selon la structure suivante :

AUTEUR, INITIALES DE PRÉNOM, *Titre*, Niveau de la thèse : organisme de soutenance, année, nombre de pages.

➡ Les publications en série selon la structure suivante :

Titre, Edited by **INITIALES DU PRÉNOM. ET NOM** du responsable de publication, volume, Lieu de publication : éditeur, année, nombre de pages.

II - Classement

Comme l’indique la norme, “les références bibliographiques sont disposées selon une succession numérique correspondant à l’ordre de citation dans le texte”, qui est ici la partie synthèse bibliographique.

BIBLIOGRAPHIE

1. **SPINU, M., JACKSON, C., KEATING, M.Y. et al.**, Material design in poly(lactic acid) systems : block copolymers, star homo- and copolymers, and stereocomplexes, *Journal of Macromolecular Science - pure appl. chem.*, 1996, Vol. A33, No. 10, pp.1497-1530.
2. **CONTI, B., PAVANETTO, F., GENTA, I.**, Use of polylactic acid for the preparation of microparticulate drug delivery systems, *J. microencapsulation*, 1992, Vol. 9, No. 2, p. 153-166.
3. **SANCHEZ-BARIERO, A. et al.**, Controlled drug delivery systems based on lactide/glycolide polymers and copolymers, *Farm. Clin.*, 1991, Vol. 8, No. 9, pp. 824-842.
[*Chem. Abstr.*, 1993, Vol. 119, R 34154 u].
4. **AJIOKA, M., ENOMOTO, K., SUZUKI, K. et al.**, Basic properties of polylactic acid produced by the direct condensation polymerisation of lactic acid. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1995, Vol.68, p.2125-2131.
5. **KHARAS, G.B., SANCHEZ-REIRA, F., SEVENSON, D.**, Polymers of lactic acid, conference proceeding, *Plast. Microbes*, 1994, p. 93-137.
6. **ATHANASIOU, K.A., NIEDERAUER, G.G., AGRAWAL, C.M.**, Sterilization, toxicity, biocompatibility and clinical applications of polylactic acid/polyglycolic acid copolymers, *Biomaterials*, 1996, Vol. 17, No. 2, p. 93-102.
7. **UNITED STATES SURGICAL CORP.**, AA-terminated polyesters for medical prosthetics, **MATHEW, H.**, US, brevet N° 5 248 761, 1992-08-12.
[*Chem. Abstr.*, 1994, Vol. 120, P 38202 b].
8. **MIRTSU TOATSU CHEMICALS**, Thermel-curable polymer composition for biodegradable injection syringe, **MINAZU ., AJIOKA, M., YAMAGUCHI, T.**, JP, brevet N° 06 304 253, 1994-11-01.
[*Chem. Abstr.*, 1994, Vol. 122, 101098 f].
9. **REDDI, A.H.**, Symbiosis of biotechnology and biomaterials: applications in tissue engineering of bone and cartilage, *J. Cell. Biochem.*, 1994, Vol. 56, No. 2, p. 192-195.
10. **CASTAN, C.**, *Synthèse, caractérisation et évaluation de copolymères de proline et d'acide glutamique méthacrylés pour la réalisation de matrices à libération contrôlée injectables, biodégradables et photoréticulables*, thèse : Sci., Univ. Montpellier 2, 1993, 253 p.
11. *Encyclopaedia of Polymer Science and Engineering* (second edition), **MARK, BIKALES, OVERBERGER, MENGES**, 1988.

12. **UCHIDA, T., YAGI, A., ODA, Y. et al.**, Instability of bovine insulin in poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) microspheres, *Chem. Pharm. Bull.*, 1996, Vol. 44, No. 1, p. 235-236.
13. **BECK, L.R., TICE, T.R.**, Poly(lactic acid) and poly(lactic-co-glycolique) contraceptive delivery systems, *Adv. Hum. Fert. Reprod. Endocrinol.*, 1983, Vol. 2, p. 175-199.
[*Chem. Abstr.*, 1983, Vol. 100, 91177 k].
14. **WANG, Y.M., HITOSHI, S., ADACHI, I. et al.**, Preparation and characterisation of PLA microspheres for targeted delivery of a novel Anticancer agent, Taxol, *Chem. Pharm. Bull.*, 1996, Vol.44, No. 10, p. 1935-1940.
15. **ROLLAND, A., WAGNER, N., CHATELUS, A. et al.**, Site-specific drug delivery to pilosebaceous structures using polymeric microspheres, *Pharm. res.*, 1993, Vol. 10, No. 12, p. 1738-1744.
16. **OKADA, H., TOGUCHI, H.**, Biodegradable microspheres in drug delivery, *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.*, 1995, Vol.12, No.1, p.1-99.
17. **HUVE, P., VERRECCHIA, T., BAZILE, D. et al.**, Simultaneous use of size-exclusion chromatography and photon correlation spectroscopy for the characterization of poly(lactic acid) nanoparticles, *J. Chromatogr. A*, 1994, Vol. 675, p. 129-139.
18. **UCHIDA, T., GOTO, S., FOSTER, T.P.**, Particule size studies for subcutaneous delivery of poly(lactide-co-glycolide) microspheres containing ovalbumin as vaccine formulation, *J. Pharm. Pharmacol.*, 1995, Vol. 47, No. 7, p.556-560.
19. **DESANTIS, P., KOVACS, A.**, *J. Biopolymers*, 1968, Vol. 6, p 299.
20. *Adv. Polym. Sci., Polymers in medicine*, Edited by K. DUDSEK, Vol. 57, Berlin : Springer-Verlag, 1983, 168 p.
21. **GOODMAN, M., GILON, C.**, Polydepsipeptides I. Synthesis and characterisation of copolymers of α -amine and α -hydroxy acids, *Israel Journal of Chemistry*, 1972, Vol. 10, pp.867-879.
22. **GOODMAN, M., GILON, C., PALUMBO, M. et al.**, Polydepsipeptides II. Synthesis and Preliminary Conformational Studies of an alternating α -amino and α -hydroxy acid polymer, *Israel Journal of Chemistry*, 1974, Vol. 12, Nos. 1-2, pp.67-77.
23. **INGWALL, R.T., GILON, C., GOODMAN, M.**, Polydepsipeptides. V. Experimental conformational analysis of poly (L-alanyl-L-lactic acid) and related model compounds, *Macromolecules*, 1976, Vol. 9, No. 5, pp. 802-808.
24. **MATHIAS L.J., FULLER, W.D., NISSEN, D. et al.**, Polydepsipeptides. VI. Synthesis of sequential polymers containing varying ratios of L-alanine and L-lactic acid, *Macromolecules*, 1978, Vol. 11, No. 3, pp.534-539.

25. **BARRERA, D.A., ZYLSTRA, E., LANSBURY, P.T., LANGER, R.**, Synthesis and RGD Peptide Modification of a New Biodegradable Copolymer: Poly(lactic acid-co-lysine). *J. Am. Chem. Soc.*, 1993, Vol. 115, p. 11010-11011.
26. **YAMAOKA, T., TAKEBE, Y., KIMURA, Y.**, Surface modification of poly(lactic acid) with bioactive peptides, *adv. Biomater. Biomed. Eng. Drug Delivery Syst.*, (Iketani Conf. biomed. Polym.) 1996, pp.209-210.
27. **MARUYAMA, A., ISHIHARA, T., ADACHI, N. et al.**, Preparation of nanoparticles bearing high density carbohydrate chains using carbohydrate-carrying polymers as emulsifier, *Biomaterials*, 1994, Vol. 15, No. 13, p. 1035-1042.
28. **LA JOLLA CANCER RESEARCH FOUNDATION**, *Hydrophobic attachment site for adhesion peptides*, PIERSCHBACHER, M.D., HONSIK, C., DREISBACH, L., WO Brevet N° 90 11 297, 1990-10-04.
[*Chem. Abstr.*, 1990, Vol. 115, 68035 p].
29. **EVORA, C., SORIANO, I., DELGADO, A.**, Use of surfactants in Polylactic Acid protein microspheres, *Drug development and industrial pharmacy*, 1995, Vol. 21, No. 5, p. 549.
30. **YOUXIN, L., KISSEL, T.**, Synthesis and properties of biodegradable ABA triblock copolymers consisting of poly(L-lactic acid) or poly(L-lactic-co-glycolic acid) A blocks attaches to central poly(oxyethylene) B-blocks, *J. Control. Release.*, 1993, Vol. 27, No. 3, p. 247-257.
31. **DIAZ, A., MUNGUIA, O., FARINA, J. et al.**, Lactoyl-lactic acid determination of DL-lactide as starting material in the synthesis of polylactic acid, *Drug development and industrial pharmacy*, 1995, Vol. 21, No. 14, p. 1697-1703.
32. **TONELLI, A.E.**, Polylactides in channels, *Macromolecules*, 1992, Vol. 25, No.13, p. 3581-3584.
[*Chem. Abstr.*, 1992, Vol. 117, 8803 u].
33. **TSUJI, H., HORII, F., NAKAGAWA, M. et al.**, Stereocomplex formation between enantiomeric poly(lactic acids), Phase structure of stereocomplex crystallised from a dilute acetonitrile solution as studied by high-resolution solid state C¹³-NMR, *Macromolecules*, 1992, Vol.25, No. 16, p.4114-4118.
[*Chem. Abstr.*, 1992, Vol. 117, 49526 z].
34. **KOYAMA, N., DOI, Y.**, Morphology and biodegradability of a binary blend of poly((R)-3-hydroxybutyric acid) and poly((R,S)-lactic acid), *Can. J. Micro.*, 1995, Vol. 41 (suppl. 1), p. 316-322.
35. **BANN & ALLEGRETTI, Ltd**, *Covalent microparticule-drug conjugates for biological targeting*, YATVIN MB et al. US Brevet N°5 543 391, 1996-08-06.