

UNIVERSITE MOHAMMED V - RABAT
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT-

ANNEE: 2018

THESE N°: 26

APPLICATION DES NANOVÉCTEURS
DANS LE DOMAINE DE LA SANTÉ

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le :.....

PAR

Mr. Hamid SALHI

Né le 11 Avril 1992 à Tiznit

Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie

MOTS CLES : Nanoparticules – Fabrication – Ciblage thérapeutique – Santé.

JURY

Mme. S. TELLAL

Professeur de Biochimie

PRESIDENTE

Mr. A. LAATIRIS

Professeur de Pharmacie Galénique

RAPPORTEUR

Mr. Y. SEKHSOKH

Professeur de Microbiologie

Mr. J. EL HARTI

Professeur de Chimie Thérapeutique

JUGES

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

قالوا سبحانك لا علم لنا إلا ما

علمتنا

إنك أنت العليم الحكيم

سورة البقرة: الآية 32

صِدْقَةُ اللَّهِ الْعَظِيمِ



**UNIVERSITE MOHAMMED V DE RABAT
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT**

DOYENS HONORAIRES :

1962 – 1969 : Professeur Abdelmalek FARAJ
1969 – 1974 : Professeur Abdellatif BERBICH
1974 – 1981 : Professeur Bachir LAZRAK
1981 – 1989 : Professeur Taieb CHKILI
1989 – 1997 : Professeur Mohamed Tahar ALAOUI
1997 – 2003 : Professeur Abdelmajid BELMAHI
2003 – 2013 : Professeur Najia HAJJAJ - HASSOUNI



ADMINISTRATION :

Doyen : Professeur Mohamed ADNAOUI
Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et étudiantes
Professeur Mohammed AHALLAT
Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération
Professeur Taoufiq DAKKA
Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie
Professeur Jamal TAOUFIK
Secrétaire Général : Mr. Mohamed KARRA

**1- ENSEIGNANTS-CHERCHEURS MEDECINS
ET
PHARMACIENS**

PROFESSEURS :

Décembre 1984

Pr. MAAOUNI Abdelaziz	Médecine Interne – <i>Clinique Royale</i>
Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi	Anesthésie -Réanimation
Pr. SETTAF Abdellatif	pathologie Chirurgicale

Novembre et Décembre 1985

Pr. BENSALD Younes	Pathologie Chirurgicale
--------------------	-------------------------

Janvier, Février et Décembre 1987

Pr. CHAHED OUZZANI Houria	Gastro-Entérologie
Pr. LACHKAR Hassan	Médecine Interne
Pr. YAHYAOUI Mohamed	Neurologie

Décembre 1988

Pr. BENHAMAMOUCH Mohamed Najib	Chirurgie Pédiatrique
Pr. DAFIRI Rachida	Radiologie

Décembre 1989

Pr. ADNAOUI Mohamed
Pr. CHAD Bouziane
Pr. OUAZZANI Taïbi Mohamed Réda

Médecine Interne –Doyen de la FMPR
Pathologie Chirurgicale
Neurologie

Janvier et Novembre 1990

Pr. CHKOFF Rachid
Pr. HACHIM Mohammed*
Pr. KHARBACH Aïcha
Pr. MANSOURI Fatima
Pr. TAZI Saoud Anas

Pathologie Chirurgicale
Médecine-Interne
Gynécologie -Obstétrique
Anatomie-Pathologique
Anesthésie Réanimation

Février Avril Juillet et Décembre 1991

Pr. AL HAMANY Zaïtounia
Pr. AZZOUZI Abderrahim
Pr. BAYAHIA Rabéa
Pr. BELKOUCHI Abdelkader
Pr. BENCHEKROUN Belabbes Abdellatif
Pr. BENSOUA Yahia
Pr. BERRAHO Amina
Pr. BEZZAD Rachid
Pr. CHABRAOUI Layachi
Pr. CHERRAH Yahia
Pr. CHOKAIRI Omar
Pr. KHATTAB Mohamed
Pr. SOULAYMANI Rachida
Pr. TAOUFIK Jamal

Anatomie-Pathologique
Anesthésie Réanimation –Doyen de la FMPO
Néphrologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pharmacie galénique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Biochimie et Chimie
Pharmacologie
Histologie Embryologie
Pédiatrie
Pharmacologie – Dir. du Centre National PV
Chimie thérapeutique V.D à la pharmacie+Dir du CEDOC

Décembre 1992

Pr. AHALLAT Mohamed
Pr. BENSOUA Adil
Pr. BOUJIDA Mohamed Najib
Pr. CHAHED OUAZZANI Laaziza
Pr. CHRAIBI Chafiq
Pr. DEHAYNI Mohamed*
Pr. EL OUAHABI Abdessamad
Pr. FELLAT Rokaya
Pr. GHAFIR Driss*
Pr. JIDDANE Mohamed
Pr. TAGHY Ahmed
Pr. ZOUHDI Mimoun

Chirurgie Générale V.D Aff. Acad. et Estud
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Gastro-Entérologie
Gynécologie Obstétrique
Gynécologie Obstétrique
Neurochirurgie
Cardiologie
Médecine Interne
Anatomie
Chirurgie Générale
Microbiologie



Mars 1994

Pr. BENJAAFAR Nouredine
Pr. BEN RAIS Nozha
Pr. CAOUI Malika
Pr. CHRAIBI Abdelmjid

FMPA

Pr. EL AMRANI Sabah
Pr. EL BARDOUNI Ahmed
Pr. EL HASSANI My Rachid
Pr. ERROUGANI Abdelkader
Pr. ESSAKALI Malika
Pr. ETTAYEBI Fouad
Pr. HADRI Larbi*
Pr. HASSAM Badredine
Pr. IFRINE Lahssan
Pr. JELTHI Ahmed
Pr. MAHFOUD Mustapha
Pr. RHRAB Brahim
Pr. SENOUCI Karima

Mars 1994

Pr. ABBAR Mohamed*
Pr. ABDELHAK M'barek
Pr. BELAIDI Halima
Pr. BENTAHILA Abdelali
Pr. BENYAHIA Mohammed Ali
Pr. BERRADA Mohamed Saleh
Pr. CHAMI Ilham
Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae
Pr. JALIL Abdelouahed
Pr. LAKHDAR Amina
Pr. MOUANE Nezha

Mars 1995

Pr. ABOUQUAL Redouane
Pr. AMRAOUI Mohamed
Pr. BAIDADA Abdelaziz
Pr. BARGACH Samir
Pr. CHAARI Jilali*
Pr. DIMOU M'barek*
Pr. DRISSI KAMILI Med Nordine*
Pr. EL MESNAOUI Abbes
Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila
Pr. HDA Abdelhamid*
Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed
Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia

Radiothérapie
Biophysique
Biophysique
Endocrinologie et Maladies Métaboliques *Doyen de la*

Gynécologie Obstétrique
Traumato-Orthopédie
Radiologie
Chirurgie Générale- *Directeur CHIS*
Immunologie
Chirurgie Pédiatrique
Médecine Interne
Dermatologie
Chirurgie Générale
Anatomie Pathologique
Traumatologie – Orthopédie
Gynécologie –Obstétrique
Dermatologie

Urologie
Chirurgie – Pédiatrique
Neurologie
Pédiatrie
Gynécologie – Obstétrique
Traumatologie – Orthopédie
Radiologie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie

Réanimation Médicale
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Gynécologie Obstétrique
Médecine Interne
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Oto-Rhino-Laryngologie
Cardiologie - *Directeur HMI Med V*
Urologie
Ophtalmologie

Pr. SEFIANI Abdelaziz
Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Décembre 1996

Pr. AMIL Touriya*
Pr. BELKACEM Rachid
Pr. BOULANOUAR Abdelkrim
Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan
Pr. GAOUZI Ahmed
Pr. MAHFOUDI M'barek*
Pr. OUADGHIRI Mohamed
Pr. OUZEDDOUN Naima
Pr. ZBIR EL Mehdi*

Novembre 1997

Pr. ALAMI Mohamed Hassan
Pr. BEN SLIMANE Lounis
Pr. BIROUK Nazha
Pr. ERREIMI Naima
Pr. FELLAT Nadia
Pr. HAIMEUR Charki*
Pr. KADDOURI Nouredine
Pr. KOUTANI Abdellatif
Pr. LAHLOU Mohamed Khalid
Pr. MAHRAOUI CHAFIQ
Pr. TAOUFIQ Jallal
Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Novembre 1998

Pr. AFIFI RAJAA
Pr. BENOMAR ALI
Pr. BOUGTAB Abdesslam
Pr. ER RIHANI Hassan
Pr. BENKIRANE Majid*
Pr. KHATOURI ALI*

Janvier 2000

Pr. ABID Ahmed*
Pr. AIT OUMAR Hassan
Pr. BENJELLOUN Dakhama Badr.Sououd
Pr. BOURKADI Jamal-Eddine
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer
Pr. ECHARRAB El Mahjoub
Pr. EL FTOUH Mustapha
Pr. EL MOSTARCHID Brahim*
Pr. ISMAILI Hassane*
Pr. MAHMOUDI Abdelkrim*

Génétique
Réanimation Médicale

Radiologie
Chirurgie Pédiatrie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Radiologie
Traumatologie-Orthopédie
Néphrologie
Cardiologie



Gynécologie-Obstétrique
Urologie
Neurologie
Pédiatrie
Cardiologie
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Pédiatrique
Urologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Psychiatrie
Gynécologie Obstétrique

Gastro-Entérologie
Neurologie – *Doyen de la FMP Abulcassis*
Chirurgie Générale
Oncologie Médicale
Hématologie
Cardiologie



Pneumophtisiologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Pneumo-phtisiologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pneumo-phtisiologie
Neurochirurgie
Traumatologie Orthopédie- *Dir. Hop. Av. Marr.*
Anesthésie-Réanimation *Inspecteur du SSM*

Pr. TACHINANTE Rajae
Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Novembre 2000

Pr. AIDI Saadia
Pr. AJANA Fatima Zohra
Pr. BENAMR Said
Pr. CHERTI Mohammed
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma
Pr. EL HASSANI Amine
Pr. EL KHADER Khalid
Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*
Pr. GHARBI Mohamed El Hassan
Pr. MAHASSINI Najat
Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae
Pr. ROUIMI Abdelhadi*

Décembre 2000

Pr. ZOHAIR ABDELAH*

Décembre 2001

Pr. BALKHI Hicham*
Pr. BENABDELJLIL Maria
Pr. BENAMAR Loubna
Pr. BENAMOR Jouda
Pr. BENELBARHDADI Imane
Pr. BENNANI Rajae
Pr. BENOUACHANE Thami
Pr. BEZZA Ahmed*
Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi
Pr. BOUMDIN El Hassane*
Pr. CHAT Latifa
Pr. DAALI Mustapha*
Pr. DRISSI Sidi Mourad*
Pr. EL HIJRI Ahmed
Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid
Pr. EL MADHI Tarik
Pr. EL OUNANI Mohamed
Pr. ETTAIR Said
Pr. GAZZAZ Miloudi*
Pr. HRORA Abdelmalek
Pr. KABBAJ Saad
Pr. KABIRI EL Hassane*
Pr. LAMRANI Moulay Omar
Pr. LEKEHAL Brahim
Pr. MAHASSIN Fattouma*

Anesthésie-Réanimation
Médecine Interne

Neurologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Générale
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Pédiatrie **Directeur Hop. Chekikh Zaied**
Urologie
Rhumatologie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Anatomie Pathologique
Pédiatrie
Neurologie

ORL

Anesthésie-Réanimation
Neurologie
Néphrologie
Pneumo-phtisiologie
Gastro-Entérologie
Cardiologie
Pédiatrie
Rhumatologie
Anatomie
Radiologie
Radiologie
Chirurgie Générale
Radiologie
Anesthésie-Réanimation
Neuro-Chirurgie
Chirurgie-Pédiatrique
Chirurgie Générale
Pédiatrie **Directeur. Hop.d'Enfants**
Neuro-Chirurgie
Chirurgie Générale
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Thoracique
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Médecine Interne



Pr. MEDARHRI Jalil
Pr. MIKDAME Mohammed*
Pr. MOHSINE Raouf
Pr. NOUINI Yassine
Pr. SABBAH Farid
Pr. SEFIANI Yasser
Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia

Chirurgie Générale
Hématologie Clinique
Chirurgie Générale
Urologie *Directeur Hôpital Ibn Sina*
Chirurgie Générale
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Pédiatrie

Décembre 2002

Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*
Pr. AMEUR Ahmed *
Pr. AMRI Rachida
Pr. AOURARH Aziz*
Pr. BAMOU Youssef *
Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*
Pr. BENZEKRI Laila
Pr. BENZZOUBEIR Nadia
Pr. BERNOUSSI Zakiya
Pr. BICHRA Mohamed Zakariya*
Pr. CHOHO Abdelkrim *
Pr. CHKIRATE Bouchra
Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair
Pr. EL HAOURI Mohamed *
Pr. FILALI ADIB Abdelhai
Pr. HAJJI Zakia
Pr. IKEN Ali
Pr. JAAFAR Abdeloihab*
Pr. KRIOUILE Yamina
Pr. LAGHMARI Mina
Pr. MABROUK Hfid*
Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*
Pr. OUJILAL Abdelilah
Pr. RACHID Khalid *
Pr. RAISS Mohamed
Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha*
Pr. RHOU Hakima
Pr. SIAH Samir *
Pr. THIMOU Amal
Pr. ZENTAR Aziz*

Anatomie Pathologique
Urologie
Cardiologie
Gastro-Entérologie
Biochimie-Chimie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Anatomie Pathologique
Psychiatrie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Chirurgie Pédiatrique
Dermatologie
Gynécologie Obstétrique
Ophtalmologie
Urologie
Traumatologie Orthopédie
Pédiatrie
Ophtalmologie
Traumatologie Orthopédie
Gynécologie Obstétrique
Oto-Rhino-Laryngologie
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Générale
Pneumophtisiologie
Néphrologie
Anesthésie Réanimation
Pédiatrie
Chirurgie Générale

Janvier 2004

Pr. ABDELLAH El Hassan
Pr. AMRANI Mariam
Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
Pr. BENKIRANE Ahmed*

Ophtalmologie
Anatomie Pathologique
Oto-Rhino-Laryngologie
Gastro-Entérologie

Pr. BOUGHALEM Mohamed*
Pr. BOULAADAS Malik
Pr. BOURAZZA Ahmed*
Pr. CHAGAR Belkacem*
Pr. CHERRADI Nadia
Pr. EL FENNI Jamal*
Pr. EL HANCHI ZAKI
Pr. EL KHORASSANI Mohamed
Pr. EL YOUNASSI Badreddine*
Pr. HACHI Hafid
Pr. JABOUIRIK Fatima
Pr. KHARMAZ Mohamed
Pr. MOUGHIL Said
Pr. OUBAAZ Abdelbarre*
Pr. TARIB Abdelilah*
Pr. TIJAMI Fouad
Pr. ZARZUR Jamila

Janvier 2005

Pr. ABBASSI Abdellah
Pr. AL KANDRY Sif Eddine*
Pr. ALLALI Fadoua
Pr. AMAZOUZI Abdellah
Pr. AZIZ Nouredine*

Pr. ACHOUR Abdessamad*
Pr. AIT HOUSSA Mahdi*
Pr. AMHAJJI Larbi*
Pr. AOUI Sarra
Pr. BAITE Abdelouahed*
Pr. BALOUCH Lhousaine*
Pr. BENZIANE Hamid*
Pr. BOUTIMZINE Nourdine
Pr. CHARKAOUI Naoual*
Pr. EHIRCHIOU Abdelkader*
Pr. ELABSI Mohamed
Pr. EL MOUSSAOUI Rachid
Pr. EL OMARI Fatima
Pr. GHARIB Nouredine
Pr. HADADI Khalid*
Pr. ICHOU Mohamed*
Pr. ISMAILI Nadia
Pr. KEBDANI Tayeb
Pr. LALAOUI SALIM Jaafar*
Pr. LOUZI Lhousain*

Anesthésie Réanimation
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
Neurologie
Traumatologie Orthopédie
Anatomie Pathologique
Radiologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie
Cardiologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Ophtalmologie
Pharmacie Clinique
Chirurgie Générale
Cardiologie

Chirurgie Réparatrice et Plastique
Chirurgie Générale
Rhumatologie
Ophtalmologie
Radiologie



Chirurgie générale
Chirurgie cardio vasculaire
Traumatologie orthopédie
Parasitologie
Anesthésie réanimation **Directeur ERSM**
Biochimie-chimie
Pharmacie clinique
Ophtalmologie
Pharmacie galénique
Chirurgie générale
Chirurgie générale
Anesthésie réanimation
Psychiatrie
Chirurgie plastique et réparatrice
Radiothérapie
Oncologie médicale
Dermatologie
Radiothérapie
Anesthésie réanimation
Microbiologie

Pr. MADANI Naoufel
Pr. MAHI Mohamed*
Pr. MARC Karima
Pr. MASRAR Azlarab
Pr. MRABET Mustapha*
Pr. MRANI Saad*
Pr. OUZZIF Ez zohra*
Pr. RABHI Monsef*
Pr. RADOUANE Bouchaib*
Pr. SEFFAR Myriame
Pr. SEKHSOKH Yessine*
Pr. SIFAT Hassan*
Pr. TABERKANET Mustafa*
Pr. TACHFOUTI Samira
Pr. TAJDINE Mohammed Tariq*
Pr. TANANE Mansour*
Pr. TLIGUI Houssain
Pr. TOUATI Zakia

Décembre 2007

Pr. DOUHAL ABDERRAHMAN

Décembre 2008

Pr ZOUBIR Mohamed*
Pr TAHIRI My El Hassan*

Mars 2009

Pr. ABOUZAHIR Ali*
Pr. AGDR Aomar*
Pr. AIT ALI Abdelmounaim*
Pr. AIT BENHADDOU El hachmia
Pr. AKHADDAR Ali*
Pr. ALLALI Nazik
Pr. AMINE Bouchra
Pr. ARKHA Yassir
Pr. BELYAMANI Lahcen*
Pr. BJIJOU Younes
Pr. BOUHSAIN Sanae*
Pr. BOUI Mohammed*
Pr. BOUNAIM Ahmed*
Pr. BOUSSOUGA Mostapha*
Pr. CHAKOUR Mohammed *
Pr. CHTATA Hassan Toufik*
Pr. DOGHMI Kamal*
Pr. EL MALKI Hadj Omar
Pr. EL OUENNASS Mostapha*

Réanimation médicale
Radiologie
Pneumo phtisiologie
Hématologique
Médecine préventive santé publique et hygiène
Virologie
Biochimie-chimie
Médecine interne
Radiologie
Microbiologie
Microbiologie
Radiothérapie
Chirurgie vasculaire périphérique
Ophtalmologie
Chirurgie générale
Traumatologie orthopédie
Parasitologie
Cardiologie



Ophtalmologie

Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale

Médecine interne
Pédiatre
Chirurgie Générale
Neurologie
Neuro-chirurgie
Radiologie
Rhumatologie
Neuro-chirurgie
Anesthésie Réanimation
Anatomie
Biochimie-chimie
Dermatologie
Chirurgie Générale
Traumatologie orthopédique
Hématologie biologique
Chirurgie vasculaire périphérique
Hématologie clinique
Chirurgie Générale
Microbiologie

Pr. ENNIBI Khalid*
Pr. FATHI Khalid
Pr. HASSIKOU Hasna *
Pr. KABBAJ Nawal
Pr. KABIRI Meryem
Pr. KARBOUBI Lamya
Pr. L'KASSIMI Hachemi*
Pr. LAMSAOURI Jamal*
Pr. MARMADE Lahcen
Pr. MESKINI Toufik
Pr. MESSAOUDI Nezha *
Pr. MSSROURI Rahal
Pr. NASSAR Ittimade
Pr. OUKERRAJ Latifa
Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani *

PROFESSEURS AGREGES :

Octobre 2010

Pr. ALILOU Mustapha
Pr. AMEZIANE Taoufiq*
Pr. BELAGUID Abdelaziz
Pr. BOUAITY Brahim*
Pr. CHADLI Mariama*
Pr. CHEMSI Mohamed*
Pr. DAMI Abdellah*
Pr. DARBI Abdellatif*
Pr. DENDANE Mohammed Anouar
Pr. EL HAFIDI Naima
Pr. EL KHARRAS Abdennasser*

Pr. EL MAZOUZ Samir
Pr. EL SAYEGH Hachem
Pr. ERRABIH Ikram
Pr. LAMALMI Najat
Pr. MOSADIK Ahlam
Pr. MOUJAHID Mountassir*
Pr. NAZIH Mouna*
Pr. ZOUAIDIA Fouad

Mai 2012

Pr. AMRANI Abdelouahed
Pr. ABOUELALAA Khalil*
Pr. BELAIZI Mohamed*
Pr. BENCHEBBA Driss*
Pr. DRISSI Mohamed*

Médecine interne
Gynécologie obstétrique
Rhumatologie
Gastro-entérologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Microbiologie **Directeur Hôpital My Ismail**
Chimie Thérapeutique
Chirurgie Cardio-vasculaire
Pédiatrie
Hématologie biologique
Chirurgie Générale
Radiologie
Cardiologie
Pneumo-ptisiologie



Anesthésie réanimation
Médecine interne
Physiologie
ORL
Microbiologie
Médecine aéronautique
Biochimie chimie
Radiologie
Chirurgie pédiatrique
Pédiatrie
Radiologie

Chirurgie plastique et réparatrice
Urologie
Gastro entérologie
Anatomie pathologique
Anesthésie Réanimation
Chirurgie générale
Hématologie
Anatomie pathologique

Chirurgie Pédiatrique
Anesthésie Réanimation
Psychiatrie
Traumatologie Orthopédique
Anesthésie Réanimation

Pr. EL ALAOUI MHAMDI Mouna
Pr. EL KHATTABI Abdessadek*
Pr. EL OUAZZANI Hanane*
Pr. ER-RAJI Mounir
Pr. JAHID Ahmed
Pr. MEHSSANI Jamal*
Pr. RAISSOUNI Maha*

Chirurgie Générale
Médecine Interne
Pneumophtisiologie
Chirurgie Pédiatrique
Anatomie pathologique
Psychiatrie
Cardiologie

Février 2013

Pr. AHID Samir
Pr. AIT EL CADI Mina
Pr. AMRANI HANCHI Laila
Pr. AMOUR Mourad
Pr. AWAB Almahdi
Pr. BELAYACHI Jihane
Pr. BELKHADIR Zakaria Houssain
Pr. BENCHEKROUN Laila
Pr. BENKIRANE Souad
Pr. BENNANA Ahmed*
0.
Pr. BENSGHIR Mustapha*
Pr. BENYAHIA Mohammed*
Pr. BOUATIA Mustapha
Pr. BOUABID Ahmed Salim*
Pr. BOUTARBOUCH Mahjouba
Pr. CHAIB Ali*
Pr. DENDANE Tarek
Pr. DINI Nouzha*
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Mohamed Ali
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Najwa
Pr. ELFATEMI Nizare
Pr. EL GUERROUJ Hasnae
Pr. EL HARTI Jaouad

Pharmacologie – Chimie
Toxicologie
Gastro-Entérologie
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Réanimation Médicale
Anesthésie Réanimation
Biochimie-Chimie
Hématologie
Informatique Pharmaceutique

Anesthésie Réanimation
Néphrologie
Chimie Analytique
Traumatologie Orthopédie
Anatomie
Cardiologie
Réanimation Médicale
Pédiatrie
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Neuro-Chirurgie
Médecine Nucléaire
Chimie Thérapeutique

Pr. EL JOUDI Rachid*
Pr. EL KABABRI Maria
Pr. EL KHANNOUSSI Basma
Pr. EL KHLOUFI Samir
Pr. EL KORAICHI Alae
Pr. EN-NOUALI Hassane*
Pr. ERRGUIG Laila
Pr. FIKRI Meryim
Pr. GHFIR Imade
Pr. IMANE Zineb
Pr. IRAQI Hind

Toxicologie
Pédiatrie
Anatomie Pathologie
Anatomie
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Physiologie
Radiologie
Médecine Nucléaire
Pédiatrie
Endocrinologie et maladies métaboliques



Pr. KABBAJ Hakima
Pr. KADIRI Mohamed*
Pr. LATIB Rachida
Pr. MAAMAR Mouna Fatima Zahra
Pr. MEDDAH Bouchra
Pr. MELHAOUI Adyl
Pr. MRABTI Hind
Pr. NEJJARI Rachid
Pr. OUBEJJA Houda
Pr. OUKABLI Mohamed*
Pr. RAHALI Younes
Pr. RATBI Ilham
Pr. RAHMANI Mounia
Pr. REDA Karim*
Pr. REGRAGUI Wafa
Pr. RKAIN Hanan
Pr. ROSTOM Samira
Pr. ROUAS Lamiaa
Pr. ROUIBAA Fedoua*
Pr. SALIHOUN Mouna
Pr. SAYAH Rochde
Pr. SEDDIK Hassan*
Pr. ZERHOUNI Hicham
Pr. ZINE Ali*

Microbiologie
Psychiatrie
Radiologie
Médecine Interne
Pharmacologie
Neuro-chirurgie
Oncologie Médicale
Pharmacognosie
Chirurgie Pédiatrique
Anatomie Pathologique
Pharmacie Galénique
Génétique
Neurologie
Ophtalmologie
Neurologie
Physiologie
Rhumatologie
Anatomie Pathologique
Gastro-Entérologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Gastro-Entérologie
Chirurgie Pédiatrique
Traumatologie Orthopédie

Avril 2013

Pr. EL KHATIB Mohamed Karim*
Pr. GHOUNDALE Omar*
Pr. ZYANI Mohammad*

Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
Urologie
Médecine Interne

***Enseignants Militaires**



MARS 2014

ACHIR ABDELLAH
BENCHAKROUN MOHAMMED
BOUCHIKH MOHAMMED
EL KABBAJ DRISS
EL MACHTANI IDRISSE SAMIRA
HARDIZI HOUYAM
HASSANI AMALE
HERRAK LAILA
JANANE ABDELLA TIF
JEAIDI ANASS
KOUACH JAOUAD
LEMNOUER ABDELHAY
MAKRAM SANAA
OULAHYANE RACHID
RHISSASSI MOHAMED JMFAR
SABRY MOHAMED
SEKKACH YOUSSEF
TAZL MOUKBA. :LA.KLA.

***Enseignants Militaires**

DECEMBRE 2014

ABILKACEM RACHID'
AIT BOUGHIMA FADILA
BEKKALI HICHAM
BENAZZOU SALMA
BOUABDELLAH MOUNYA
BOUCHRIK MOURAD
DERRAJI SOUFIANE
DOBLALI TAOUFIK
EL AYOUBI EL IDRISSE ALI
EL GHADBANE ABDEDAIM HATIM
EL MARJANY MOHAMMED
FEJJAL NAWFAL
JAHIDI MOHAMED
LAKHAL ZOUHAIR
OUDGHIRI NEZHA
Rami Mohamed
SABIR MARIA
SBAI IDRISSE KARIM

***Enseignants Militaires**

Chirurgie Thoracique
Traumatologie- Orthopédie
Chirurgie Thoracique
Néphrologie
Biochimie-Chimie
Histologie- Embryologie-Cytogénétique
Pédiatrie
Pneumologie
Urologie
Hématologie Biologique
Génécologie-Obstétrique
Microbiologie
Pharmacologie
Chirurgie Pédiatrique
CCV
Cardiologie
Médecine Interne
Génécologie-Obstétrique

Pédiatrie
Médecine Légale
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Maxillo-Faciale
Biochimie-Chimie
Parasitologie
Pharmacie Clinique
Microbiologie
Anatomie
Anesthésie-Réanimation
Radiothérapie
Chirurgie Réparatrice et Plastique
O.R.L
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Pédiatrique
Psychiatrie
Médecine préventive, santé publique et Hyg.



AOUT 2015

Meziane meryem
Tahri latifa

Dermatologie
Rhumatologie

JANVIER 2016

BENKABBOU AMINE
EL ASRI FOUAD
ERRAMI NOUREDDINE
NITASSI SOPHIA

Chirurgie Générale
Ophtalmologie
O.R.L
O.R.L

2- ENSEIGNANTS – CHERCHEURS SCIENTIFIQUES

PROFESSEURS / PRs. HABILITES

Pr. ABOUDRAR Saadia	Physiologie
Pr. ALAMI OUHABI Naima	Biochimie – chimie
Pr. ALAOUI KATIM	Pharmacologie
Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma	Histologie-Embryologie
Pr. ANSAR M'hammed	Chimie Organique et Pharmacie Chimique
Pr. BOUHOUCHE Ahmed	Génétique Humaine
Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz	Applications Pharmaceutiques
Pr. BOURJOUANE Mohamed	Microbiologie
Pr. CHAHED OUAZZANI Lalla Chadia	Biochimie – chimie
Pr. DAKKA Taoufiq	Physiologie
Pr. DRAOUI Mustapha	Chimie Analytique
Pr. EL GUESSABI Lahcen	Pharmacognosie
Pr. ETTAIB Abdelkader	Zootchnie
Pr. FAOUZI Moulay El Abbes	Pharmacologie
Pr. HAMZAOUI Laila	Biophysique
Pr. HMAMOUCHE Mohamed	Chimie Organique
Pr. IBRAHIMI Azeddine	Biologie moléculaire
Pr. KHANFRI Jamal Eddine	Biologie
Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med	Chimie Organique
Pr. REDHA Ahlam	Chimie
Pr. TOUATI Driss	Pharmacognosie
Pr. ZAHIDI Ahmed	Pharmacologie
Pr. ZELLOU Amina	Chimie Organique

*Mise à jour le 14/12/2016 par le
Service des Ressources Humaines*



DÉDICACES

إلى ذكرى والدي

سنواتٍ طويلةٍ مرّت مُنذُ رحيلك، لكنّك حاضرٌ دائماً في كل نجاحاتي

A la mémoire de mon père.

De longues années sont passées depuis ton départ,
mais tu es toujours présent dans toutes
mes réussites

A ma chère mère
FADMA FAIRISS

Aucun mot, aussi expressif qu'il soit, ne saurait remercier
à sa juste valeur l'être qui a consacré sa vie à parfaire notre éducation
avec un dévouement inégal associé à beaucoup de sacrifice.

Vous vous êtes investi à me transmettre le sens de la responsabilité,
de la persévérance et de la droiture.

Merveilleuse maman j'espère que j'ai été à la hauteur de vos espérances.
Que ce modeste travail soit un début de mes recompenses envers vous.

Puisse Dieu vous garder longtemps auprès de nous et vous bénir
infiniment.

Je désire remercier à toute ma famille
pour leur soutien et leur amour
tout au long de mes études.

REMERCIEMENTS

*A notre maître et Présidente de thèse
Madame le professeur S.TELAL
Professeur de Biochimie à la Faculté
de médecine et de pharmacie de Rabat*

Nous sommes très sensibles à l'honneur
et au privilège que vous nous
accordez en acceptant de présider le jury de cette thèse.
Nous sommes forts impressionnés par vos grandes
qualités humaines qui
n'ont d'égaux que votre haute compétence.
Veuillez trouver dans ce travail le témoignage
de notre profond respect et de
notre haute estime.

*A notre maître et rapporteur de thèse
Monsieur le professeur A.LAATIRIS
Professeur de Pharmacie galénique
à la Faculté de médecine et de Pharmacie
de Rabat*

Votre compétence, votre droiture et votre simplicité
sont autant de qualité qui
font de vous quelqu'un d'exceptionnel.

Vous nous avez fait l'honneur de nous confier
ce travail et de veiller à son
élaboration en ne ménageant ni votre temps ni vos conseils.

Aucune dédicace ne saurait exprimer à sa juste
valeur notre gratitude et nos
vifs remerciements.

*A notre maître et juge de thèse
Monsieur le professeur Y. SEKHSOKH
Professeur de Microbiologie à la faculté
de médecine et de Pharmacie de Rabat*

Vous nous faites un grand honneur
en acceptant de juger notre travail.
Veuillez trouver ici, chère maître,
l'expression de notre respectueux
dévouement.

A notre maître et juge de thèse
Monsieur J. EL HARTI
le professeur de la chimie thérapeutique à la faculté
de médecine et de pharmacie de rabat

Nous vous remercions de l'honneur
que vous nous faites en acceptant
de juger ce travail.

Veillez trouver ici l'expression
de notre profonde et respectueuse reconnaissance.

LISTE DES ABREVIATIONS

Afssaps	:	Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé
AH	:	Acide hyaluronique
ANSM	:	Agence nationale de sécurité du médicament
BHE	:	Barrière hémato-encéphalique
C 60	:	Carbon-60
CNRS	:	Centre national de la recherche scientifique
CNT	:	Carbone nanotube
CuO	:	Oxyde de cuivre
DA	:	Degré d'acétylation
Derf	:	Dermatophagoides farine
DFP	:	Düsopropyl fluorophosphate
DMLA	:	Dégénérescence maculaire liée à l'âge
EDTA	:	Acide tétraacétique diamine éthyle
EPR	:	Enhanced permeability and retention effect
ERO	:	Espèces réactives de l'oxygène
Fc	:	Fragment Fc (crystallisable)
FDA	:	Food and Drug Administration
FNP	:	Nanoprécipitation flash
FSH	:	Hormone folliculo-stimulante
G-CSF	:	Granulocyte colony stimulating factor
GS	:	Ganglion sentinelle
HbA1c	:	Hémoglobine glyquée
HDL	:	Lipoprotéines de haute densité
HHP	:	Homogénéisation à haute pression
HLB	:	Hydrophile lipophile balance
IBCA	:	Isobutylcyanacrylate
INSERM	:	Institut national de la santé et de la recherche médicale
IRM	:	Imagerie par résonance magnétique
LDL	:	Lipoprotéines à basse densité
LH	:	Hormone lutéinisante
LTS	:	Liposome thermosensible
MEC	:	Matrice extracellulaire

MLV	:	Multilamellar vesicle
MPs	:	Microparticules
NCBC	:	N-butylcyanoacrylate
NO	:	Monoxyde d'azote
NOS	:	Nitric oxide synthase
NP	:	Nanoparticule
NS	:	Nanosuspensions
OCDE	:	Organisation de coopération et de développement économique
OFX	:	Ofloxacin
PA	:	Principe actif
PACA	:	Poly(alkyl cyanoacrylate)
PEG	:	Poly(éthylène glycol)
PEO	:	Oxyde de polyéthylène
PLA	:	Poly(acide lactique)
PMMA	:	Poly(méthyl méthacrylate)
POE	:	Poly(orthoesters)
PPO	:	Poly(p-phenylene oxide)
PTC	:	PhénylThioCarbamide
PVA	:	Poly(vinyl acetate)
QD	:	Quantum dots
RGD	:	Arginylglycyl-aspartic acid
siRNA	:	Small interfering RNA
SPIO	:	Superparamagnetic iron oxide
SPM	:	Systèmes de phagocytes mononucléés
SRE	:	Système réticulo-endothélial
SUV	:	Small unilamellar vesicle
TAT	:	Trans-Activator of Transcription
TEM	:	Microscopie électronique en transmission
TLCK	:	Tosyllysine chlorométhylcétone
Tm	:	Température moyenne
TRIS	:	Trishydroxyméthylaminométhane
U937	:	Macrophage cell line
USPIO	:	Ultrasmall superparamagnetic iron oxide
Zot	:	Toxine Zonula occludens

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Profil des concentrations du PA au site d'action en fonction du temps avec ou sans vectorisation.	6
Figure 2: Comparaison entre les concentrations au site d'action des systèmes à libération contrôlée et les concentrations systémique d'apparition des effets secondaires après administration du médicament injectable conventionnels.	7
Figure 3: Représentation schématique des deux principaux éléments susceptibles de doter les vecteurs de fonctionnalités (intelligentes): le cœur et la couronne.	8
Figure 4: Modification de la distribution de microparticules magnétiques contenant de la flutamide pour une action ciblée au niveau du rein à l'aide d'un aimant externe.	11
Figure 5: A. Principe de la rupture de liaison sous rayonnement UV	12
Figure 6: A. Schéma pour la formation de micelles, la séquestration de médicaments et la libération PH dépendante de micelles	14
Figure 7: Le passage des systèmes vecteurs à travers l'épithélium intestinal.	17
Figure 8: Représentation schématique des quatre générations de vecteurs	18
Figure 9 : Représentation schématique d'un nanovecteur équipé d'un ligand	21
Figure 10: Différents types des nanovecteurs utilisées pour la vectorisation des médicaments.....	23
Figure 11: Représentation schématique montrant l'application des liposomes dans la vectorisation des médicaments.	24
Figure 12: Comparaison de la taille des nanoparticules à celle des principales structures chimiques et biologiques	25
Figure 13: structure de nanocapsule.....	27
Figure 14: Structure de nanosphère	27
Figure 15: Représentation schématique de la structure dendritique	28
Figure 16: Poly(alkyl cyanoacrylate).....	29
Figure 17: Structure de la chitine et du chitosane.....	30
Figure 18: Acide hyaluronique structure de base disaccharidique (a) et début de polymérisation (b) ..	30
Figure 19: Monomères d'acide lactique et glycolique - Copolymère PLGA.....	32
Figure 20: Représentation des fullerènes C60, C70, et un nanotube de carbone.....	33
Figure 21: Structure de base des nanoparticules inorganiques	33
Figure 22: Propriétés optiques dépendantes de la taille des quantum dots.....	35

Figure 23: Représentation du broyage dans un broyeur à billes	41
Figure 24: Schéma simplifié du procédé de la technique Nano-Crystal.	43
Figure 25: Schéma d'un homogénéisateur à haute pression	45
Figure 26: Principe de fonctionnement d'un microfluidiseur.....	46
Figure 27: Schéma de l'homogénéisateur gap-piston.....	47
Figure 28: Mécanisme de précipitation.....	50
Figure 29: Mécanisme de précipitation contre-solvant	50
Figure 30: Exemple de Micrographie d'itraconazole réalisée par précipitation antisolvant.	53
Figure 31: Système de garnissage rotatif	54
Figure 32: Principe de la nanoprecipitation flash (NPF).....	56
Figure 33: Schéma de la configuration de jets d'impact de liquides confinés	57
Figure 34: Mélangeur en vortex à multi-entrées.....	58
Figure 35: Schéma de la méthode par sonoprécipitation.	61
Figure 36: Diagramme schématique du nano spray-dryer	62
Figure 37: Schéma de principe du réacteur de flux d'aérosol	64
Figure 38: Exemples de procédures pour réaliser la préparation de nanoparticules par polymérisation.	66
Figure 39: Préparations de nanosphères par polymérisation en miniémulsion de n-butylcyanoacrylate(NCBC).	67
Figure 40: Composants et caractéristiques essentielles des nanoparticules d'oxyde de fer pour l'imagerie de résonance magnétique (IRM).	74
Figure 41 : Exemple d'étiquette réglementée d'un produit cosmétique.....	80
Figure 42: Exemple de légende que l'on peut retrouver sur un produit cosmétique	80
Figure 43: NBTXR3* nanomédicament à base des nanoparticules d'oxyde d'hafnium(HfO ₂)	85
Figure 44: Comparaison d'un médicament classique et nanomédicament.....	87
Figure 45: Représentation schématique du concept de répulsion stérique	90
Figure 46: Nanoparticule de polymère biodégradable ont été greffées des chaînes de chitosane	93
Figure 47: Le siRNA libre ne permet pas d'inhiber la croissance tumorale	94
Figure 48: La squalénisation de la gemcitabine.....	95
Figure 49: Résultats des traitements par la gemcitabine libre ou squalénisée sur le volume tumoral.	97
Figure 50: Mécanisme d'action des nanovecteurs pour le traitement de l'athérosclérose	100

Figure 51: L'insuline orale : problématiques et stratégies.	101
Figure 52: Schéma des nanoparticules polymères avec des portes moléculaires sensibles au pH pour contrôler la libération d'insuline déclenchée par la présence de glucose dans le sang.	106
Figure 53: Mécanisme possible par lequel les nanoparticules d'OFX-mPEG-PLGA pourraient empêcher le développement de la résistance bactérienne contre l'ofloxacin.	116
Figure 54: Activité leishmanicide in vitro de la pentamidine libre et vectorisée par des nanoparticules de méthacrylate.	118
Figure 55: Voies d'administration oculaires des médicaments.	119
Figure 56: Schémas représentant le mécanisme d'action du vaccin novateur contre un des allergènes les plus rencontrés chez les patients asthmatiques.	122
Figure 57: CAELYX* nanomédicament commercialisé au Maroc.	128
Figure 58: GLIVEC* nanomédicament commercialisé au Maroc.	130
Figure 59: Visudyne* nanomédicament commercialisé au Maroc.	131

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Illustrant la composition et la T _m des principaux phospholipides synthétiques.	10
Tableau II : Les problèmes avec les principes actifs "libres" et leurs implications.....	23
Tableau III : Définition de « nanoparticule » et « nanomatériel »	26
Tableau IV : Comparaison des méthodes de production de nanoparticule	69
Tableau V : Taille et agent de surface des nanoparticules commercialisées ou en développement clinique en IRM	77
Tableau VI : Principales caractéristiques physico-chimiques du TiO ₂ et du ZnO	82
Tableau VII : Bilan des études cliniques menées sur l'insuline orale	108

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
PREMIÈRE PARTIE : LA VECTORISATION	3
I. Généralités sur la vectorisation des médicaments	4
I.1 Historique	4
I.2 Concept général de la vectorisation des principes actifs	5
I.3 Avantages des systèmes de vectorisation des médicaments.....	5
A. Protection de la molécule encapsulée.....	6
B. Amélioration des profils pharmacocinétiques	6
C. Réduction des effets secondaires et/ou toxiques des principes actifs	7
D. Amélioration de la spécificité	8
I.4 Structure des vecteurs des médicaments	8
I.5 Mécanismes de libération des principes actifs.....	9
I.5.1 Température.....	9
I.5.2 Champ magnétique	10
I.5.3 La lumière	12
I.5.4 pH.....	13
I.6 Biodisponibilité et vecteurs particuliers pour la voie orale	14
I.6.1 Les vecteurs particuliers à base de lipides.....	15
I.6.2 Les vecteurs particuliers adhésifs	15
I.6.3 L'absorption intestinale des vecteurs particuliers.....	16
II. Les différentes classes des vecteurs des médicaments	18
II.1 La première génération	18
II.2 La deuxième génération	19
II.3 La troisième génération.....	20
II.4 La quatrième génération.....	21
III. Les nanovecteurs.....	22
III.1 Intérêt des nanovecteurs.....	22

III.2 Classification.....	23
III.2.1 Liposome	24
III.2.2 Nanoparticules polymériques	25
III.2.2.1 Définition du terme : « nanoparticule »	25
A. Les nanocapsules	26
B. Les nanosphères.....	27
C. Les dendrimères.....	28
III.2.2.2 Polymères utilisés dans les nanoparticules.....	28
A. Poly(alkyl cyanoacrylate).....	28
B. Acide hyaluronique	29
C. Chitosane	30
D. Acide lactique / glycolique.....	31
III.2.3 Les nanotubes de carbone.....	32
III.2.4 Nanoparticules inorganiques.....	33
III.2.4.1 Puits quantiques (quantum dots).....	34
III.2.4.2 Nanoparticules d'oxyde de fer magnétique et supermagnétique	34
III.2.4.3 Nanoparticules de diamant photoluminescentes	36
III.2.4.4 Sondes Raman.....	36
IV. Devenir des nanovecteurs dans l'organisme	37
DEUXIÈME PARTIE: LA FABRICATION DES NANOVECTEURS DANS L'INDUSTRIE PHARMACEUTIQUE	39
I. Les technologies « TOP-DOWN », l'approche descendante.....	40
I.1 Méthodes par broyage	40
I.1.1 Principe	40
I.1.2 Exemple de procédé de fabrication.....	42
I.1.3 Avantages et inconvénients de la méthode de broyage	44
I.2 Méthode d'homogénéisation à haute pression (HHP)	44
I.2.1 Obtention des nanovecteurs par microfluidisation	45
I.2.2 Homogénéisateur de type « piston-gap ».....	47

I.2.3 Exemple de procédé de fabrication.....	47
I.2.4 Avantages et inconvénients.....	48
II. Technologie « Bottom Up ».....	49
II.1 Méthodes par précipitation.....	49
II.2 Méthodes par évaporation.....	61
II.3 Méthodes par polymérisation.....	65
II.3.1 Application de la polymérisation en émulsion d'ACA.....	65
II.3.2 Application de la polymérisation en miniémulsion de l'ACA.....	67
III. Comparaison des méthodes de fabrication.....	69
TROISIÈME PARTIE : APPLICATIONS DES NANOVECTEURS DANS LE DOMAINE DE LA SANTÉ	72
I. Imagerie diagnostique.....	73
II. Vaccination.....	78
III. Cosmétologie.....	80
IV. Traitement des maladies.....	84
IV.1 Cancer.....	84
IV.2 Athérosclérose.....	98
IV.3 Diabète.....	100
IV.4 Maladie d'Alzheimer.....	109
IV.5 Infections.....	111
IV.6 Maladies de la rétine.....	118
IV.7 Maladies inflammatoires chroniques.....	120
IV.8 Asthme.....	122
V. Limites.....	125
VI. Médicaments à base des nanovecteurs commercialisés au Maroc.....	128
CONCLUSION	132
RÉSUMÉS	135
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	139

INTRODUCTION

Lors de l'introduction d'un principe actif dans l'organisme, il va se distribuer dans tout l'organisme en fonction de ses caractéristiques physico-chimiques (hydrophobie, poids moléculaire, etc.). Le principe actif rencontre des barrières naturelles qui peuvent limiter son efficacité. C'est ainsi que de nombreuses molécules peinent à traverser les membranes cellulaires, car elles sont trop hydrophiles ou ont un poids moléculaire trop élevé. Cela pose problème lorsque la cible du médicament se trouve à l'intérieur de la cellule. D'autres molécules, en particulier celles issues de biotechnologies, (peptides, fragments d'ADN...) sont très instables en milieu biologique car elles sont rapidement métabolisées par l'organisme, armé de ses enzymes et de nombreux systèmes de défense (anticorps...). Or, certains des principes actifs utilisés, notamment dans les traitements anticancéreux, sont relativement toxiques, ce qui occasionne des effets indésirables importants. Un des objectifs de la vectorisation est donc d'améliorer la biodisponibilité du principe actif en le protégeant du milieu vivant et en contrôlant sa distribution spatiale mais aussi dans le temps.

L'utilisation de systèmes particuliers polymériques pour la vectorisation de principes actifs dits «intelligents», conçus pour subir des changements physiques ou chimiques réversibles en réponse à des stimuli environnementaux (tels que la température, la lumière, le champ magnétique ou électrique, le pH, la force ionique ou les enzymes) sont très prometteurs.

À cette fin, la chimie va pouvoir user de sa créativité pour équiper les nanovecteurs d'un certain nombre de fonctionnalités, à l'aide de traitements chimiques de leur surface. D'une part, l'encapsulation permet de protéger les principes actifs de la dégradation, dans le cas où ils y sont sensibles. D'autre part, elle peut permettre d'améliorer le ciblage, soit au niveau tissulaire, soit au niveau cellulaire. Ce dernier cas peut être favorisé grâce à la fonctionnalisation chimique de la surface des nanovecteurs, ou tout simplement parce qu'ils seront captés dans les cellules via des mécanismes d'endocytose. Ils pourront ainsi pénétrer dans les cellules et y concentrer les molécules de principe actif alors que, seules, celles-ci ne s'y accumuleraient pas spontanément. Enfin, il est possible d'utiliser cette approche de la vectorisation pour contourner des résistances aux médicaments.

Dans ce travail, nous allons présenter en premier les généralités sur les systèmes de vectorisation. La deuxième partie sera réservée à la description des méthodes de fabrication des nanoparticules. Enfin, troisième partie sera consacrée aux différentes applications de la thérapie ciblée dans le domaine de la santé.

PREMIÈRE PARTIE : LA VECTORISATION

I. Généralités sur la vectorisation des médicaments

I.1 Historique

Aux alentours des années 50, c'est la découverte de la microencapsulation. La microencapsulation peut être physique ou chimique. Aujourd'hui, le mécanisme d'encapsulation est présent dans 65% des systèmes à libération contrôlée [1].

À partir des années 60, un grand nombre de chercheurs ont travaillé pour concevoir les premiers conjugués polymère synthétique-principe actif. Judah Folkman (université d'Harvard), en faisant circuler le sang d'un lapin à travers un tube préalablement exposé à un anesthésiant, provoquant l'endormissement du lapin. En constatant que le tube pouvait jouer le rôle d'un "réservoir" qui peut permettre de libérer la drogue[2]. Parmi les "macro" vecteurs commercialisés, on trouve le Vaginal Ring® (contenant un contraceptif déposé dans le col de l'utérus) et Ocusert® (contenant la pilocarpine contre le glaucome déposé sur la rétine). Trois dimensions ont été utilisées pour la vectorisation entre 1970 et 1980, macros puis micros et enfin nanos-objets .

Cette notion de réservoir n'est que la première étape nécessaire pour développer des nano-vecteur d'agents anticancéreux qui ciblent les tumeurs solides. Une fois la drogue chargée, les nano-vecteurs doivent la transporter à travers la circulation sanguine, atteindre la tumeur et dans les meilleurs des cas, pénétrer les cellules tumorales et libérer la drogue une fois à l'intérieure[3].

Récemment, comme un résultat de développement de la nanotechnologie, une nouvelle génération de polymères à émergé, elle utilise des matériaux et des dispositifs à l'échelle de nanomètre pour transporter des peptides, des médicaments, des gènes et des oligonucléotides. Ces matériaux vecteurs englobent des liposomes, dendrimères, micelles polymériques, les complexes polymère-ADN et d'autres nanoparticules. Cette nouvelle génération de vecteurs peuvent protéger les agents actifs de la dégradation dans les liquides biologiques et favorise la pénétration intracellulaire des substances actives. Ces vecteurs assurent aussi le transport des agents actifs vers leurs sites d'action[4].

Plus récemment, c'est le développement des vecteurs de médicaments qui utilisent des nanoparticules composés de polymères biodégradables. Ces systèmes peuvent se présenter sous forme d'une matrice polymère (dite nanosphère) ou sous forme d'un système réservoir dans lequel un milieu huileux ou aqueux est entouré d'une membrane polymérique (nanocapsule)[5]. Ce type de vecteur présente certains avantages comparativement aux liposomes à cause de leur stabilité pendant le stockage et dans le corps vivant[4].

I.2 Concept général de la vectorisation des principes actifs

Lorsqu'un médicament est administré, seule une très petite fraction du principe actif arrive réellement à atteindre les récepteurs ou les sites d'action appropriés, alors que le reste de la dose se trouve gaspillé un peu partout entre le point d'administration et le site d'action dans l'organisme vivant.

Le concept de la vectorisation des médicaments consiste à véhiculer une substance chimique biologiquement active du site d'administration vers le site actif. Cet adressage peut se faire de manière spécifique ou non, au moyen d'un vecteur hydrophile ou hydrophobe n'exerçant aucune action thérapeutique. Le vecteur permet au principe actif de franchir les barrières biologiques. Ces barrières sont des systèmes très complexes faisant intervenir plusieurs éléments (épithélium, endothélium, membrane cellulaire) et plusieurs composantes (barrières mécaniques ou physico-chimiques et barrières enzymatiques). Ce sont les propriétés du vecteur et non celles du principe actif qui détermineront le sort du système in vivo[6].

La réussite des systèmes de vectorisation de médicaments nécessite une collaboration étroite entre plusieurs spécialistes de domaines différents qui sont les galénistes, les physiologues et les pharmacologues[1].

I.3 Avantages des systèmes de vectorisation des médicaments

La vectorisation de principes actifs est devenue une science très demandée car les systèmes à libérations contrôlées comportent plusieurs avantages comparativement aux systèmes classiques, à savoir :

A. Protection de la molécule encapsulée

Beaucoup de molécules biologiquement actives sont instables physico-chimiquement ou biochimiquement lorsqu'elles se trouvent dans le corps humain. Leur encapsulation dans des vecteurs assure la protection de la molécule active vis-à-vis des dégradations dans le tractus gastro-intestinal en l'isolant des milieux biologiques traversés, par conséquent améliorer sa stabilité in vivo. Ce type de vecteurs est particulièrement intéressant pour la vectorisation des principes actifs de faibles durées de vie.

B. Amélioration des profils pharmacocinétiques

Augmenter la cinétique de dissolution du principe actif en le présentant sous une forme finement dispersée, et favoriser l'absorption de PA à travers la muqueuse intestinale en contrôlant la libération de celui-ci, ce qui permet de la maintenir dans la zone d'efficacité thérapeutique. Un exemple de cet avantage est illustré schématiquement à la figure 1[5].

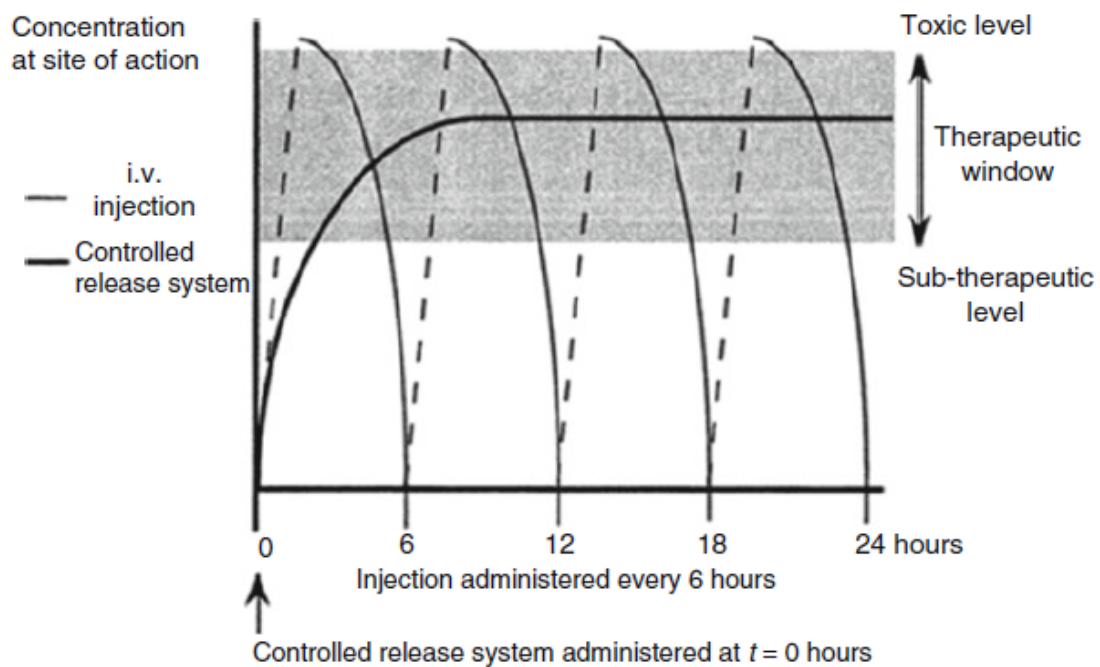


Figure 1: Profil des concentrations du PA au site d'action en fonction du temps avec ou sans vectorisation.

Les concentrations du principe actif au niveau du site d'actions obtenues après administration d'un système à libération contrôlée sont comparées aux concentrations obtenues avec le même principe actif après 4 injections intraveineuses administrées tout les 6 heures. Les résultats obtenus nous montrent que les concentrations du PA dans le cas du médicament injectable (sans vecteur) fluctuent largement dans les 24h pour la zone thérapeutique (c'est-à-dire la concentration de médicament qui produit des effets bénéfiques sans effets secondaires). Avec le système de libération contrôlée, le taux de libération du médicament correspond au taux d'élimination du médicament, et par conséquent, la concentration du médicament est constante au niveau de la zone thérapeutique durant les 24h. Le contrôle des concentrations au niveau du site d'action peut améliorer de manière significative l'état clinique du patient.

Par exemple, Lorsqu'un antalgique opioïde est administré à un patient atteint d'un cancer terminal, les concentrations plasmatiques du principe actif sont inférieures aux concentrations thérapeutiques, le patient sent la douleur[5].

C. Réduction des effets secondaires et/ou toxiques des principes actifs

Diminuer la toxicité pour certains organes par modification de la distribution tissulaire des principes actifs (figure 2).

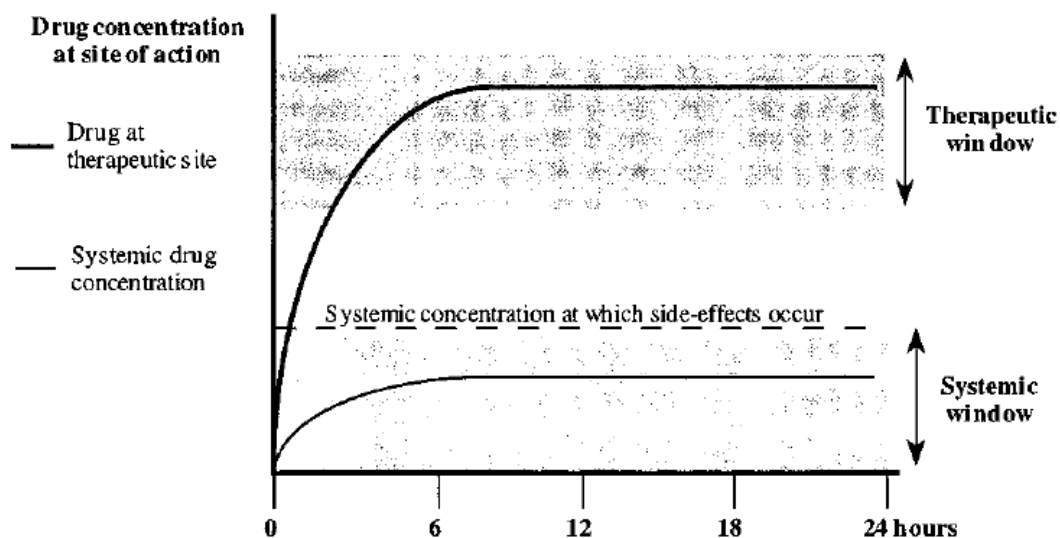


Figure 2: Comparaison entre les concentrations au site d'action des systèmes à libération contrôlée et les concentrations systémique d'apparition des effets secondaires après administration du médicament injectable conventionnels.

D. Amélioration de la spécificité

Les vecteurs peuvent permettre de véhiculer sélectivement des médicaments au niveau de la cible biologique, pour ce faire, on peut équiper les vecteurs de ligands capables de reconnaître des récepteurs spécifiques afin de pouvoir délivrer les médicaments qu'ils transportent à l'intérieur de la cellule cible. La sélectivité et la spécificité de ces particules vis-à-vis de la cible peuvent permettre d'améliorer l'efficacité du principe actif[1, 7].

I.4 Structure des vecteurs des médicaments

Les vecteurs comprennent deux composants principaux: un cœur et une couronne qu'il est possible d'équiper de fonctionnalités adaptées à l'objectif thérapeutique (figure 3). Le cœur des vecteurs permet d'encapsuler des molécules biologiquement actives pour les rendre invisibles vis-à-vis des mécanismes de détoxification, comme, par exemple, ceux dont sont équipées les cellules tumorales ou d'encapsuler des molécules fragiles (ADN, ARN interférents, oligo-nucléotides anti-sens, protéines, peptides) afin de les protéger de la dégradation enzymatique extracellulaire[8].

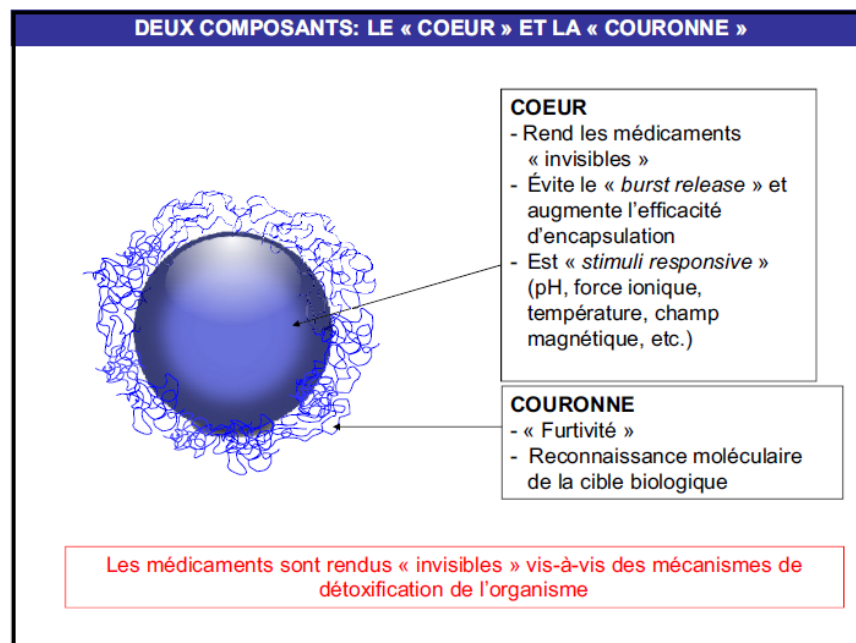


Figure 3: Représentation schématique des deux principaux éléments susceptibles de doter les vecteurs de fonctionnalités (intelligentes): le cœur et la couronne.

I.5 Mécanismes de libération des principes actifs

L'utilisation de matériaux « intelligents » (polymères ou lipides pH-sensibles) permet de rendre les vecteurs capables de libérer le principe actif qu'ils véhiculent en réponse à un stimulus externe : modification de pH, de température, ou application d'un champ magnétique extracorporel[8].

I.5.1 Température

Une méthode de libération repose sur l'élaboration de liposomes sensibles à la température, appelés liposomes thermosensibles. L'objectif est de déstabiliser, c'est-à-dire de « fluidifier » la membrane du liposome afin de la rendre plus perméable, en fonction de la température.

Les liposomes thermosensibles sont étudiés de telle manière à ce qu'ils aient un domaine de libération/perméabilité importante dans une gamme plus ou moins étroite de température. L'idéal est de créer des liposomes dont la perméabilité est très importante à leur T_m , ce qui est généralement le cas, de nombreux paramètres influencent la T_m d'une membrane liposomique comme la nature des phospholipides utilisés (nature des acides gras) et la présence de cholestérol. L'objectif dans la création d'un liposome thermosensible est alors d'ajuster les différents composants des LTS ou LTSL afin d'obtenir des gammes de relargage sous températures intéressantes.

Les gammes de relargage intéressantes sont les températures peu élevées au-dessus de celle du corps humain afin que la T_m ne soit pas atteint dans le corps humain et suffisamment faible pour ne pas être dommageable pour le corps humain. Il faut donc que T_m soit aux environs de 40°C. Les principaux phospholipides synthétiques sont classés en fonction de leur composition et leur T_m (tableau I)[9].

Tableau I: Illustrant la composition et la T_m des principaux phospholipides synthétiques.

Phospholipide	Abréviation	Longueur chaîne acyle : nombre d'insaturations	T_m (°C)
<i>Dioléyl phosphatidylcholine</i>	DOPC	18 : 1, 18 : 1	-22
<i>Dimyristoyl phosphatidylcholine</i>	DMPC	14 : 0, 14 : 0	23
<i>1-Myristoyl-2-palmitoyl phosphatidylcholine</i>	MPPC	14 : 0, 16 : 0	27
<i>Dipalmitoyl phosphatidylcholine</i>	DPPC	16 : 0, 16 : 0	41,5
<i>Dipalmitoyl phosphatidylglycérol</i>	DPPG	16 : 0, 16 : 0	41
<i>Phosphatidylcholine de soja hydrogénée</i>	HSPC	18 : 0, 18 : 0	50-60
<i>Distéaroyl phosphatidylcholine</i>	DSPC	18 : 0, 18 : 0	54,5
<i>Dipalmitoyl phosphatidyléthanolamine</i>	DPPE	16 : 0, 16 : 0	63
<i>Distéaroyl phosphatidyléthanolamine</i>	DSPE	18 : 0, 18 : 0	74

On peut voir que les phospholipides intéressants dans la composition des LTS sont la Dipalmitoyl phosphatidylcholine (DPPC) ($T_m = 41.5^\circ\text{C}$) et la Dipalmitoyl phosphatidylglycérol (DPPG) ($T_m = 41^\circ\text{C}$) car leur T_m est proche des 40°C , légèrement au-dessus de celle du corps.

1.5.2 Champ magnétique

Le champ magnétique peut être un stimulus utilisable pour une finalité de libération de médicament. Lorsque le véhicule est sensible au champ magnétique, il est alors possible de favoriser sa vectorisation et de l'accumuler sur une cible donnée. Les microparticules à base de magnétite (Fe_3O_4) sont les systèmes les plus retrouvés dans la littérature. Ceux-ci sont généralement recouverts de composés hydrophiles pour les stabiliser (dextrane, PVA, acide laurique) ou incorporés dans des hydrogels. Il est également possible d'utiliser d'autres oxydes comme la maghémite $-\text{Fe}_2\text{O}_3$, le manganèse ferrite (MnFe_2O_4), le nickel ferrite (NiFe_2O_4). Dans cette optique, Chen et al ont conjugué de la doxorubicine sur des nanoparticules de Fe_3O_4 recouvertes ensuite de silice poreuse et de PEG. Ces systèmes présentent une grande efficacité pour traiter les tumeurs de manière ciblée[10].

Licciardi et al ont également préparé des nanovecteurs magnétiques en utilisant comme copolymère le poly(N-2-hydroxyethyl)-D,L-aspartamideco-(N-2-éthylène-isobutirrate)-g-poly-(butyl méthacrylate) (PHEA-IB-p(BMA)). Par un procédé d'homogénéisation/ évaporation, les auteurs ont formé des particules d'environ 300 nm contenant des nanoparticules de Fe_2O_3 et

un principe actif la flutamide. En plaçant un aimant externe au niveau des reins de rats, ils ont montré une biodisponibilité très importante de ces particules au niveau des reins par rapport aux autres organes comme le foie, la rate et les poumons (figure 4). La présence de ce champ magnétique permet d'amener et de maintenir les particules au niveau du site d'administration et retarde leur élimination naturelle.

Le champ magnétique appliqué peut également entraîner une hyperthermie localisée. Celle-ci peut favoriser des ruptures de liaison entraînant par exemple la libération d'une drogue liée de manière covalente sur un support ou bien augmenter la porosité du support et donc la diffusion d'un composé[11].

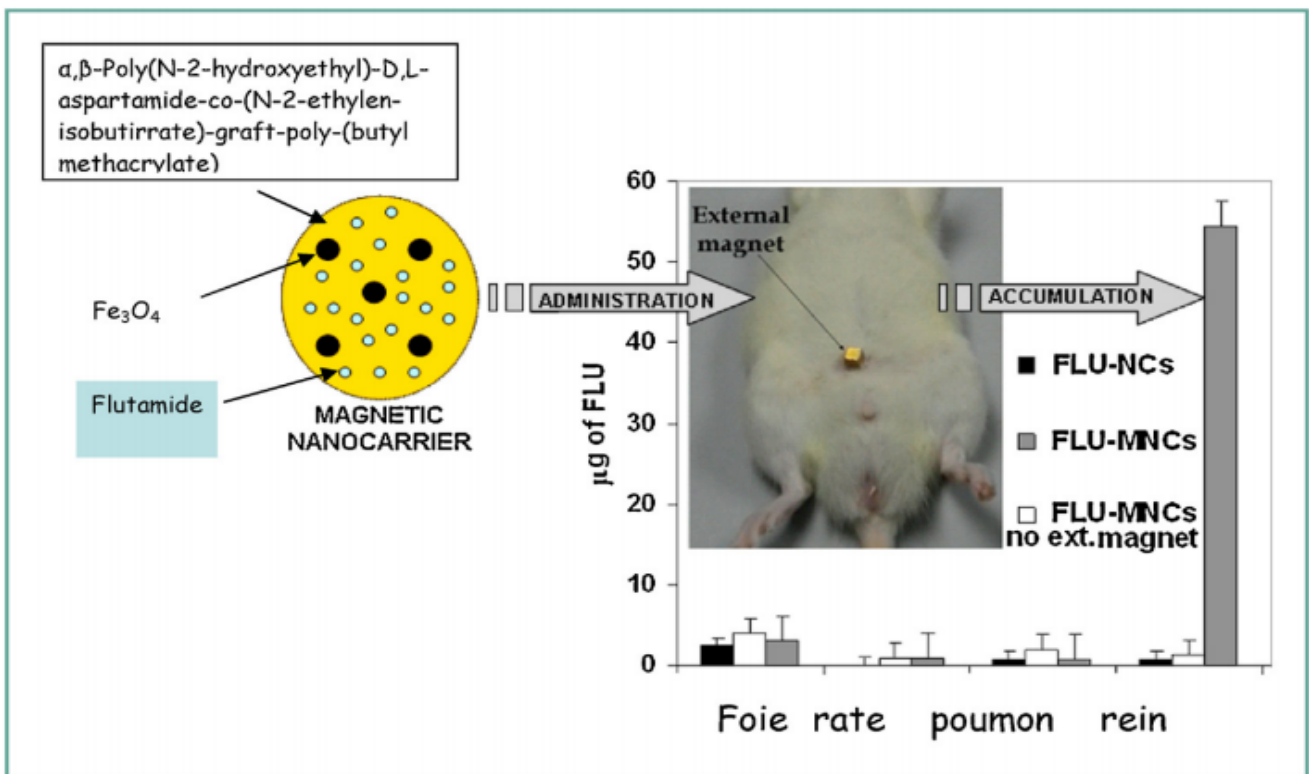


Figure 4: Modification de la distribution de microparticules magnétiques contenant de la flutamide pour une action ciblée au niveau du rein à l'aide d'un aimant externe.

I.5.3 La lumière

La lumière est également un facteur physique intéressant car elle est facilement applicable (pas de contact) et modulable en termes d'énergie, d'intensité, de polarisation, de cohérence, sur un système polymère. Une source lumineuse peut entraîner une modification de la balance hydrophile lipophile (HLB) (réversible ou irréversible) ou la rupture d'une liaison (figure 5). Dans ce dernier cas, la rupture peut être réversible ou non, unique ou multiple. Une rupture unique permettra de libérer par exemple une molécule liée à un polymère. Si elles sont multiples, il y aura dégradation du polymère et donc destruction du véhicule contenant la molécule[12].

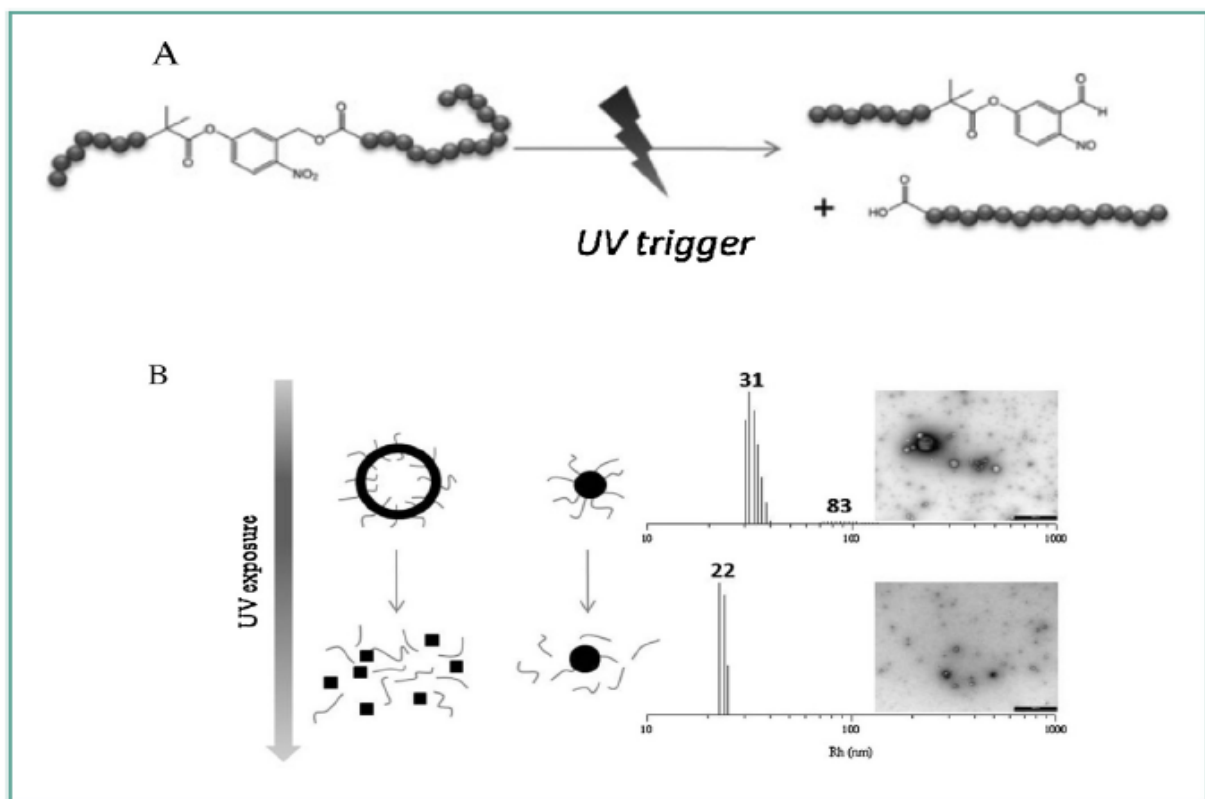


Figure 5: A. Principe de la rupture de liaison sous rayonnement UV B. Gauche : schéma de la photodégradation de micelles et de vésicules. Droite : histogramme de distribution de taille et images TEM avant exposition UV (en haut) et après 60 minutes d'irradiation UV (en bas); échelle: 500 nm[13].

1.5.4 pH

Le pH est sans conteste le stimulus le plus évident pour les applications de libération contrôlée notamment lors d'administration orale puisqu'il est inférieur à 3 dans l'estomac et neutre dans l'intestin. Dans le cas des tumeurs solides également, il y a une différence de pH extracellulaire qui peut être comprise entre 6 et 7 contre le pH habituel de 7,4 en raison d'une faible vascularisation[14]. Les polymères pH sensibles présentent des groupes pendants acides (acides carboxyliques ou sulfoniques) ou basiques (sels d'ammonium) dont la protonation sera fonction du pH selon la valeur de leur pKa. Ils pourront alors devenir des poly-électrolytes de type poly-anion ou poly-cation respectivement. Ces systèmes sont largement décrits dans plusieurs revues.

La présence de fonctions acides ou basiques sur les copolymères formant des structures associées de type micelle peut également être utile pour modifier ces structures et entraîner des applications en libération de composés actifs. Yang et al ont travaillé sur l'obtention de copolymères en étoile de type triblocs à base de poly(-caprolactone)-b-poly(2-(diéthylamino)éthylméthacrylate)-b-poly(poly(éthylène glycol)méthyl éther méthacrylate) (PCL-b-PDEAEMA-b-PPEGMA). Ces copolymères s'organisent spontanément pour former des micelles capables de solubiliser de la doxorubicine. Ces micelles peuvent être considérées comme des systèmes à trois couches. La partie centrale est hydrophobe et solubiliserait un composé hydrophobe, la seconde est pH sensible et la dernière hydrophile assurant la furtivité. À pH 7,4 la partie centrale (PDEAEMA) est protonnée restant hydrophobe et participe à la séquestration de la doxorubicine (figure 6). À pH 5, le PDEAEMA devient cationique et entraîne un gonflement des micelles favorisant la libération de la doxorubicine. L'activité a été montrée par des études *in vitro* sur des cellules HepG2 (Lignée d'hépatoblastome humain HepG2)[15].

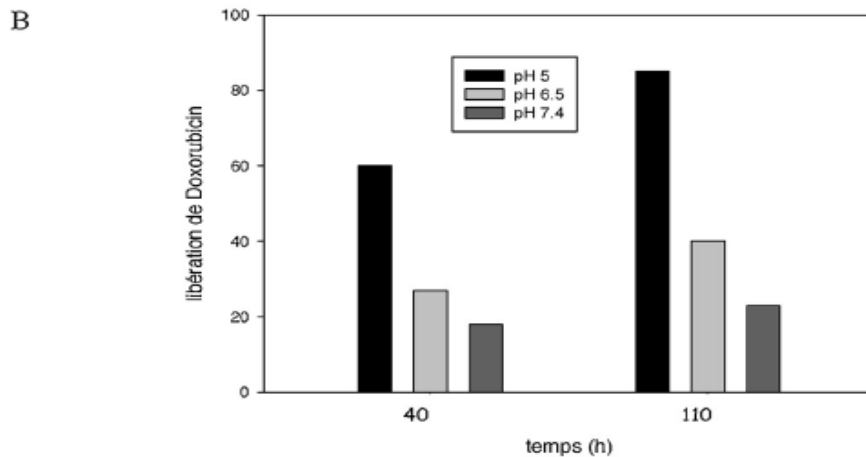
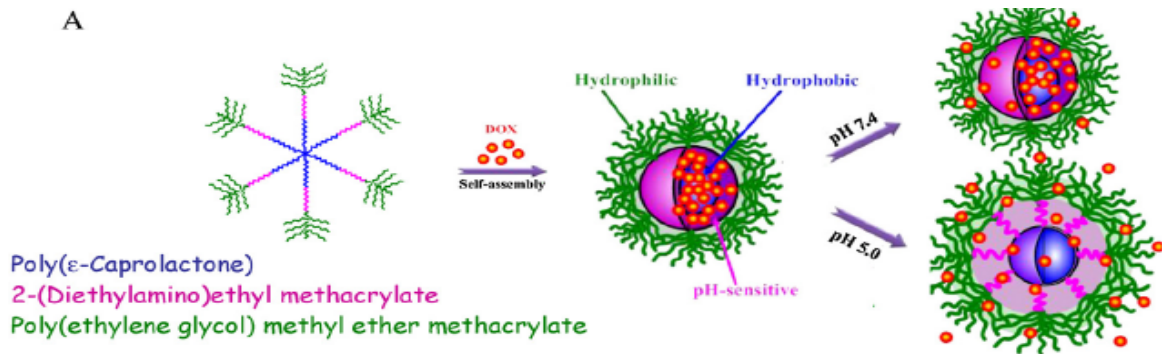


Figure 6: **A.** Schéma pour la formation de micelles, la séquestration de médicaments et la libération PH dépendante de micelles PCL-bPDEAEMA-b-PPEGMA. **B.** Libération de doxorubicine en fonction du temps et du pH.

I.6 Biodisponibilité et vecteurs particuliers pour la voie orale

La voie orale est la voie d'administration de choix des médicaments car elle est la plus naturelle et la plus confortable pour le patient, permettant de garantir au mieux le suivi des prescriptions. Toutefois, l'administration orale d'un nombre important de nouvelles molécules actives issues des étapes de screening pharmacologique révèle une faible biodisponibilité d'après les premières études pharmacocinétiques.

Le potentiel thérapeutique de ces molécules est en fait limité par leurs caractéristiques physicochimiques, peu favorables à leur passage dans la circulation systémique. Certaines sont peu stables en milieu physiologique et sont rapidement dégradées dans l'environnement

acide de l'estomac ainsi que sous l'action des nombreuses enzymes présentes tout au long du tractus digestif (peptides et protéines thérapeutiques). D'autres sont très peu solubles en milieu aqueux et/ou peu perméables vis-à-vis des membranes biologiques et sont donc mal absorbées au niveau de la muqueuse intestinale[16].

I.6.1 Les vecteurs particuliers à base de lipides

Les vecteurs doivent respecter certaines contraintes pour un usage pharmaceutique. Ils doivent être composés de matériaux biocompatibles n'entraînant aucune réaction toxique, immunogène ou inflammatoire, et doivent être rapidement éliminés par l'organisme afin d'éviter toute accumulation qui pourrait être toxique à long terme. Les formulations à base de lipides (liposomes, nanoparticules et nanocapsules lipidiques, présentent donc un atout majeur puisqu'elles sont constituées essentiellement de composés peu ou pas toxiques.

L'administration orale de liposomes recouverts de chitosane et contenant de la calcitonine à des rats permet ainsi de diminuer leur calcémie de 15% alors qu'aucun effet thérapeutique n'est détecté lorsque la calcitonine est administrée seule en solution. Les nanoparticules solides à base de lipides et les nanocapsules de lipides montrent également un effet sur la biodisponibilité orale de certains principes actifs. Peltier décrit que l'administration orale de nanocapsules de lipides chargées en paclitaxel multiplie par trois la concentration plasmatique du principe actif en comparaison d'une administration de paclitaxel sous forme non encapsulée[16, 17].

I.6.2 Les vecteurs particuliers adhésifs

L'utilisation de vecteurs bio- ou muco-adhésifs permet d'immobiliser le principe actif à la surface de la muqueuse intestinale et d'augmenter ainsi la fraction de principe actif absorbé. La libération du principe actif se fait alors au plus proche de son site d'absorption, créant un gradient de concentration local qui favorise son passage à travers l'épithélium intestinal. Cette proximité permet également de limiter la dégradation du principe actif dans le fluide luminal. L'immobilisation du vecteur et de sa cargaison au niveau de la muqueuse intestinale peut se faire soit en surface des cellules épithéliales (bioadhésion) soit au sein du mucus qui recouvre la quasi intégralité de l'épithélium intestinal (mucoadhésion)[18].

Le mucus est un gel visco-élastique formé de glycoprotéines hydrophiles de haute masse molaire et chargées négativement, appelées mucines. L'adsorption d'un vecteur particulaire à la surface de l'intestin résulte des interactions qui s'établissent entre les groupements fonctionnels présents en surface du vecteur et ces glycoprotéines. Ces interactions sont de différentes natures: interactions électrostatiques, interactions hydrophobes, interactions de Van der Waals ou liaisons hydrogène. Le caractère muco-adhésif d'un vecteur dépend donc de ses propriétés de surface, en particulier de sa charge et de son hydrophobie. Les polymères hydrophiles flexibles et de haute masse molaire comme le chitosane et ses dérivés, le poly(éthylène glycol), ou encore le poly(acide acrylique) interagissent fortement avec le mucus. Bernkop-Schnürch a montré que les dérivés thiolés de ces polymères ont la capacité de former des liaisons covalentes (ponts disulfure) avec les régions riches en cystéine du mucus. Ainsi, le couplage d'une cystéine sur du chitosane, du poly(acide acrylique) ou de l'alginate augmente leurs propriétés muco-adhésives de 2 à 140 fois.

Certains auteurs proposent de greffer des ligands en surface des particules afin de cibler spécifiquement certains récepteurs membranaires exprimés au niveau des cellules épithéliales de l'intestin. Les ligands les plus utilisés sont les lectines, la vitamine B12 et les invasines. Le greffage de lectines sur des nanoparticules de poly(acide lactique-co-acide glycolique) contenant de la thymopentine, un pentapeptide synthétique, permet ainsi d'améliorer son absorption intestinale de plus d'un facteur 2 par rapport à l'administration de nanoparticules non conjuguées[17, 18].

I.6.3 L'absorption intestinale des vecteurs particuliers

Le passage des vecteurs particuliers à travers l'épithélium intestinal peut se faire par trois voies différentes : la diffusion entre deux cellules épithéliales adjacentes (voie paracellulaire), l'absorption par les entérocytes (voie transcellulaire) ou la capture par les cellules M présentes dans les tissus lymphoïdes associés à l'intestin (voie lymphatique) (figure 7). Suite à ce passage de l'épithélium, de nombreuses études montrent que la voie d'absorption prédominante des systèmes vecteurs est la voie lymphatique mais que la fraction de particules absorbées sous forme intacte demeure, quoiqu'il en soit, marginale.

L'internalisation des nanoparticules dans la muqueuse intestinale peut être favorisée par le choix de certaines de leurs caractéristiques comme leur taille, leur charge de surface ou leur hydrophobie, qui influent sur la nature et la force des interactions entre le vecteur et l'épithélium. Les études menées jusqu'à présent n'ont pas permis d'établir les caractéristiques du vecteur idéal, certains résultats quelque peu contradictoires ayant été décrits dans la littérature. Cependant, les auteurs s'accordent à dire que les vecteurs de petite taille (de préférence inférieure à 200 nm de diamètre) sont absorbés en plus grande proportion. Récemment la société Sporomex a proposé un nouveau système particulaire reposant sur des spores d'origine végétale capables de piéger des quantités importantes de principe actif par des procédés d'encapsulation simples. Des études en microscopie de fluorescence ont permis de signaler la présence de spores intactes dans la circulation sanguine après administration chez l'homme. Des essais complémentaires doivent cependant être menés afin de confirmer la capacité de ces particules d'une vingtaine de microns à traverser de manière significative la muqueuse digestive[17].

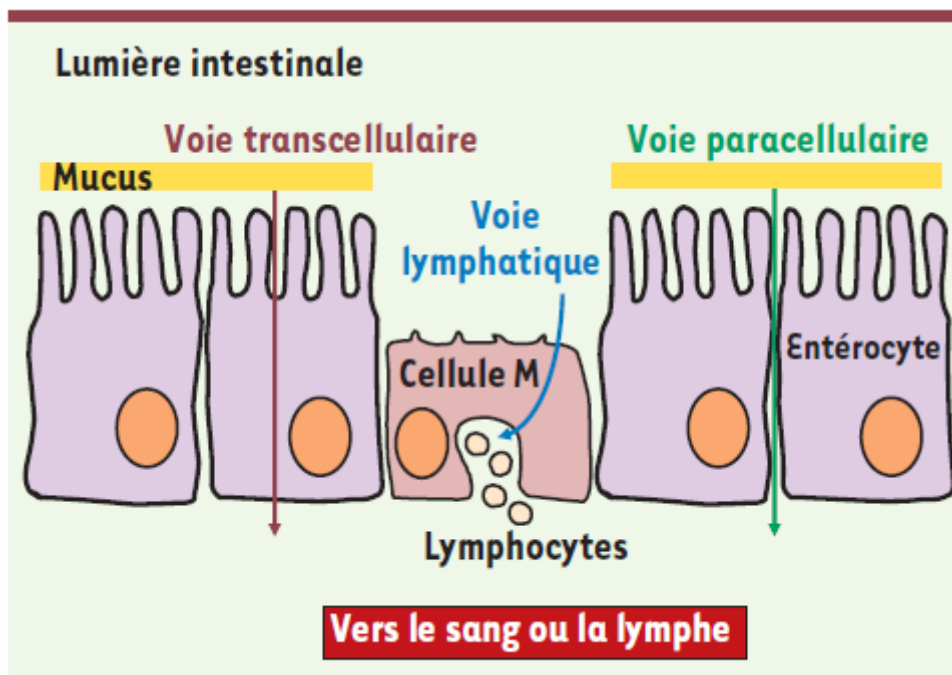


Figure 7: Le passage des systèmes vecteurs à travers l'épithélium intestinal.

II. Les différentes classes des vecteurs des médicaments

Aujourd'hui, on parle de première, de deuxième, de troisième et de quatrième génération de nano-vecteurs (figure 8). Ce classement prend en compte des améliorations apportées aux vecteurs pour surmonter les nombreux obstacles rencontrés *in vivo*. Les deux améliorations majeures apportées sont la PEGylation et le greffage des molécules de ciblage à leur surface (voir la PEGylation et le ciblage actif).

La chronologie de ces améliorations (même si le mot "génération" est souvent employé) est très difficile à déterminer. En effet, des vecteurs de la première génération à l'étude coexistaient avec des vecteurs de la deuxième et de la troisième génération[3].

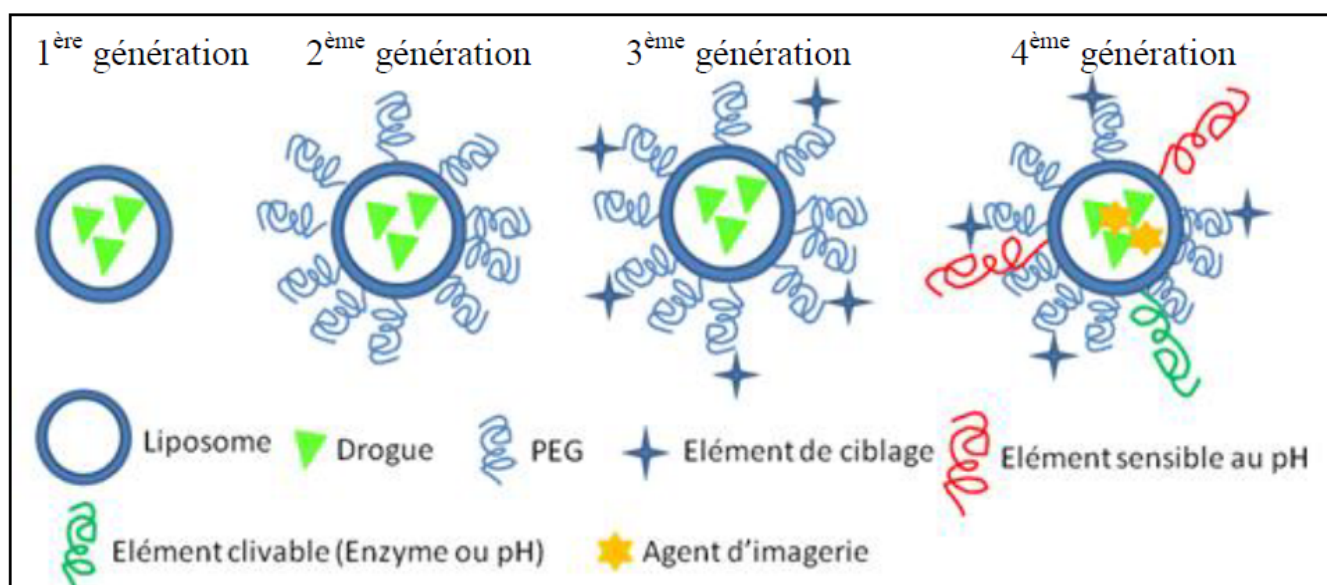


Figure 8 : Représentation schématique des quatre générations de vecteurs en prenant comme exemple un liposome.

II.1 La première génération

Cette génération présente des vecteurs chargés en drogue mais sans aucune propriété de furtivité ni de ciblage. L'encapsulation de la drogue dans des systèmes nus permet d'éviter son élimination par les reins augmentant ainsi son temps de circulation dans le sang. Mais très vite on a remarqué l'accumulation de ces vésicules nues dans la rate et le foie après leur

opsinisation et leur phagocytose par les macrophages. Cette première génération de vecteurs a donc été utilisée essentiellement pour des pathologies du foie[19].

La distribution tissulaire (hépatosplénique) et intracellulaire (lysosomotropisme) de ces vecteurs de première génération a été mise à profit pour vectoriser des molécules d'intérêt thérapeutique au niveau de ces sites biologiques et traiter ainsi différentes pathologies. Le domaine du cancer a en particulier fait l'objet de nombreux travaux. Ainsi, par exemple, le tropisme hépatique des vecteurs de première génération a été mis à profit pour traiter les métastases hépatiques. Dans ce cas, il s'agit d'un ciblage indirect puisque le médicament anticancéreux est livré aux cellules de Kupffer du foie qui jouent ainsi le rôle de réservoir de médicament. Le principe actif peut alors diffuser dans l'ensemble du tissu et notamment vers les cellules néoplasiques. La distribution hépato-splénique des vecteurs de première génération permet aussi, dans certains cas, de réduire la toxicité de médicaments en les détournant de leur cible toxicologique. Ainsi, la toxicité cardiaque de la doxorubicine a pu être réduite après encapsulation dans des liposomes ou des nanoparticules. De la même manière, la toxicité rénale de l'amphotéricine B est fortement diminuée après son administration à des patients sous la forme de liposomes. Des spécialités issues de ces concepts ont été mises récemment sur le marché comme l'Ambisome* ou la Daunosome*[20].

II.2 La deuxième génération

On cherche à éviter le blocage des nanovecteurs au niveau du foie de façon à ce qu'ils circulent plus longtemps dans les vaisseaux sanguins et puissent ainsi atteindre d'autres organes malades que le foie. Pour ce faire, les vecteurs sont recouverts de polymères hydrophiles et flexibles comme les polyéthylènes glycols (ou PEG) qui empêchent les protéines plasmatiques de s'adsorber à leur surface. Les vecteurs ne sont ainsi plus reconnus et captés par les macrophages du foie et restent donc plus longtemps dans la circulation sanguine générale. Comme au niveau d'une tumeur ou d'une infection l'endothélium des vaisseaux sanguins est endommagé et non jointif, sa perméabilité est augmentée. Les vecteurs de deuxième génération ont ainsi une probabilité importante de le traverser et de s'accumuler dans ces zones malades où il est libéré[19].

L'adressage tumoral de liposomes recouverts de PEG a, d'ailleurs, été démontré sur des modèles de tumeurs expérimentales grâce à l'utilisation de sondes de fluorescence. Un autre domaine d'application thérapeutique a été abordé récemment avec des nanoparticules préparées à l'aide d'un copolymère « peggylé » (polyéthylène glycol-cohexadécyl cyanoacrylate). Ces nanosystèmes sont capables de pénétrer dans le parenchyme cérébral d'animaux de laboratoire atteints d'une encéphalomyélite allergique expérimentale (EAE), ce qui n'est pas possible avec des animaux sains dont la barrière hémato-encéphalique est moins perméable. Ces vecteurs « furtifs » de deuxième génération ont montré une efficacité remarquable dans le traitement de tumeurs expérimentales, ce qui a d'ailleurs abouti récemment à la mise sur le marché du Doxil* (liposomes « peggylés » chargés en doxorubicine)[20].

II.3 La troisième génération

Lorsque les vecteurs de deuxième génération sont décorés de ligands (anticorps, peptides, sucres, acide folique), ils sont alors capables de reconnaître des récepteurs spécifiques afin de pouvoir délivrer les médicaments qu'ils transportent à l'intérieur de la cellule cible. Il est nécessaire de choisir des cibles moléculaires qui, exprimées à la surface des cellules, soient susceptibles d'être endocytées par celles-ci après interaction avec le ligand. Il s'agit d'une fonctionnalité supplémentaire, qui pourra être attribuée à la couronne du nanovecteur. Dans le cancer de l'ovaire, par exemple, il est maintenant bien établi que les cellules cancéreuses surexpriment le récepteur à l'acide folique (figure 9). Après liaison du ligand à son récepteur, le complexe récepteur-acide folique est internalisé par la cellule dans un endosome intracellulaire et le ligand libéré ensuite à l'intérieur de la cellule. Ce phénomène naturel peut être judicieusement utilisé comme moyen de routage pour permettre à des nanovecteurs de troisième génération, vectorisées avec de l'acide folique, de délivrer leur principe actif dans la cellule cancéreuse[19].

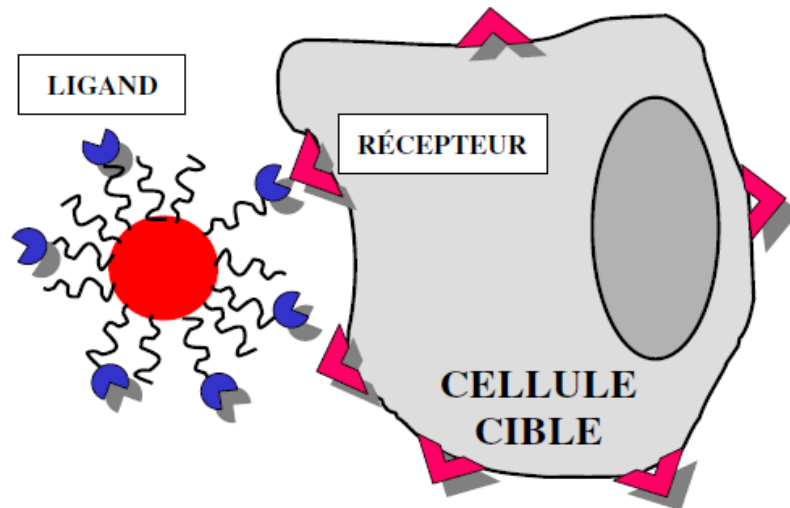


Figure 9: Représentation schématique d'un nanovecteur équipé d'un ligand (anticorps, protéine, petite molécule) capable de reconnaître un récepteur exprimé à la surface de la cellule cible (vecteurs de troisième génération).

I.4 La quatrième génération

Cette dernière génération présente des vecteurs sensibles à leur environnement. Ces vecteurs dits intelligents sont des vecteurs de troisième génération avec des composants qui réagissent à l'environnement extracellulaire des tumeurs. Cet environnement présente deux caractéristiques majeures exploitées par ce champ de recherche : le pH et la surexpression des protéinases extracellulaires. Le pH des tumeurs est souvent plus acide (pH=6,5) que le pH du sang (pH=7,2) [21] et la production d'enzymes (ex : métallo-protéinases) nécessaires à leur croissance et leur vascularisation est souvent très élevée[22]. En introduisant des fonctions chimiques sensibles au pH (ex : polyHis, polyaminoester)[23] ou clivables par des enzymes extracellulaires ou membranaires les vecteurs peuvent améliorer le ciblage et l'efficacité anti-tumorale. Par ailleurs, des agents d'imagerie (sondes fluorescentes, agents de contraste pour IRM, éléments radioactifs...) peuvent être utilisés pour le suivi des nanoparticules dans l'organisme après injection mais aussi pour le diagnostic[24].

III. Les nanovecteurs

III.1 Intérêt des nanovecteurs

La faible taille des nanovecteurs leur confère des propriétés intéressantes: elle offre en effet une importante surface spécifique et une grande stabilité. Ces particules ont effectivement l'avantage de former des solutions homogènes qui ne sédimentent ou ne crèment pas. Mais ce sont surtout leurs capacités à esquiver les défenses immunitaires et leur capacité à cibler une population de cellules particulières qui en font des vecteurs prometteurs.

L'utilisation des nanovecteurs pour la détection et le traitement de pathologies ouvre un nouveau domaine de recherche. L'un des terrains d'application le plus prometteur, et aussi le plus avancé actuellement, est la délivrance de médicaments « drug delivery », et en particulier le développement de thérapies ciblées pour l'oncologie. En effet, véhiculer les molécules anticancéreuses par des nanovecteurs permet d'augmenter leur sélectivité pour les tumeurs, et ainsi de réduire les sévères effets secondaires accompagnant les chimiothérapies. La délivrance spécifique d'agents d'intérêt vers un organe, un tissu ou une cellule constitue aujourd'hui un défi majeur pour la prévention, la localisation et le traitement des maladies humaines, notamment infectieuses, cancéreuses ou d'origine génétique.

En effet, l'obtention de concentrations efficaces en principes actifs au niveau des zones ciblées avec des médicaments « traditionnels » ne peut se faire qu'au détriment de cellules saines, puisqu'une partie importante des substances administrées est captée par d'autres tissus. Cette accumulation au sein de tissus non visés occasionne des effets toxiques conséquents et parfois rédhibitoires qui peuvent entraîner l'abandon du traitement en dépit de son efficacité (tableau II).

De nombreux principes actifs présentent des caractéristiques physico-chimiques (hydrophilie, poids moléculaires, etc.) peu favorables au passage des nombreuses barrières cellulaires, physico-chimiques et biologiques qui séparent le site d'administration du médicament de son site d'action. Ces principes actifs sont donc toujours mal absorbés, souvent très rapidement dégradés, métabolisés, ou éliminés et donc incapables d'atteindre leur cible au niveau tissulaire ou cellulaire. Il faut savoir que 95 % des nouveaux principes actifs développés ont des propriétés pharmacocinétiques médiocres. Pour toutes ces raisons, le développement de vecteurs de médicaments permettant la délivrance spécifique de la molécule active au niveau du site d'action a pris un essor considérable au cours des dernières années[25].

Tableau II: Les problèmes avec les principes actifs "libres" et leurs implications[26].

Problème	Implication	Effet des nanovecteurs
Mauvaise solubilité	Risque de précipitation de principe actif	Une nanocapsule, nanosphère, liposome peut offrir des milieux hydrophile et hydrophobe, ce qui augmente la solubilité du PA.
Destruction des tissus et organe sains	Extravasation des médicaments cytotoxiques peut endommager les tissus sains et résulter en leur nécrose	Libération régulée de PA par le nanovecteur ce qui réduit ou élimine son extravasation dans les tissus sains.
Dégradation rapide in-vitro	La molécule de principe actif est modifiée et dégradée dans l'organisme: perte de l'activité pharmacologique	Les nanovecteurs protègent le PA de la métabolisation. Des doses de PA doivent être administrées
Clairance très élevée	Le principe actif éliminé trop rapide par le foie et les reins, nécessitant des administrations fréquentes et élevées	La mise en forme de nanovecteur modifie la pharmacocinétique ce qui peut ralentir la clairance

III.2 Classification

Un très grand nombre de nanovecteurs ont été développées en laboratoire. Le choix du type de nanovecteur peut dépendre de l'application envisagée (relargage de principe actifs ou imagerie) en fonction de ses caractéristiques et de sa composition[27]. Elles peuvent être regroupées en différentes familles (figure 10). Les plus courantes sont présentées dans les paragraphes suivants.

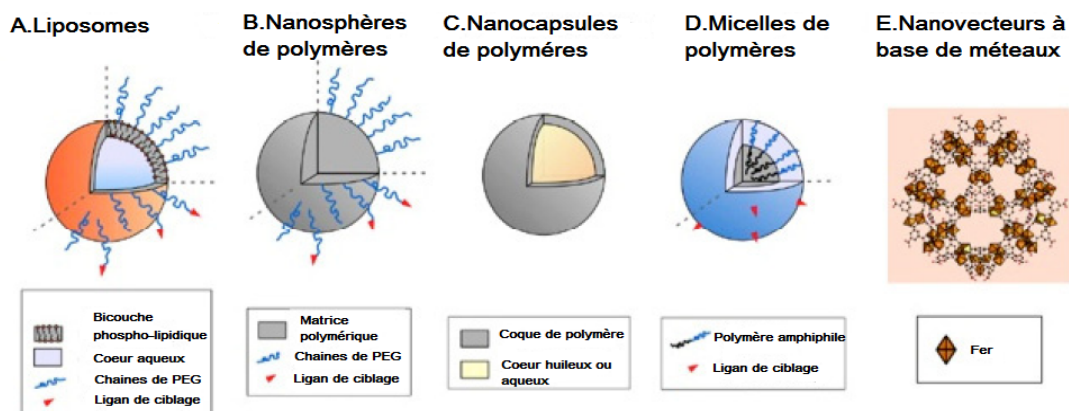


Figure 10: Différents types des nanovecteurs utilisés pour la vectorisation des médicaments

III.2.1 Liposome

Les liposomes furent fabriqués pour la première fois en 1965 par Alec Bangham et ses collègues[28], alors qu'ils effectuaient des recherches sur les propriétés de la bicouche lipidique de la membrane plasmique (figure 11). Ce sont des vésicules artificielles, sphériques, formées par une ou plusieurs bicouches de phospholipides séparées entre elles par un espace aqueux. Les liposomes sont classés en trois catégories, en fonction de leur taille et du nombre de bicouches lipidiques les composant. Les Small Uni-lamellar Vesicles (SUV) qui sont de petits liposomes d'environ 20-100nm de diamètre possédant une seule bicouche de phospholipides, les Large Unilamellar Vesicles (LUV) qui sont des liposomes à une seule bicouche de taille très hétérogène et les Multi-lamellar Vesicles (MLV) qui possèdent deux ou plusieurs bicouches lipidiques séparées entre elles par un milieu aqueux[29].

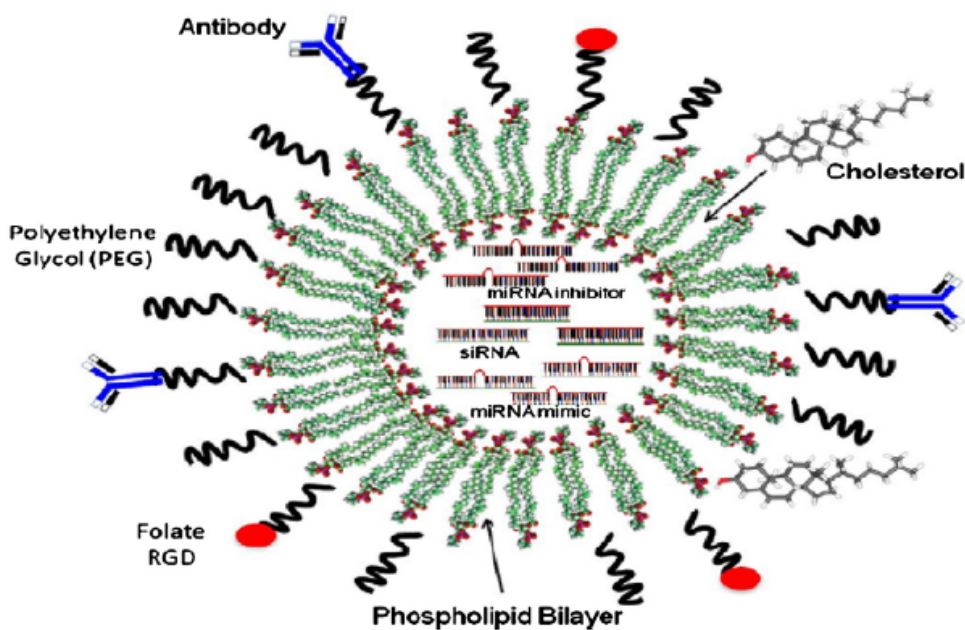


Figure 11: Représentation schématique montrant l'application des liposomes dans la vectorisation des médicaments.

III.2.2 Nanoparticules polymériques

Les nanoparticules à base de polymères, pouvant donner lieu à des systèmes matriciels (nanosphères) ou réservoirs (nanocapsules) d'une centaine de nanomètres, formés de polymères biodégradables (figure 10). Ces NPs peuvent être recouvertes de molécules ligands assurant un adressage sélectif au niveau des tissus cibles. Ces assemblages permettent de contrôler dans le temps et dans l'espace la libération du principe actif[30].

III.2.2.1 Définition du terme : « nanoparticule »

- Selon la norme ISO

Une nanoparticule est définie par la norme ISO TS/27687 comme étant un nano-objet dont les trois dimensions sont à l'échelle nanométrique, c'est-à-dire une particule dont le diamètre nominal est inférieur à 100 nm environ (figure12). Une autre définition, plus large, qualifie de « nanoparticule » un assemblage d'atomes dont au moins une des dimensions se situe à l'échelle nanométrique (ISO, 2008)[31].

- Définition de l'Union Européenne 2011/696/UE

Un nanomatériau est un matériau naturel, formé accidentellement ou manufacturé contenant des particules libres, sous forme d'agrégat ou sous forme d'agglomérat, dont au moins 50% des particules, dans la répartition numérique par taille, présentent une ou plusieurs dimensions externes se situant entre 1 nm et 100 nm. Dans des cas spécifiques, lorsque cela se justifie pour des raisons tenant à la protection de l'environnement, à la santé publique, à la sécurité ou à la compétitivité, le seuil de 50 % fixé pour la répartition numérique par taille peut être remplacé par un seuil compris entre 1 % et 50 %[32].

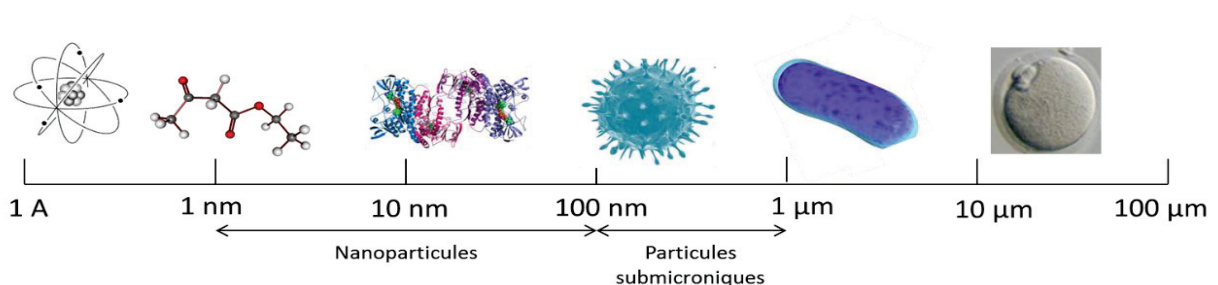


Figure 12: Comparaison de la taille des nanoparticules à celle des principales structures chimiques et biologiques

En général, la taille d'une nanoparticule est comprise entre 1 et 100 nm. Néanmoins, la définition et l'étude d'une nanoparticule dépendent beaucoup de son application spécifique. Le tableau III résume les définitions des nanoparticules et nanomatériaux par différentes organisations.

Tableau III: Définition de « nanoparticule » et « nanomatériel »

	Nanoparticule	Nanomateriel
ISO (International Organisation for Standardisation)	Une particule de taille de 1 à 100nm en diamètre	-
ASTM (American Society of Testing and Materials)	Une particule ultrafine dont la longueur à 2 ou 3 endroits est de 1 à 100nm	-
NIOSH (National Institute of Occupational Safety and Health)	Une particule de diamètre entre 1 et 100nm, ou une fibre de taille entre 1 à 100nm	-
SCCP (Scientific Committee On Consumer Products)	Au moins une dimension est de l'ordre du nanomètre	Un matériel dont au moins un côté de la structure interne est de l'ordre du nanomètre
BSI (British Standards Institution)	Toutes les dimensions ou diamètres sont de l'ordre du nanomètre	Un matériel dont au moins un côté de la structure interne est de l'ordre du nanomètre
BAuA (Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin)	Toutes les dimensions ou diamètres sont de l'ordre du nanomètre	Un matériel composé d'une nanostructure ou une nanosubstance

A. Les nanocapsules

Les nanocapsules sont des particules colloïdales constituées d'un réservoir liquide ou semi-liquide à température ambiante, contenu à l'intérieur d'une enveloppe solide de nature polymérique. Dans les systèmes nanocapsulaires, les molécules sont généralement incorporées dans le réservoir, mais elles peuvent aussi être associées de façon covalente ou non à la paroi polymérique. Le type de polymère et les propriétés de surface influencent: la stabilité de la nanocapsule, le type de molécule transportable et la pharmacocinétique de la formulation. Le réservoir des nanocapsules peut être de nature lipidique ou bien aqueuse (figure 13), permettant d'incorporer des molécules chimiques hydrosolubles ou non [33].

Nanocapsules



Figure 13: structure de nanocapsule

B. Les nanosphères

Les nanosphères sont des nanoparticules polymériques colloïdales matricielles; c'est-à-dire dont la structure est entièrement solide (figure 14). Elles peuvent être pleines ou poreuses. Les nanosphères pleines sont des structures nanométriques compactes, de formes généralement sphériques, synthétisées à base de polymères ou de copolymères, le principe actif peut être dispersé ou dissous dans la matrice [34].

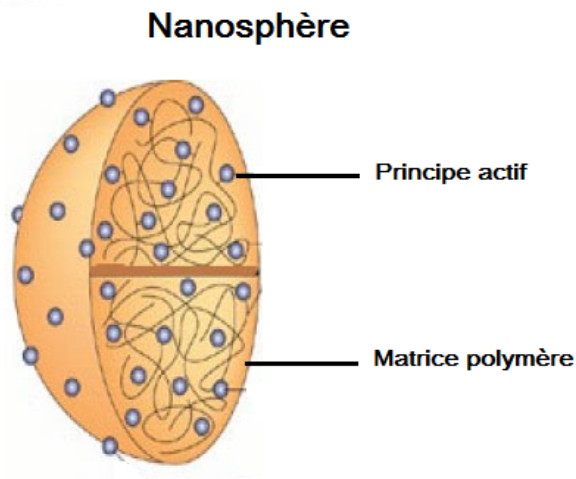


Figure 14: Structure de nanosphère

C. Les dendrimères

Les dendrimères adoptent une forme dite « d'arbres » et sont obtenus par l'assemblage de monomères, nécessitant de nombreuses étapes de synthèse (figure 15). Leurs propriétés varient donc en fonction des monomères employés. Ils peuvent arborer des zones hydrophobes ou hydrophiles, chargées ou non, en fonction des caractéristiques souhaitées. La présence par exemple de groupes carboxyliques leur apporte un caractère hydrophile. Leur taille est généralement comprise entre 1 et 100 nm. Ils possèdent donc une structure contrôlée atome par atome, mais le procédé de synthèse s'avère complexe et délicat [35].

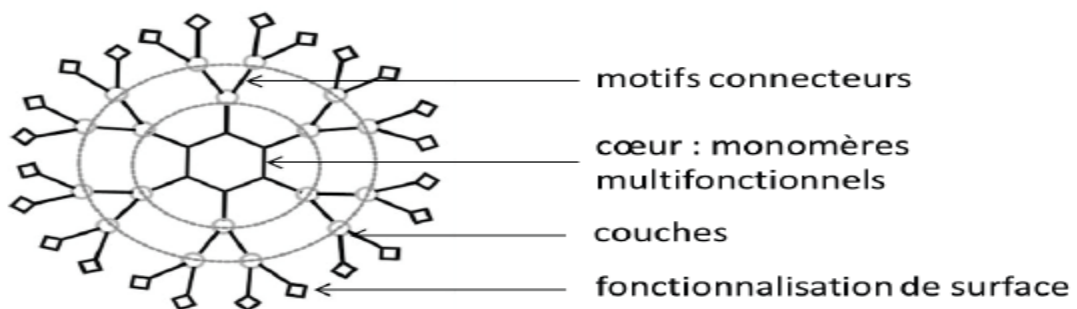


Figure 15: Représentation schématique de la structure dendritique

III.2.2.2 Polymères utilisés dans les nanoparticules

A. Poly(alkyl cyanoacrylate)

Les poly(alkyl cyanoacrylates) (PACA) sont des polymères biodégradables utilisés dans le domaine médical (figure 16).

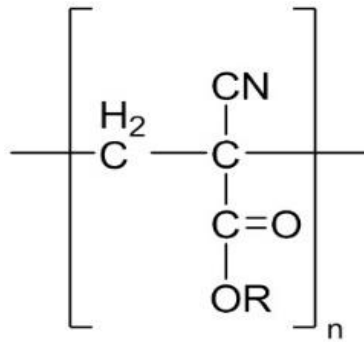


Figure16: Poly(alkyl cyanoacrylate)

Ils sont utilisés depuis les années 60 comme colle chirurgicale à cause de leur fort pouvoir collant, même sur les tissus humains. Ce sont les premiers polymères biodégradables utilisés pour la formation de NP[36]. Les NPs de PACA ont été développées par Speiser et Couvreur à la fin des années 70. Ils ont décrit l'encapsulation d'agents anti-cancéreux dans ces NPs avec un taux de chargement en principe actif supérieur aux liposomes[37].

Ils ont ensuite rapporté que les NPs de PACA chargées en doxorubicine étaient plus efficaces et moins toxiques que la doxorubicine seule. L'utilisation de ces nanoparticules permet en effet d'éviter l'effet de résistance des cellules, puisque le mécanisme d'internalisation de la doxorubicine seule est différent de celui de la doxorubicine encapsulée dans les NPs de PACA. Ce composé, baptisé Livatag®, est actuellement en phase III d'essai clinique dans le cadre du traitement du cancer primitif du foie, et a reçu en mai 2014 le « fast track approval » de la FDA. Ce statut permet une procédure de revue accélérée du traitement.

Les NPs de PACA ont également été utilisées pour amener des principes actifs à travers la BHE[38], mais aussi par voie orale, notamment pour l'insuline[39].

B. Acide hyaluronique

L'acide hyaluronique peut être utilisé comme matrice de nanoparticule (figure 17). Choi et Chung ont décrit en 2011 la formation de nanoparticules d'acide hyaluroniques PEGylées encapsulant de la doxorubicine, puis de la camptothécine. Ils ont ainsi pu synthétiser des NPs bénéficiant de l'effet EPR pour atteindre les nanoparticules mais aussi des récepteurs CD44 surexprimés à la surface d'un grand nombre de cellules tumorales. Après internalisation par endocytose à récepteur, la matrice est dégradée par les hyaluronidases présentes dans ces cellules tumorales, ce qui conduit au relargage des principes actifs encapsulés[40].

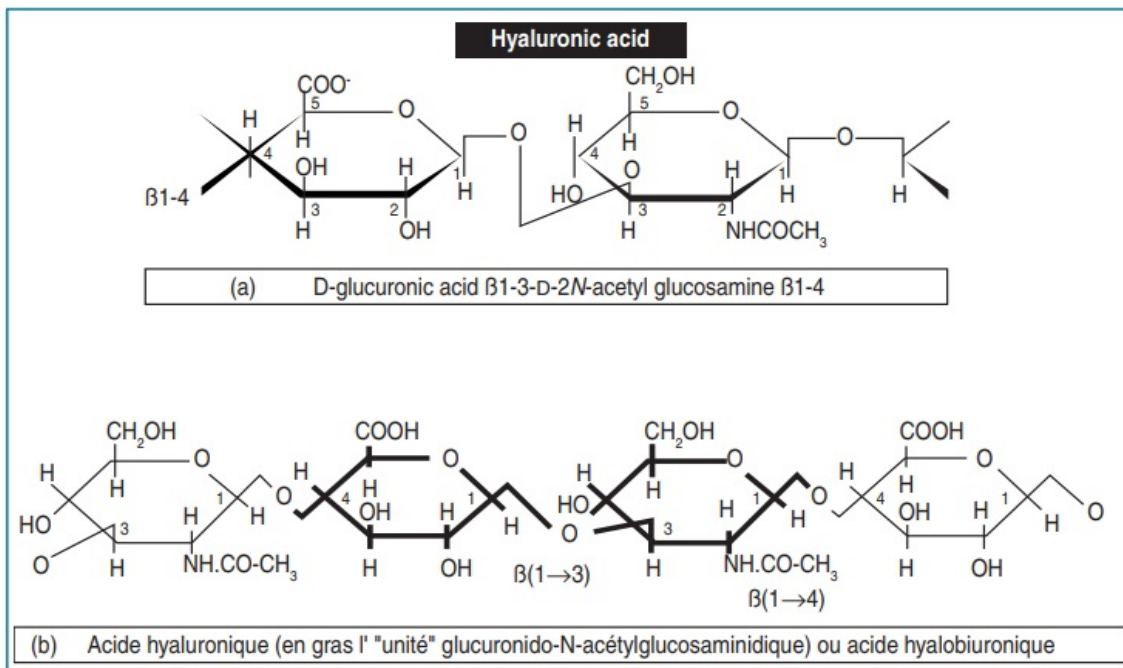


Figure 17 : Acide hyaluronique structure de base disaccharidique (a)
et début de polymérisation (b)

C. Chitosane

La chitine est un polysaccharide naturel composé de N-acétylglucosamines liés par une liaison β (1 \rightarrow 4) (figure 18). C'est le polysaccharide le plus abondant sur terre, après la cellulose.

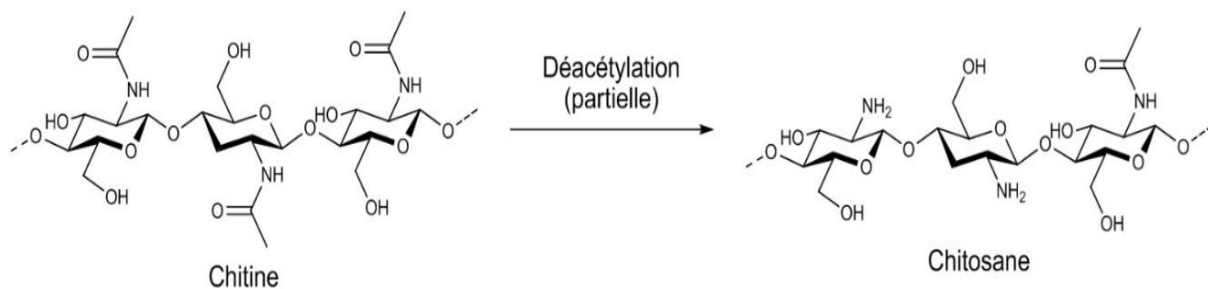


Figure 18: Structure de la chitine et du chitosane

La principale source de chitine pour la production mondiale est la coquille de crabe et de crevette. Le chitosane est obtenu par déacétylation (non totale) de la chitine, soit par traitement chimique, soit par traitement avec la chitine déacétylase. La chitine est appelée chitosane lorsque le degré d'acétylation du polysaccharide passe en dessous de 50%. Le chitosane devient alors soluble dans l'eau. Grâce à la présence de groupements amine, le chitosane peut interagir avec les entités chargées négativement telles que les résidus acides sialiques des glycoprotéines présentes dans les muqueuses. Ainsi les formulations à base de chitosane peuvent être utilisées pour des applications locales (nasales, oculaires, pulmonaires, orales, vaginales, etc.) [41]. Mais le chitosane a aussi été utilisé comme matrice de NPs pour le transport de doxorubicine à la tumeur. Mitra et Gaur ont rapporté en 2001 une régression tumorale et un temps de survie augmenté des souris présentant une tumeur sous-cutanée plusieurs semaines après l'injection de NPs de chitosane encapsulant un conjugué dextran-doxorubicine par rapport au conjugué dextran-doxorubicine seul et à la doxorubicine libre[42]. Le laboratoire de Ick Chan Kwon en Corée a publié plusieurs travaux sur des nanoparticules de chitosane modifiées par des groupements glycol et acide cholanique. Ils ont obtenu des NPs de diamètres entre 300 nm et 500 nm, qu'ils ont ensuite chargées en paclitaxel, peptide RGD, cisplatine puis docetaxel. Ils ont alors observé dans chaque cas une efficacité améliorée et une diminution de la toxicité par rapport aux traitements à base de principes actifs libres[43].

D. Acide lactique / glycolique

Le poly(acide lactique-co-acide glycolique) (PLGA) (figure 19) est un polymère biodégradable utilisé depuis plus de 30 ans en raison de sa biocompatibilité avec les tissus humains. En effet, les poly(acide lactique-co-acide glycolique) sont facilement hydrolysés en milieu *in vivo*, générant de l'acide lactique et de l'acide glycolique, deux monomères endogènes qui peuvent être métabolisés par le cycle de Krebs.

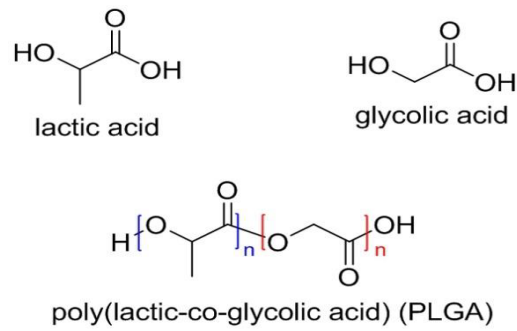


Figure 19: Monomères d'acide lactique et glycolique - Copolymère PLGA

Le poly(acide lactique) (PLA) a été proposé en 1966 par Kulkarni, pour être utilisé comme fil de suture biodégradable, particulièrement utile pour les sutures internes[44].

III.2.3 Les nanotubes de carbone

III.2.3.1 Les fullerènes

Ces structures carbonées ont été découvertes en 1985 par Harold Kroto, Robert Curl et Richard Smalley en vaporisant du graphite par laser dans une enceinte d'hélium et en mesurant le spectre de masse du carbone. Les objets prennent la forme d'une sphère, d'un ellipsoïde, d'un nanotube ou encore d'un anneau. Ils comportent 60 à 70 atomes agencés en pentagones et en hexagones, et présentent une grande stabilité (figure 20). Les molécules de fullerène peuvent aussi s'arranger selon un réseau cristallin pour former des nanotubes. Ils sont peu solubles dans l'eau ($1,3 \times 10^{-11}$ mg/mL) et forment des suspensions colloïdales [45].

Il faut noter que les nanotubes n'ont que deux dimensions nanométriques, leur longueur pouvant avoisiner le centimètre actuellement. Ils peuvent être observés en microscopie électronique, en spectroscopie Raman, en spectroscopie par résonance magnétique nucléaire ou en photoluminescence après greffage par liaison covalente ou simple adsorption de groupements fonctionnels contenant des sondes de fluorescence sur les parois des tubes (ce processus est appelé fonctionnalisation). Il est nécessaire de modifier leurs propriétés de surface afin de vaincre leur faible solubilité qui est un obstacle à leur utilisation. Outre leurs propriétés physiques intéressantes (très grande dureté, excellente conductivité), les nanotubes peuvent être remplis dans leur cavité par des composés chimiques : une application très connue en médecine nucléaire depuis 1986 est la création de NP de carbone remplies de technétium-99m (Technegas*) [30, 46].

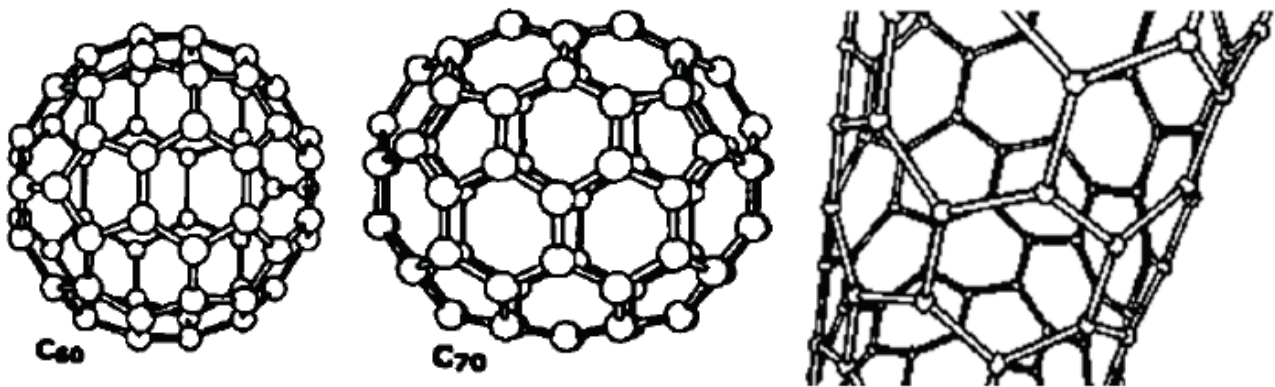


Figure 20: Représentation des fullerènes C60, C70, et un nanotube de carbone

III.2.4 Nanoparticules inorganiques

Elles ont la même structure de base que les NP organiques, avec un noyau aux propriétés fluorescentes, magnétiques ou optiques et une couche protectrice organique en surface (figure 21). À cette pellicule de surface peuvent être attachées des molécules vectrices[47].

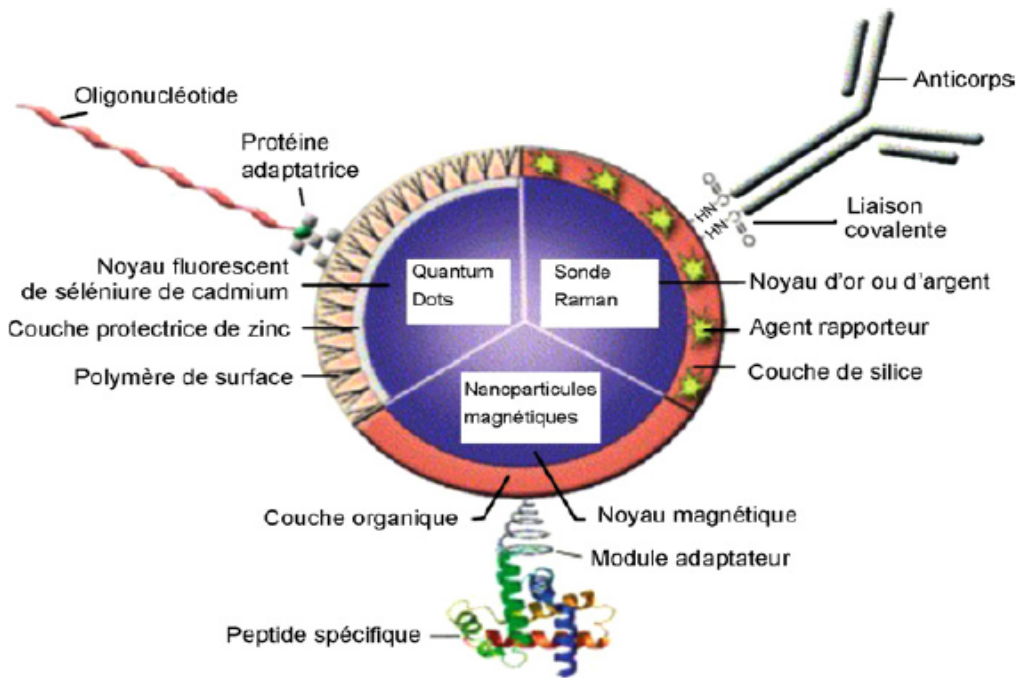


Figure 21: Structure de base des nanoparticules inorganiques

III.2.4.1 Puits quantiques (quantum dots)

Ces structures d'appellation anglophone « quantum dots », ont été découvertes en 1980 par Louis et Brus. Ces NP sont constituées de quelques centaines à quelques milliers d'atomes métalliques formant un nanocristal. Leurs propriétés électroniques et optiques sont uniques car non présentes dans les molécules constitutives de base, ni dans les cristaux massifs. Pour un type de semi-conducteur donné (par exemple, séléniure de cadmium [CdSe]), les quantum dots (QD) se caractérisent par une émission de fluorescence lors d'excitation par une source lumineuse. La longueur d'onde de cette émission de fluorescence est directement liée à la taille des QD, cette taille étant contrôlable lors de la fabrication. Le spectre d'émission s'étend du proche infrarouge (1500 nm, pénétration de quelques centimètres dans les tissus, permettant quelques utilisations in vivo) aux longueurs d'onde du visible (jusqu'à 400 nm, pénétration d'un à deux millimètres). Les avantages des QD par rapport aux marqueurs fluorescents organiques sont nombreux: grande brillance (meilleur rapport signal/bruit), très grande résistance au photoblanchiment (pas de perte d'émission de fluorescence malgré une excitation prolongée) permettant l'observation pendant plusieurs heures d'une NP unique avec un microscope à fluorescence. Un spectre d'excitation large permet, avec la même longueur d'onde d'excitation, de générer en même temps une émission dans le vert pour des QD de 2 nm et dans le rouge pour ceux de 7 nm (Figure 21). Ces composés sont hydrophobes, et nécessitent l'ajout de ligands de surfaces hydrophiles mais ils peuvent aussi être conservés sous forme aqueuse stable, encapsulés dans des micelles[30].

III.2.4.2 Nanoparticules d'oxyde de fer magnétique et supermagnétique

Elles sont formées d'un noyau métallique magnétiquement actif (fer essentiellement, mais aussi cobalt, nickel) et sont utilisées comme agent de contraste en imagerie par résonance magnétique (IRM) (figure 22)[48]. Elles sont couvertes d'une couche organique protectrice sur laquelle peuvent être attachées des molécules vectrices. Elles peuvent être encapsulées dans des micelles[30].

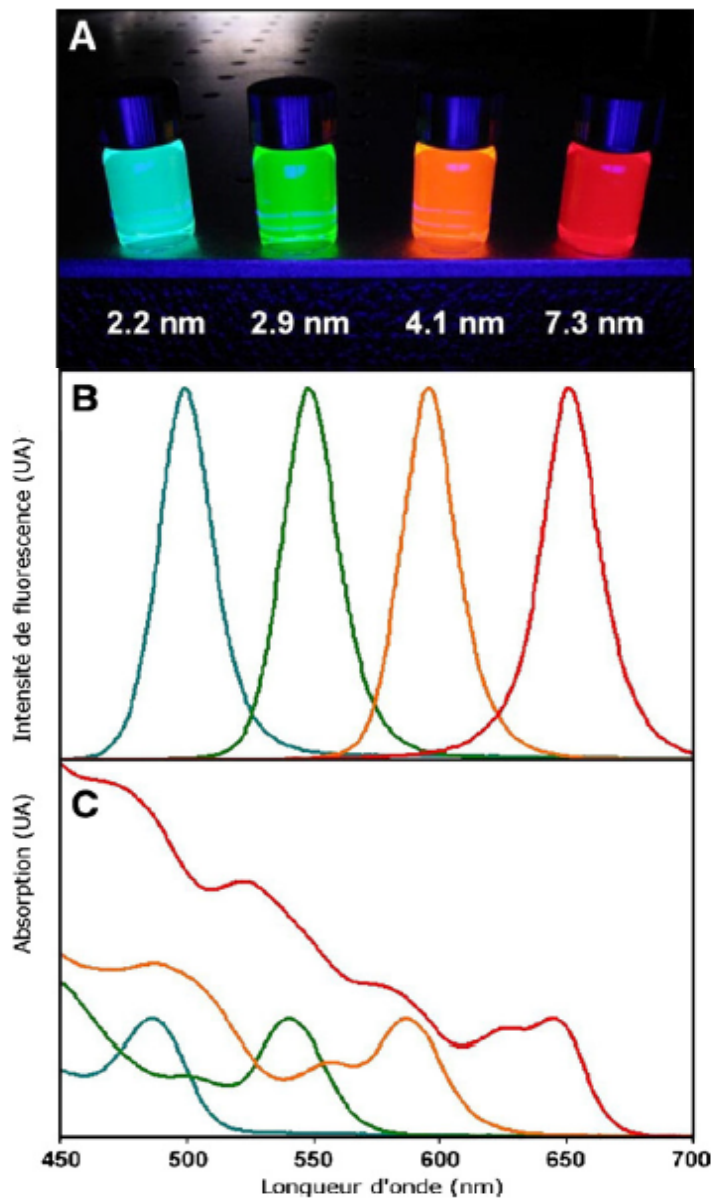


Figure 22: Propriétés optiques dépendantes de la taille des quantum dots. Les Propriétés optiques sont dépendantes de la taille des quantum dots de séléniure de cadmium dans du chloroforme, montrant le conditionnement des quantum dots et le réglage de l'émission de fluorescence par modification de la taille des quantum dots. **A.** Image en fluorescence de quatre tubes de quantum dots répartis selon des tailles allant de 2,2 nm à 7,3 nm. Cette image a été obtenue par illumination ultraviolette. **B.** Spectres de fluorescence des quatre mêmes échantillons de quantum dots. Les bandes d'émission étroites (23–26 nm de largeur à mi-hauteur) témoignent de la faible variation de taille des quantum dots au sein de chaque échantillon. **C.** Spectres d'absorption des quatre mêmes échantillons de quantum dots. Les spectres d'absorption sont très larges, permettant l'utilisation d'un large spectre d'excitation. Les unités des images d'absorption et d'intensité de fluorescence sont arbitraires (UA).

III.2.4.3 Nanoparticules de diamant photoluminescentes

L'ajout d'une impureté (atome d'azote et/ou de nickel) lors de la production d'un diamant synthétique peut conduire à la formation de centres colorés photoluminescents (exemple : les centres NV, composés d'un atome d'azote et d'une lacune). L'avantage de ces NP est une photoluminescence intense qui est stable dans le temps. Ces structures sont spontanément internalisées dans les cellules par un mécanisme d'endocytose[49].

III.2.4.4 Sondes Raman

Les nanoparticules formées d'un noyau métallique (or, argent ou bismuth) possédant des propriétés physiques permettant l'étude spectroscopique en imagerie optique, elles sont recouvertes d'une couche de silice[49].

IV. Devenir des nanovecteurs dans l'organisme

IV.1 Les interactions entre les nanovecteurs et les cellules

Ces interactions sont importantes à connaître car, beaucoup de cibles biologiques étant intracellulaires, les voies de pénétration dans la cellule ainsi que le trafic intracellulaire vont influencer l'effet thérapeutique. Des 1977, il a été montré que l'utilisation de nanocapsules permettait de libérer au niveau intracellulaire des molécules qui ne diffusent pas spontanément dans la cellule.

Depuis, de nombreuses études ont montré que la voie d'entrée dépendait de la nature de la cellule ainsi que des caractéristiques physico-chimiques des nanovecteurs. Tandis que les cellules endothéliales et épithéliales semblent favoriser la pénétration intracellulaire des nanovecteurs par la voie de l'endocytose via les clathrines, les macrophages utilisent plutôt la voie de la phagocytose. Bien qu'il n'y ait pas de consensus clair concernant l'influence de la taille des nanoparticules sur leur capture intracellulaire, il semble que les plus petites particules sont internalisées en plus grand nombre par les cellules, bien que, dans certains cas, la quantité totale de nanomatériau internalisé puisse être plus importante avec des nanoparticules de taille moyenne (environ une centaine de nanomètres). Les nano-objets chargés positivement présentent un taux d'endocytose généralement plus important que les particules de même taille mais chargées négativement, en raison de l'effet d'attraction (particules positives) ou de répulsion (particules négatives) avec la membrane cellulaire chargée négativement. D'autre part, certains nanovecteurs chargés positivement sont capables d'échapper à la voie dégradative des lysosomes grâce à un effet d'« éponges à protons » : ionisés au pH acide des endosomes, ces matériaux cationiques perméabilisent la membrane endosomale et favorisent ainsi l'échappement avant la fusion avec les lysosomes primaires originaires de l'appareil de Golgi[50].

Enfin, lorsque les nanovecteurs sont recouverts de ligands (acide folique, peptides, anticorps) spécifiquement orientés vers des récepteurs exprimés à la surface de la membrane cellulaire, ils sont internalisés suivant la voie de capture utilisée par ce récepteur. De remarquables résultats ont également été obtenus avec des USPIO (Ultra Small Particules of Iron Oxide)

décorés par un peptide issu de la protéine TAT (Trans-Activator of Transcription) du VIH : en utilisant la voie d'entrée du virus, ces nanoparticules pénètrent beaucoup plus massivement dans les cellules que les mêmes nanoparticules non fonctionnalisées.

Quels que soient les mécanismes mis en jeu dans la capture des nanomédicaments par la cellule (endocytose par la voie des clathrines ou des calveolae, pinocytose, phagocytose etc.), les nanotechnologies constituent donc, de par leur faible taille, de remarquables navettes pour l'adressage, au coeur des cellules, de molécules à visée thérapeutique[50].

IV.2 La pharmacocinétique et la biodistribution des nanovecteurs

Lorsqu'ils sont administrés par voie intraveineuse, tous les vecteurs colloïdaux (liposomes, nanoparticules, micelles polymères etc.) interagissent fortement avec les protéines plasmatiques en raison de la très grande surface spécifique qu'ils développent (plusieurs dizaines de m² par gr). Celle-ci favorise la création d'interactions hydrophobes fortes entre la surface du vecteur et certaines opsonines plasmatiques qui sont reconnues par des récepteurs spécifiques localisés au niveau des macrophages du système des phagocytes mononucléés (SPM) (foie, rate, moelle). Les vecteurs colloïdaux ainsi décorés d'opsonines sont donc captés principalement par les cellules de Kupffer du foie et par les macrophages de la zone marginale de la rate dont les récepteurs reconnaissent spécifiquement les fragments Fc des IgG, le fragment C3bi du complément ou la fibronectine. Cette distribution hépatosplénique des nanovecteurs est également favorisée par la structure histologique de l'endothélium vasculaire qui, au niveau de ces tissus, a un caractère discontinu autorisant le passage des colloïdes. Si la localisation hépatosplénique des nanovecteurs peut être mise à profit pour le traitement de pathologies hépatiques sévères (métastases hépatiques, hépatocarcinome résistant etc.), elle constitue néanmoins un frein à l'accès à d'autres territoires de l'organisme. L'idée a donc émergé que l'adressage vers ces territoires nécessitait d'abord d'éviter la capture par les organes du SPM[50].

**DEUXIÈME PARTIE:
LA FABRICATION
DES NANOVECTEURS
DANS L'INDUSTRIE
PHARMACEUTIQUE**

I. Les technologies « TOP-DOWN », l'approche descendante

I.1 Méthodes par broyage

I.1.1 Principe

Le broyage à boulets a été développé par Benjamin et ses collaborateurs à l'International Nickel Company à la fin de 1960, pouvait produire avec succès les suspensions ultrafines et reste le mode de production le plus couramment utilisé dans l'industrie pharmaceutique.

Le principe du broyage est plutôt simple: les boulets broyeurs, le milieu de dispersion (souvent l'eau), le principe actif et au moins un stabilisant sont chargés dans la chambre de broyage. Les forces de cisaillement et les chocs générés par le mouvement des boulets broyeurs conduisent à la réduction de taille des particules. Contrairement à l'homogénéisation à haute pression, la méthode de broyage est une technique à basse énergie. Des boulets broyeurs de taille variée peuvent être utilisés en fonction des spécifications du produit. Ces billes de broyages sont constituées de céramique dont le dioxyde de zirconium stabilisé par du cérium ou de l'yttrium, de l'acier inoxydable, du verre ou encore des billes enveloppées de résine de polystyrène extrudé. Il y a 2 principes pour provoquer le mouvement du milieu de broyage: soit le milieu de broyage est entraîné par un agitateur, soit le conteneur entier possède un mouvement complexe qui provoque le mouvement du milieu de broyage. Pour les lots de volume important, il est plus difficile d'avoir le conteneur entier en mouvement, donc le broyage avec agitateur est plus facile dans ce cas-là. Dans la production industrielle actuelle, l'agitateur entraînant les billes en mode de recirculation est couramment utilisé. Le temps de broyage dépend de plusieurs facteurs, par exemple la dureté du PA, la viscosité du milieu, la température, l'énergie fournie, la taille des billes de broyage[51].

La figure (figure 23) montre les mouvements des boules et de la poudre. Puisque les directions de rotation du bol et du disque de rotation sont opposées, les forces centrifuges sont alternativement synchronisées. Ainsi, les billes de broyage durcies ont été frottées et le mélange de poudre a été broyé alternativement en roulant sur la paroi interne du bol et en frappant le mur opposé. L'énergie d'impact des billes de fraisage dans la direction normale

atteint une valeur jusqu'à 40 fois supérieure à celle due à l'accélération gravitationnelle. Ainsi, le broyeur à billes planétaire peut être utilisé pour le fraisage à grande vitesse.

Dans l'industrie pharmaceutique différents broyeurs peuvent être utilisés. Néanmoins, les broyeurs comme le broyeur à mortier ou le broyeur à couteaux, qui sont des broyeurs grossiers, ne sont pas adaptés pour la production des très petites particules. Le type de broyeur le plus utilisé, dans ce but, est le broyeur à billes ou boulets, et le plus souvent en milieu liquide[52].

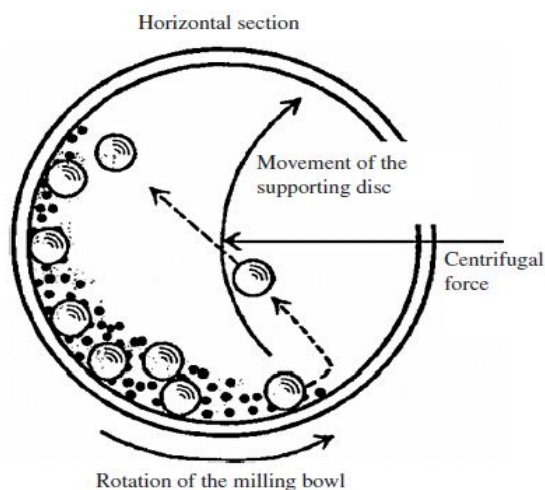


Figure 23: Représentation du broyage dans un broyeur à billes

Les particules en suspension dans le liquide sont soumises à des forces énergétiques importantes et elles vont essentiellement passer par 4 étapes :

1. Au début, les particules sont aplaties à cause des forces de compression dues à la collision des billes.
2. Ensuite, des changements significatifs sont observés : la taille et la forme des particules sont modifiées par des fracturations et soudages à froid, qui sont prédominants dans cette étape du procédé.
3. Le mélange devient homogène, et les particules ont une taille très réduite.
4. La limite du broyage est atteinte. Une fois arrivé à cette étape, la taille des particules ne change plus, même si on apporte de l'énergie ou si on prolonge la durée du mélange[52].

I.1.2 Exemple de procédé de fabrication

La technique Nano-Crystal® de la société Elan est basée sur le principe du broyage à bille qui a connu un succès commercial important. C'est une technique leader de ce domaine et sa capacité de production est suffisamment large pour pouvoir répondre à des besoins très variés depuis l'échelle de recherche jusqu'à l'échelle industrielle (500 - 1000 kg de PA par lot).

Le procédé de broyage est similaire quelle que soit l'échelle de production comme illustré dans la figure 24: le conteneur (contenant les billes de broyage) est chargé en PA peu hydrosoluble. Dans un deuxième temps, le moteur active la pompe, le milieu, les particules de PA et la paroi du conteneur en générant les forces d'impact et de cisaillement très importantes qui vont par conséquent réduire la taille du principe actif de quelques centaines de microns au rang nanométrique. Les nanoparticules formées sont maintenues par les stabilisants ajoutés dans le conteneur. En fonction de la charge initiale, deux types de système peuvent être distingués reposant principalement sur la façon d'alimenter le conteneur ; donc soit il s'agit de broyage vertical pour petite échelle, soit de plateforme de recirculation horizontale pour grande échelle[53].

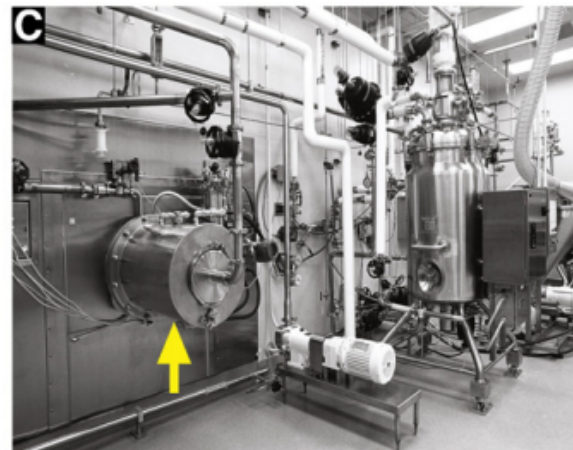
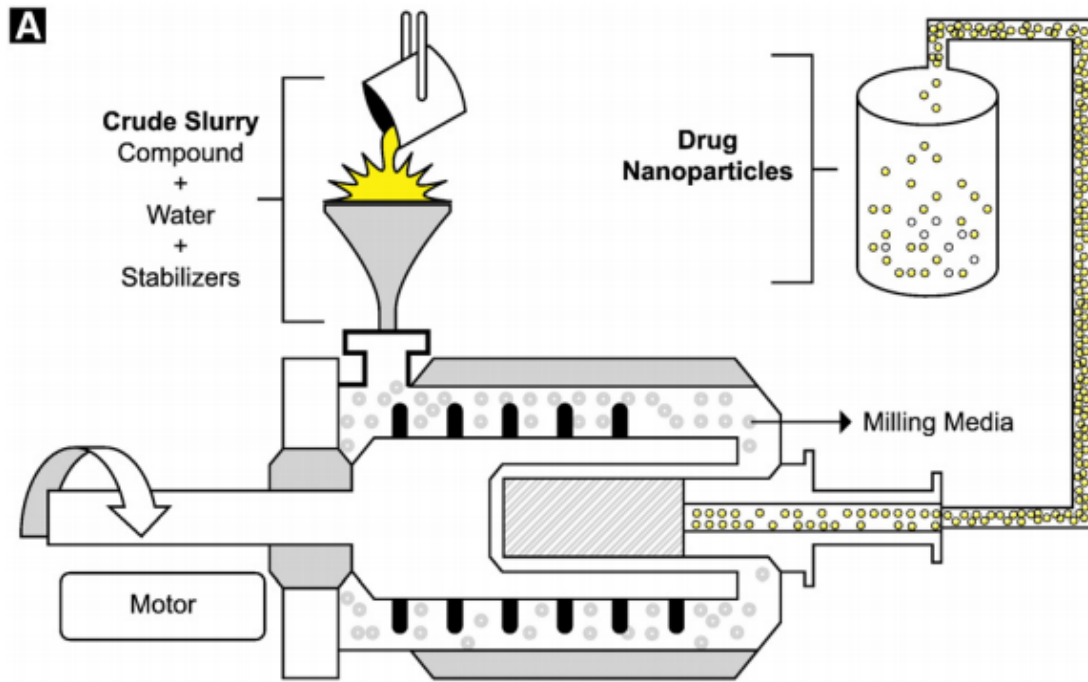


Figure 24: Schéma simplifié du procédé de la technique Nano-Crystal. **A** : est un diagramme schématique du processus de nanosynthèse utilisant la technologie de broyage humide. La chambre (avec des milieux de broyage) est chargée avec la suspension brute d'un composé faiblement soluble dans l'eau. Lorsque le moteur a activé les médias, les particules de médicament et les parois de la chambre apportent des forces de cisaillement / d'impaction importantes, ce qui entraîne une réduction de la taille des particules de 100 microns à l'échelle nanométrique. Les milieux de broyage sont retenus dans la chambre à l'aide d'un tamis et le composé faiblement soluble dans l'eau dans une solution de stabilisant à base d'eau peut être traité en mode discontinu. **B** : montre une série d'unités de broyage de support à échelle exploratoire qui peuvent être utilisées pour traiter des quantités milligrammes d'actifs. **C** : une unité de fabrication commerciale à grande échelle est montrée. Cette unité est capable de traiter 500-100 kg d'actif par lot[53] .

I.1.3 Avantages et inconvénients de la méthode de broyage

Les avantages d'utiliser le broyeur à billes pour produire des nanoparticules sont les suivants :

- La méthode est bien connue et simple à utiliser.
- On peut préparer des nanosuspensions de médicaments qui ont une mauvaise solubilité dans l'eau et dans des solvants organiques.
- La concentration en nanoparticules dans la suspension finale peut être très variée.
- La méthode peut être utilisée en milieu industriel[54].

Un problème récurrent pour tous les types de broyage est l'érosion des éléments broyeurs pendant le procédé. Pour éviter ceci, l'enrobage des billes peut s'avérer efficace. Il existe notamment un procédé breveté (Method of grinding pharmaceutical substances) permettant d'éviter des contaminations inacceptables. Pour ce faire, ce procédé utilise les billes de broyage enrobées de résines polymériques inertes chimiquement et physiquement. La méthode de broyage a un autre inconvénient qui est l'adhésion du produit sur la paroi du conteneur et la surface des billes, ce qui peut engendrer une perte de principe actif. Certains procédés utilisent une énergie relativement basse ce qui exige une opération de broyage longue pouvant durer plusieurs jours [53].

I.2 Méthode d'homogénéisation à haute pression (HHP)

L'homogénéisation à haute pression est un procédé mécanique qui consiste à forcer le passage d'un produit fluide à travers une ouverture très petite sous l'influence de pressions très élevées (supérieures à 100 MPa) (figure 25)[55]. Le liquide est ainsi soumis à un cisaillement très important, ce qui induit la formation de gouttelettes très fines.

L'origine de ce cisaillement est la restriction du flux sous haute pression à travers la vanne restrictive. La pression appliquée va provoquer une augmentation de la température due à la chaleur de la compression. Cette température va aussi être augmentée en raison du cisaillement, et de la conversion partielle de l'énergie mécanique en chaleur. On peut observer des montées en température de 17-21°C par 100 MPa qui devront être prises en considération notamment avec des substances actives sensibles à la chaleur.

La fabrication des nanoparticules par homogénéisation est intéressante parce qu'elle offre la possibilité de produire en mode continu, donc on peut travailler avec des quantités importantes. Actuellement, il existe deux types d'homogénéisateur :

1. Homogénéisateur par microfluidisation.
2. Homogénéisateur piston-gap[56].

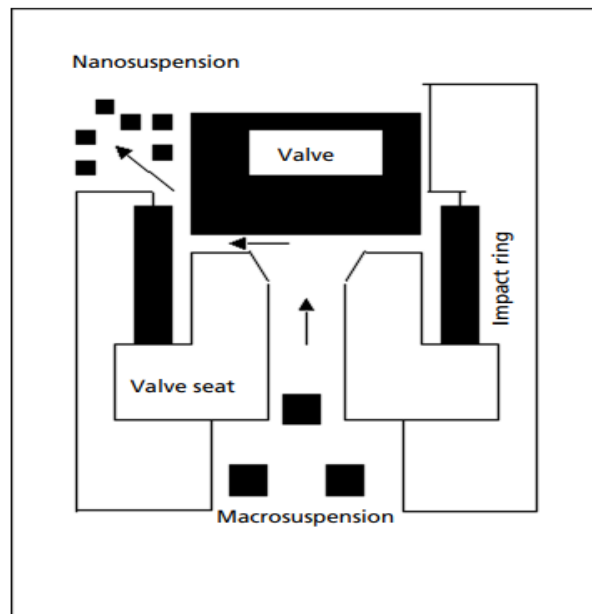


Figure 25: Schéma d'un homogénéisateur à haute pression

I.2.1 Obtention des nanovecteurs par microfluidisation

I.2.1.1 Principe

Dans cette technique, on utilise un appareil « microfluidiseur » possède une géométrie exclusive de forme «Z» ou « Y», équipé d'une pompe volumétrique à haute pression qui force le produit à passer dans la chambre d'interaction qui contient des canaux très fins, dits "microcanaux" (figure 26). Ces derniers sont conçus de manière à ce que les deux courants de l'émulsion s'impactent à haute vitesse (par exemple, 400 m/s) dans la chambre d'interaction, et ceux-ci provoquent des forces de cisaillement et des collisions qui vont réduire la taille des particules[57].

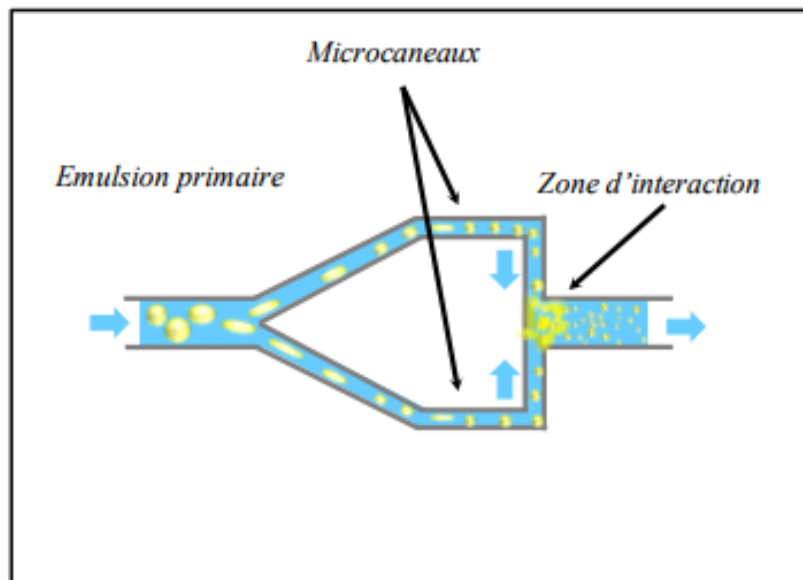


Figure 26: Principe de fonctionnement d'un microfluidiseur

Plusieurs paramètres peuvent avoir un impact sur la taille des nanoparticules/gouttelettes fabriquées.

La pression appliquée, ainsi que le nombre de passages à travers la chambre : plus la pression est importante, plus les particules sont petites, jusqu'à un certain plateau (comme dans le cas du broyage). La même proportionnalité s'applique au nombre de passages, par contre plus le nombre de passage est important, plus la distribution de taille est étroite.

Les tensioactifs utilisés et leur concentration peuvent aussi avoir une grande influence sur la taille des gouttelettes d'une émulsion. En général, les tensioactifs qui sont des petites molécules, comme les polysorbates (Tween*), vont permettre de fabriquer des gouttelettes plus petites. En outre, plus la concentration en tensioactif est importante, plus les gouttelettes seront petites. Par contre, lors de l'utilisation de tensioactifs comme la β -lactoglobuline, grosse molécule protéique, la taille des gouttelettes augmente avec la concentration en tensioactifs.

La viscosité va aussi impacter la taille des gouttelettes. En général, plus une suspension ou une émulsion est visqueuse, plus les particules obtenues vont être grandes. Cependant, ceci peut être contrôlé jusqu'à un certain point en utilisant des tensioactifs[58].

I.2.2 Homogénéisateur de type « piston-gap »

I.2.2.1 Principe

Dans l'homogénéisateur de type « piston - gap », le fonctionnement consiste à faire traverser la suspension du principe actif à travers une petite lumière à une forte vitesse (figure 27). Dans cette petite lumière, les cristaux sont réduits par le phénomène de cavitation, ou encore par la force de cisaillement et les collisions entre les cristaux ou avec la paroi.

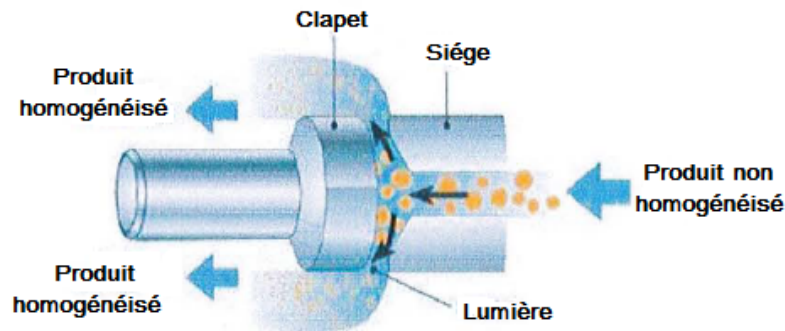


Figure 27: Schéma de l'homogénéisateur gap-piston

Dans cette technologie, la taille des particules dépend majoritairement de :

La pression de l'homogénéisateur : Comme avec le broyage, plus on amène d'énergie au système, plus les particules seront petites, avec toujours une limite au delà de laquelle la taille ne diminue plus. Les pressions utilisées sont souvent supérieures à 500 MPa.

Le nombre de cycles de passage dans l'appareil: comme pour la microfluidisation, plus le produit passe dans le gap, plus la taille diminue, et plus la distribution de taille est étroite.

La substance active elle-même : Certaines substances sont plus rigides que d'autres, donc il peut être plus difficile de diminuer la taille de leurs particules[59].

I.2.3 Exemple de procédé de fabrication

La technique Disso Cube® de la société Skyepharma fait partie de l'homogénéisateur gap-piston. Le principe actif est dispersé dans une solution aqueuse contenant des surfactants, puis cette suspension est poussée à travers une petite lumière sous haute pression de 1500 à 2000 bars en moyenne, pouvant atteindre jusqu'à 4000 bars. Selon la loi de Bernoulli, ceci conduit à

une élévation de vitesse du fluide donc une augmentation de sa pression dynamique en parallèle une diminution de sa pression statique. Lorsque la pression statique descend en dessous de la pression de vapeur de la phase aqueuse, l'eau commence à bouillir et forme des bulles. Ces bulles explosent quand le liquide aura fini de traverser la petite lumière, et la réduction de taille des principes actifs est due aux énergies dégagées par la cavitation. La taille des principes actifs obtenus dépend de la pression de l'homogénéisateur, du nombre de cycle de passage dans l'homogénéisateur, et de la dureté des principes actifs [57].

I.2.4 Avantages et inconvénients

La technique HHP peut monter en échelle ce qui permet de traiter de quelques centaines de litres à des milliers de litres par heure en mode continu.

La taille des particules peut être contrôlée par le nombre de cycles de passage et la pression dans l'homogénéisateur[57] .

L'inconvénient majeur de la microfluidisation est que, dans certains cas, le procédé est très long, avec de nombreux passages à travers la chambre. De plus, la distribution de taille est souvent large, avec parfois même des microparticules dans la suspension finale[57].

En outre, si la pression, ou si le nombre de passage de la suspension dans la chambre est trop important on risque d'induire une coalescence entre les nanoparticules, ce qui entraîne agglomérats de grande taille. Par conséquent, les paramètres du procédé doivent être bien connus pour chaque produit à fabriquer[60].

II. Technologie « Bottom Up »

Contrairement à la technique « Top Down » qui consiste à réduire la taille des grosses particules par divers moyens en vue d'obtenir des nanocristaux, l'approche « Bottom up » qui reconstitue des nanocristaux à partir d'une solution.

II.1 Méthodes par précipitation

La précipitation consiste en plusieurs étapes : une première réaction chimique, avec une super saturation subséquente (quand la solution contient plus de soluté qu'elle ne peut en dissoudre), une nucléation (la formation d'une nouvelle structure par auto-assemblage), une diffusion du soluté et finalement une croissance de la particule (figure 28).

La nucléation et la croissance de la particule, dépendent, toutes les deux, du niveau de la supersaturation. De plus, le micro-mélange joue un rôle important sur la concentration en soluté à la surface de la particule. Plus précisément, un micro-mélange approfondi permet d'obtenir la même concentration sur la surface de tous les nucléis dans le liquide, ce qui donnera une croissance de la particule uniforme et une homogénéité de la taille des nanoparticules. A l'opposé, un micro-mélange insuffisant va résulter en une croissance variable des nucléis, et par conséquent en nanoparticules dont la distribution de la taille sera très large.

Finalement, le temps va aussi jouer un rôle dans la qualité des nanoparticules obtenues. Deux paramètres de temps sont pris en compte pour la fabrication de nanoparticules par précipitation: le temps d'induction, qui est le temps nécessaire pour établir une nucléation stable, et le temps de micro-mélange, qui est le temps nécessaire pour obtenir un micromélange uniforme. Lorsque le temps d'induction est largement supérieur au temps de micromélange, la nucléation est presque uniforme dans l'espace, et donc la distribution de la taille des particules est contrôlée.

Ce contrôle uniforme de la taille des particules peut être atteint de différentes manières, par exemple en utilisant des fluides supercritiques, de la gravité élevée, des ultrasons, des jets d'impact de liquides confinés ou du mélange en vortex. Ces techniques seront détaillées par la suite[61].

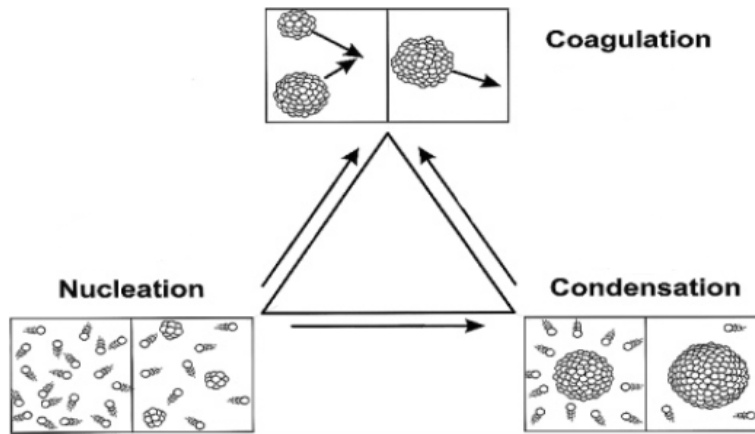


Figure 28: Mécanisme de précipitation

A. Précipitation contre-solvant

Cette méthode de fabrication de nanoparticules par précipitation contre-solvant permet d'obtenir des hydrosols pharmaceutiques en utilisant des appareils très simples. (Les hydrosols sont des nanosuspensions aqueuses de principes actifs peu solubles dans l'eau.) Un mélange réalisé dans un bécher de laboratoire en utilisant un agitateur magnétique est suffisant pour obtenir des nanoparticules si les matières premières et les conditions expérimentales sont optimales. Ceci est assez pratique pour la fabrication des nanoparticules à l'échelle laboratoire. Par contre, pour produire des nanoparticules en grandes quantités (à l'échelle industrielle), il est nécessaire d'utiliser des équipements plus complexes et plus facilement contrôlables (figure 29). De plus, les nanoparticules obtenues par cette méthode sont majoritairement amorphes[61].

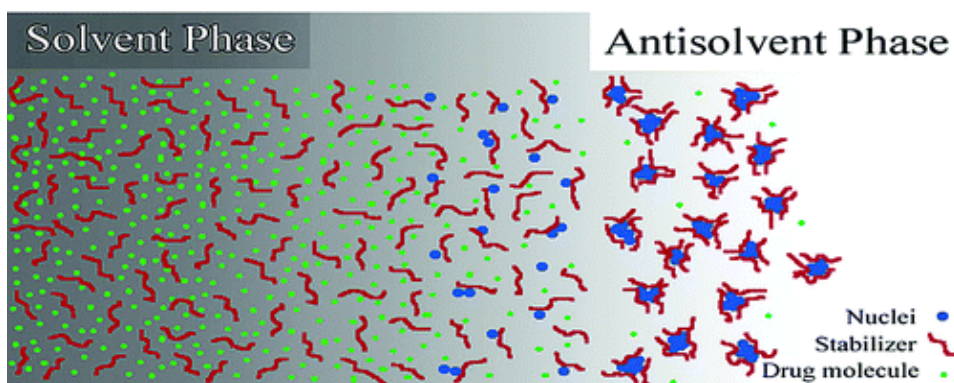


Figure 29: Mécanisme de précipitation contre-solvant

- **Les hydrosols à excipients macromoléculaires**

La production des nanoparticules en hydrosol utilisant comme excipient des macromolécules (ex. gélatine, albumine, collagène ou cellulose) ont été développés dans les années 1970 ; Trois étapes majeures sont impliquées pour produire les nanoparticules:

- a. La dispersion de la macromolécule dans un solvant approprié, généralement de l'eau.
- b. La précipitation de la macromolécule en rajoutant un agent désolvant alcoolique lentement à la solution macromoléculaire à l'aide d'une burette. Cet agent désolvant peut être une solution aqueuse contenant des ions plurivalents (ex. Ca^{2+} or SO_4^{2-}), ou un alcool soluble dans l'eau. Le principe actif est solubilisé dans l'agent désolvant avant de l'introduire dans la solution.
- c. Le rajout d'un agent épaississant qui va activer la formation des liaisons de la macromolécule et qui va créer la matrice de la nanoparticule. Cet agent épaississant est en général un aldéhyde qui est chimiquement éliminé de l'hydrosol à la fin de la réaction.

Le principe actif doit se lier aux nanoparticules physiquement ou chimiquement et ne pas précipiter en tant que particules individuelles. Les médicaments qui peuvent être mis sous forme de nanoparticules en hydrosol incluent des corticostéroïdes, des hormones, le phénobarbital et d'autres molécules hydrophobes. Pour faciliter la dissolution ou pour stabiliser la solution, des tensioactifs peuvent être rajoutés au mélange[61].

- **Les hydrosols à nanoparticules en substance active pure**

Cette technique n'utilise pas de macromolécules en tant qu'excipients. Un solvant organique (soluble dans l'eau, ex éthanol ou acétone) contenant la substance active est mélangé avec une grande quantité d'eau vigoureusement agitée pour produire les nanoparticules. Le mélange à haute vitesse permet la formation simultanée d'un grand nombre de nanoparticules qui ont une distribution de taille étroite.

Egalement, des antiagrégants et des stabilisants peuvent être rajoutés à la phase aqueuse. Un résultat intéressant a été obtenu lorsque l'on utilise un stabilisant électrostatique, tel que la

lécithine. Ces molécules vont être adsorbées à la surface de la nanoparticule et elles vont lui conférer un potentiel zeta, (potentiel électrostatique), qui va empêcher l'agglomération.

La stabilité des hydrosols peut être améliorée en éliminant le solvant organique résiduel en réalisant une évaporation rotatoire. Le séchage peut aussi être réalisé par lyophilisation ou par nébulisation (spray-drying). Un sucre ou un glycol peut être rajouté au mélange pour éviter l'agglomération des particules pendant le séchage et pour aider dans leur remise en suspension après leur reconstitution en milieu aqueux.

En milieu industriel, ce système de séchage par spray-drying est adapté pour être utilisé en routine. L'hydrosol peut être séché directement en ligne après le mélange. Dans cette stratégie, la sortie du mélangeur dans lequel les phases sont mélangées est connectée à l'embout du nébuliseur qui va atomiser la nanosuspension.

Exemple : Des nanoparticules de 80 nm ont été produites en utilisant un mélangeur statique Sulzer, avec palmitoyl-oleyl-phosphatidyl-glycérol en tant que stabilisant électrostatique. Après nébulisation, la taille des particules est descendue à 38 nm. Lorsque les nanoparticules étaient re-dispersées dans l'eau, leur taille finale était de 120 nm.

A cause de l'instabilité de beaucoup de nanosuspensions, des excipients sont souvent nécessaires pour sa stabilité et pour éviter la croissance de la particule. Différents adjuvants sont utilisés pour la précipitation contre-solvant, par exemple des polymères (polyvinyle alcool, éthers de cellulose, chitosan, agar, pectine, et gélatine), des sucres (tréhalose) et des surfactants (poloxamers, esters d'acide gras, et phospholipides).

Exemple (figure 30) : La taille moyenne des nanoparticules d'itraconazole était de 30 μm . (Les particules étaient obtenues par précipitation lors du mélange d'itraconazole dissout dans de l'acétone avec de l'eau). Par contre, les nanoparticules obtenues par le même procédé, mais en rajoutant du (vinylpyrrolidone) dans la phase aqueuse étaient de 300 nm[61].

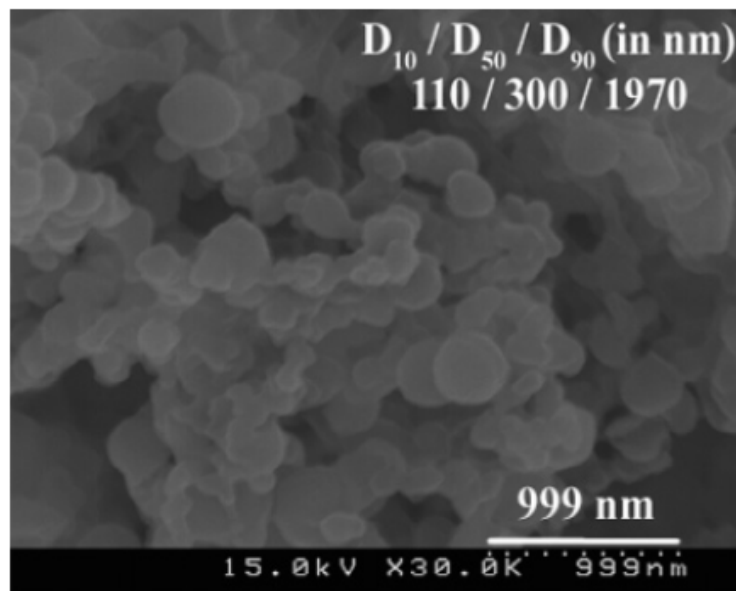


Figure 30: Exemple de Micrographie d'itraconazole réalisée par précipitation antisolvant.

Les agents stabilisants couvrent la surface de la molécule et empêchent sa croissance. Par conséquent, ils doivent pouvoir interagir avec la surface de la nanoparticule. Cela a été observé avec la mauvaise performance des polymères relativement polaires, tels que le dextrane et l'hydroxyéthyl amidon, pour la stabilisation des nanoparticules de médicaments hydrophobes[62].

B. Précipitation contrôlée à gravité élevée

Il s'agit d'une technologie de nanoprécipitation qui semble avoir le plus de potentiel à l'échelle industrielle. Le procédé comprend un garnissage rotatif qui permet d'intensifier le transfert de masse et de chaleur dans les systèmes multiphasiques. Une nouvelle méthode, plus pratique et plus efficace, de précipitation comprenant le micro mélange à gravité élevée pour contrôler la nucléation et la cristallisation des particules des médicaments purs a été développée.

La composante clé de cette méthode est le garnissage rotatif qui contient du métal ou du plastique sous forme du garnissage (figure 31)[63].

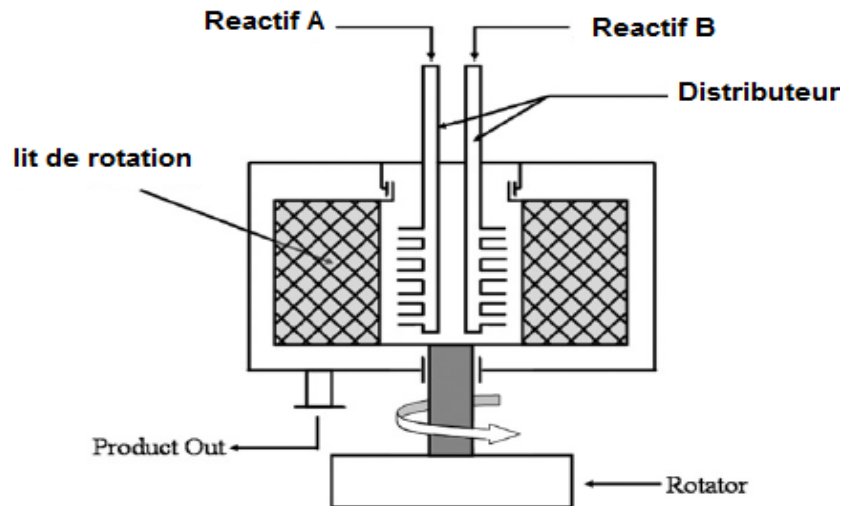


Figure 31: Système de garnissage rotatif

En fait, ce garnissage rotatif est un réacteur dans lequel 2 flux liquides sont introduits à travers des distributeurs et mélangés dans le centre du garnissage, soumis à une importante gravité à cause de la force centrifuge. Ceci fait que le mélange coule à travers le garnissage avant de quitter le réacteur. Pendant la rotation, les fluides qui passent à travers le garnissage rotatif sont étirés et séparés en films fins, en fils et en gouttelettes très petites à cause du fort cisaillement créé par la gravité élevée. Ceci induit un micro-mélange très intense entre les fluides. Le temps de micro-mélange est estimé d'environ 10-100 μ s.

En fonction des flux liquides qui entrent dans le système, la précipitation à haute gravité peut être opérée en 2 modes, contre-solvant et réactif. Dans le mode contre-solvant, les liquides sont la solution contenant le principe actif et un contre-solvant, provoquant la précipitation du principe actif. Dans le mode réactif, les deux flux contiennent les réactifs qui lors du mélange vont subir une réaction chimique pour former le produit final.

La faisabilité de la méthode à gravité élevée pour produire de nanoparticules a été étudiée, avec l'acide benzoïque comme modèle en utilisant le mode réactif. Le but des études était d'évaluer l'influence de différents facteurs sur la taille des nanoparticules obtenues. Les paramètres pris en compte étaient: la vitesse de rotation, la concentration et le débit des

réactifs (sodium benzoate et HCl). Ces études ont montré que les nanoparticules diminuaient de taille avec l'augmentation de chacun des facteurs cités :

- En augmentant la vitesse de rotation, les particules diminuaient de taille, mais uniquement jusqu'à un certain seuil, au-delà duquel la taille ne change plus.
- En augmentant le débit d'un des réactifs, le niveau de supersaturation initial augmente aussi. Ceci va élever le taux de nucléation, ce qui épuise les réserves en deuxième réactif (qui a un débit constant). Par conséquent, de nombreux petits nucléi sont observés. (N'importe lequel des débits des 2 réactifs peut être augmenté)
- En augmentant la concentration, le même effet est observé. La supersaturation augmente, ce qui donne des nanoparticules de petite taille.

De plus, le micro-mélange intense dans le garnissage rotatif permet d'obtenir des particules ultrafines (jusqu'à une taille de 10nm) en augmentant la nucléation et en même temps en empêchant la croissance trop importante des particules[63, 64].

C. Nanoprécipitation flash

La nanoprécipitation « flash » est une méthode de production de nanoparticules stabilisées par des polymères amphiphiles. La méthode comprend le mélange rapide d'une substance active hydrophobe et un polymère amphiphile avec de l'eau (qui est ici le contre-solvant) (figure 32), ce qui enduit la co-précipitation de tous les deux, la substance active et le polymère. Ceci permet de préparer des nanoparticules avec une distribution de taille étroite et une charge en substance active importante par particule.

La formation initiale des nanoparticules est limitée par le mélange, plus précisément par le temps de mélange. Dans la nanoprécipitation « flash », on vise à homogénéiser le mélange en quelques millisecondes. Un temps de mélange court permet que la précipitation des particules commence uniformément. De ce fait, les propriétés des nanoparticules dépendent des cinétiques compétitives de l'agrégation du polymère et de la nucléation de la substance active. De plus, plus l'agrégation du polymère avance, plus le procédé est ralenti, ce qui stabilise la nanoparticule et arrête sa croissance[65].

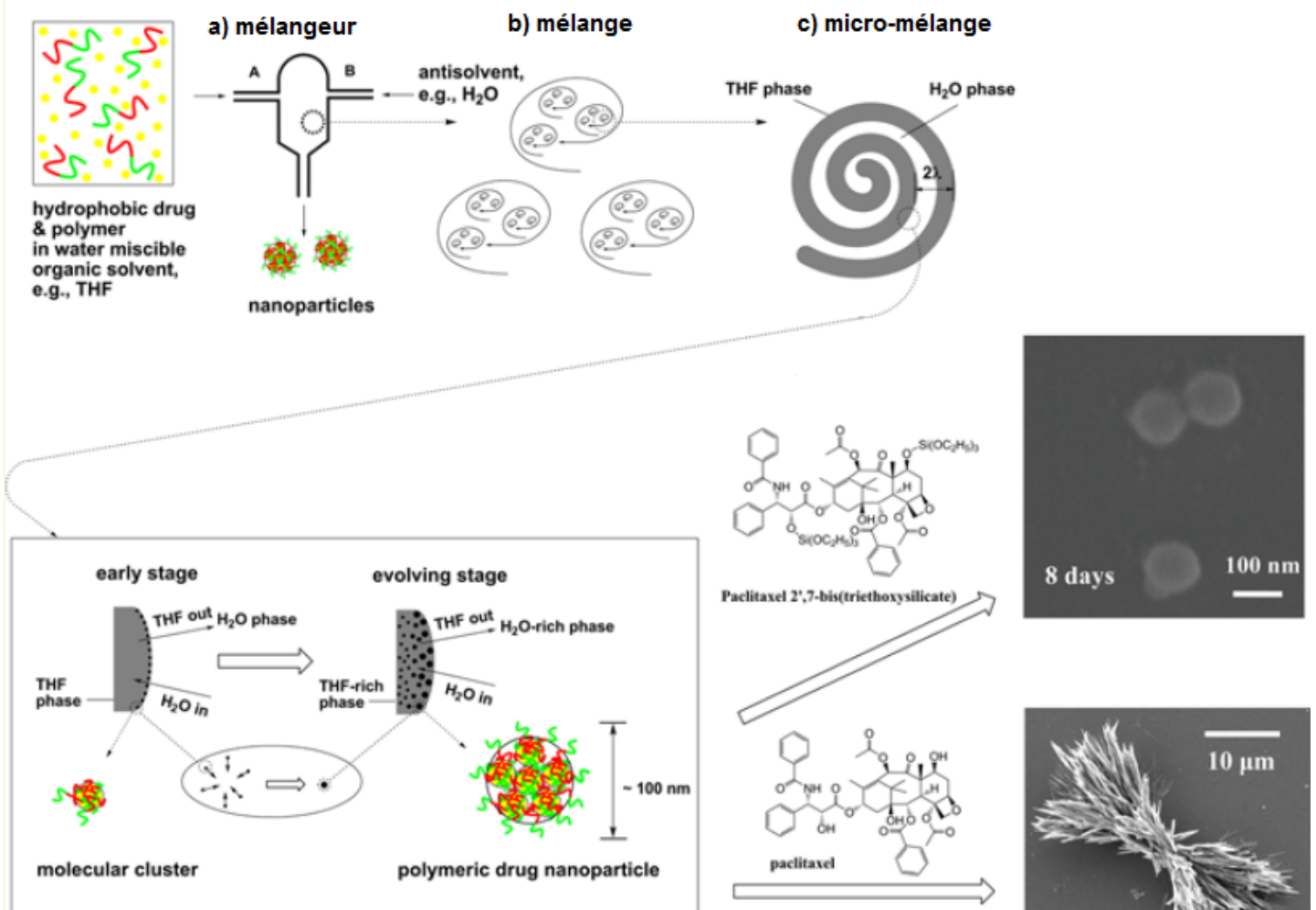


Figure 32: Principe du la nanoprecipitation flash (NPF)

La nanoprécipitation flash (NPF) peut générer des nanoparticules de médicament hydrophobes à environ 100 nm avec une charge médicamenteuse beaucoup plus élevée (par exemple > 40% en poids) que les nanoporteurs traditionnels (par exemple, < 20% en poids). Une étude sur la stabilité des nanoparticules faites via FNP et démontre que la liaison chimique d'un composé médicamenteux (par exemple, le paclitaxel) avec un fragment hydrophobe clivable d'un organosilicate (par exemple, triéthoxysilicate) est en mesure d'améliorer la stabilité de la taille des particules. Un copolymère amphiphile non ionique, poly (lactique-co-acide glycolique) -bloc-poly (éthylène glycol) (PLGA-PEG-b), est utilisé comme agent tensio-actif modèle pour fournir une stabilisation stérique[65].

C.1 Jets d'impact de liquides confinés

La précipitation « flash » qui utilise ce type de technologies permet d'obtenir des particules de taille micro et nano. La nanoprécipitation se passe dans une région de turbulence extrême et de mélange intense créés par un jet de solution de principe actif qui va rentrer en collision avec un jet de contre-solvant. Les deux jets viennent de directions opposées et entrent dans une petite chambre, ce qui nécessite un contrôle très précis de la vitesse pour éviter un flux et un mélange non équilibrés (figure 33)[62].

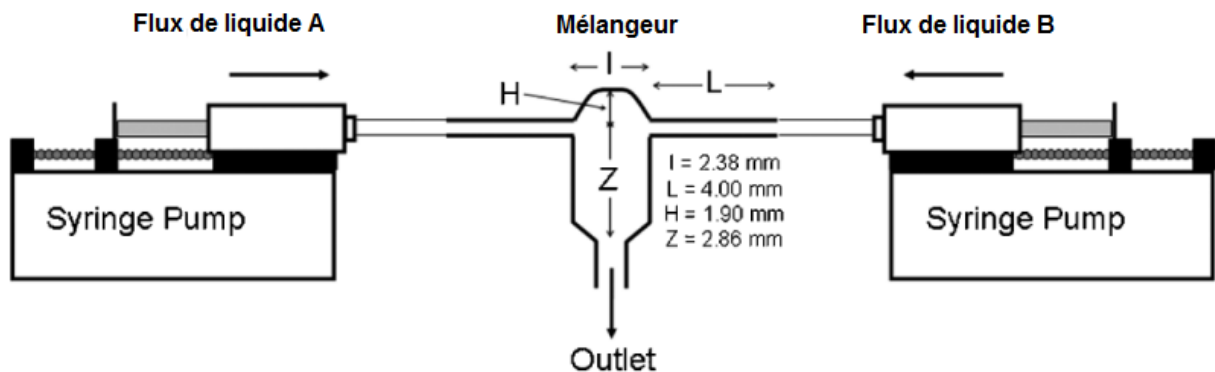


Figure 33: Schéma de la configuration de jets d'impact de liquides confinés[66].

Lorsque les deux jets de liquides se mélangent, le contre solvant va induire la précipitation du médicament sous forme de fines gouttelettes. La taille des particules est inversement proportionnelle à la vitesse du jet de liquide et à la concentration du principe actif. La proportion en volume de la solution du principe actif et du contre-solvant peut aussi impacter le procédé de précipitation[67].

Des essais de production de ce type de nanoparticules ont été réalisés sur des molécules hydrophiles et hydrophobes. Il a été déterminé que la méthode de précipitation avec jets d'impact de liquides confinés peut être utilisée pour la production des nanoparticules pour les deux types de substances. Le facteur principal qui va déterminer si cette méthode convient à la molécule est le temps de formation de la particule dans l'environnement en question, dépendant de la molécule elle-même. Pour être dans les conditions optimales, ce temps de formation doit être plus long que le temps de mélange, mais plus court que le temps de séjour dans l'appareil. Ceci veut dire que les nanoparticules doivent être formées avant de sortir de la chambre dans laquelle l'impact se passe. Si cela est le cas, les distributions de la taille des particules sont étroites (avec ou sans utilisation de surfactant)[66].

C.2 Mélangeur en vortex à multi-entrées

La nécessité que les débits des jets soient identiques dans la technique des jets d'impact peut être contraignante. Par conséquent, le mélange en vortex a été utilisé pour réaliser la nanoprécipitation « flash »[68].

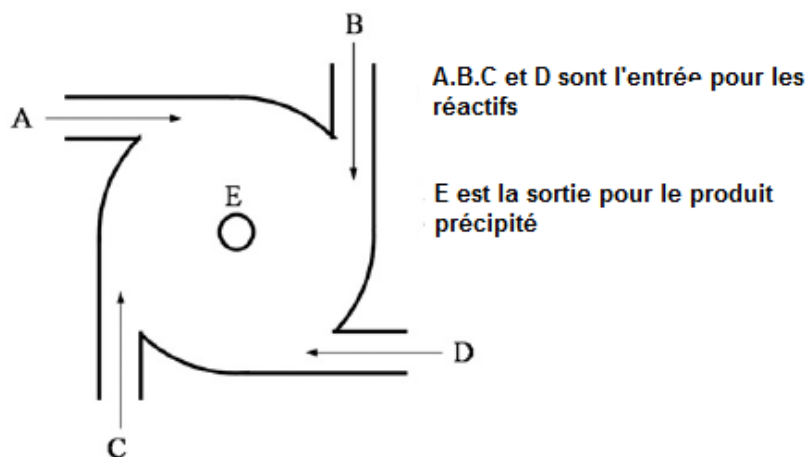


Figure 34: Mélangeur en vortex à multi-entrées[62].

Ce type de mélangeur à 4 entrées permet le mélange de flux à volumes inégaux, ce qui lui donne la capacité de contrôler la supersaturation et la composition des solvants en modulant le contenu et la vitesse des flux individuels (figure 34). Le mélange en vortex à multi-entrées offre un micro-mélange rapide, avec des valeurs de supersaturation élevées, une distribution de la taille des particules contrôlée, et une charge en médicament par particule importante.

La taille des nanoparticules dans cette méthode varie selon la supersaturation, la nature du polymère utilisé, la charge en médicament et les forces d'interaction dans le vortex. Comme il s'agit d'une méthode de nanopréciptation « flash », le temps de mélange très court est essentiel pour que les cinétiques compétitives débutent simultanément et uniformément. Il permet d'atteindre la supersaturation, ainsi que le taux de nucléation nécessaires pour avoir la taille de particules souhaitée et la charge en médicament élevée à la fin du procédé. Plus la supersaturation et la nucléation sont importantes, plus des nucléi sont générés et plus la taille des particules est petite[67].

D. Sonoprécipitation

Ce type de procédé, basé sur les principes de la chimie sonore, utilise des ultrasons pour produire des nanoparticules. On suppose que la précipitation est due à la création des bulles d'air, ou cavités, suivie par un collapse qui induit un choc, ainsi que des changements de pression et température qui vont permettre la nucléation.

Les ondes ultrasoniques provoquent :

1. Une nucléation plus rapide et plus uniforme dans le volume traversé par les ultrasons ;
2. Une réduction de l'agglomération en réduisant le contact entre les particules et en contrôlant du nombre des nucléi.

Dans la sonoprécipitation, le temps d'induction est significativement réduit, mais l'effet observé est plus important quand la supersaturation est plus basse. Ceci est probablement dû à la chaleur générée par les ultrasons qui s'oppose au refroidissement dû à la nucléation, ainsi qu'au meilleur échange de chaleur dans le mélange induit par les ultrasons.

Grâce à la nucléation plus rapide, un avantage potentiel de la sonoprécipitation est la réduction significative de la quantité de solvant organique nécessaire pour la précipitation contre-solvant[69].

Les équipements nécessaires pour la production des nanoparticules par sonoprécipitation peuvent être relativement simples (figure 35). Ils incluent une sonde ultrasons mise dans une cuve équipée d'un mélangeur mécanique, où le contre-solvant est mélangé avec la solution du médicament pour la faire précipiter en fines particules. La fréquence des ultrasons utilisée est l'élément clé de cette technologie, et elle doit être d'environ 20-25kHz.

Parmi les conditions opérationnelles pouvant influencer le procédé de précipitation, les plus importantes sont: La fréquence, l'intensité et la puissance des ultrasons;

- La taille de la sonde et son niveau d'immersion ;
- Le volume à précipiter ;
- La durée

La nucléation augmente avec l'augmentation de l'intensité des ultrasons et le diamètre de la sonde. De plus, des particules de plus petite taille sont obtenues en augmentant la puissance de l'ultrason, grâce au meilleur transfert de masse pendant le mélange. Au contraire, la taille des particules augmente avec le volume du mélange que l'on veut faire précipiter, car les ultrasons pénètrent moins bien.

Par contre, l'inconvénient de la sonoprécipitation est la production à l'échelle industrielle, qui est difficile à mettre en œuvre. Une grande installation de production nécessite plusieurs transducteurs d'ultrasons pour produire des ondes ultrasoniques uniformes dans tout le volume que l'on veut faire précipiter. De plus, la sonoprécipitation semble marcher mieux pour des nanoparticules amorphes que cristallines.

Finalement, il n'y a pas beaucoup d'essais qui ont été réalisés jusqu'à présent dans le domaine de la nanoprécipitation par ultrasons, il s'agit donc encore d'une méthode plutôt expérimentale[62].

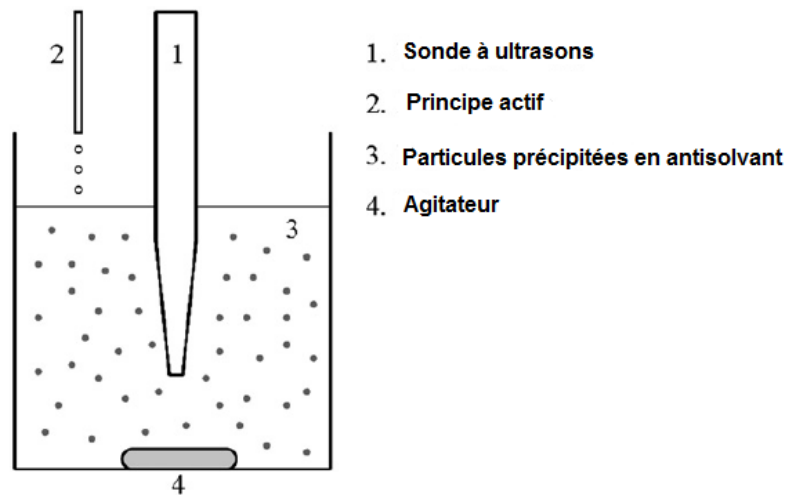


Figure 35: Schéma de la méthode par sonoprécipitation.

II.2 Méthodes par évaporation

Le spray drying, ou séchage par nébulisation, permet d'atomiser une solution d'un médicament en fines gouttelettes dans un courant d'air chaud dans le but d'obtenir des particules solides.

Le spray drying classique n'est pas adapté à la production des nanoparticules parce qu'elles sont trop petites pour être récupérées dans le cyclone du séchoir. Par conséquent, des nouveaux types d'équipements ont dû être développés pour faciliter la collecte des nanoparticules à la fin du procédé.

A l'échelle laboratoire, on peut citer le Büchi Nano Spray Dryer (figure 36), permettant de capturer les particules par un collecteur électrostatique. De plus, l'appareil est équipé d'un nébuliseur à garnissage vibrant qui va créer des gouttelettes plus petites (avant évaporation) que les nébuliseurs standards. Les particules produites dans ce type d'appareil présentent une distribution de taille étroite et les rendements de production sont élevés.

Le gaz de séchage entre par le haut, où il est réchauffé (environ 100°C), ensuite il passe à travers la chambre de séchage pour sortir au fond, où il est filtré avant de sortir de l'appareil. La solution à nébuliser arrive à la tête du spray par une pompe.

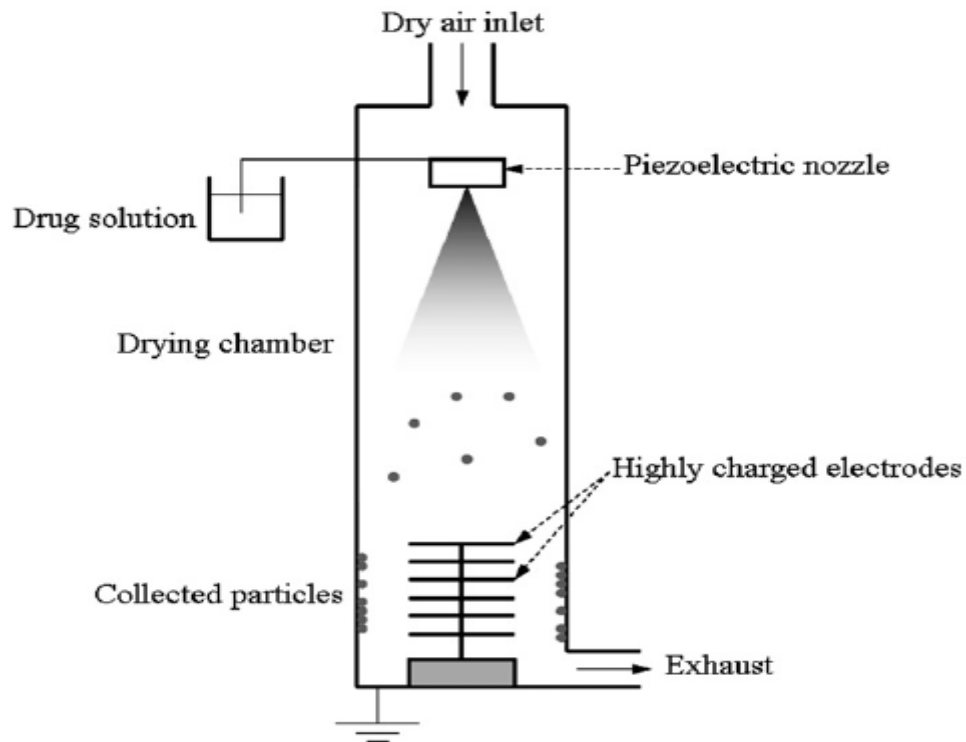


Figure 36: Diagramme schématique du nano spray-dryer[62].

La génération de fines gouttelettes est due aux vibrations de garnissage vibrant, qui est une membrane fine, perforée, faite en acier inoxydable, placée dans un petit carter. La membrane présente de nombreux trous de taille de 4 à 7 μm . Lors du passage de la solution à travers la membrane, la vibration de la membrane permet la formation de gouttelettes de très petite taille avec une distribution de taille très étroite. Ces gouttelettes sont ensuite séchées et deviennent des nanoparticules solides qui sont collectées au fond de l'appareil par des électrodes, grâce aux forces électrostatiques[62].

Ce type d'appareil permet la fabrication de :

- **Nanoémulsions encapsulées :**

Une nanoémulsion « huile dans eau », contenant l'excipient de la couche externe pour la capsule dans sa phase aqueuse, est nébulisée dans l'appareil. Les particules obtenues à la fin sont des nanocapsules contenant la phase huileuse à l'intérieur, avec une distribution de taille étroite.

De plus, ces nanocapsules peuvent être ré-dispersées dans de l'eau plus tard, ce qui permet d'obtenir la nanoémulsion initiale sans aucune dégradation ou changement de taille significatifs. Ceci démontre que ce procédé permet de garder l'intégrité de la nanoparticule[70].

- **Nanocristaux :**

Les poudres obtenues à la fin du séchage, à partir des médicaments hydrophiles et hydrophobes, étaient composées de fins nanocristaux, avec une taille uniforme et sous forme sphérique. Il a été démontré que la cristallisation de la substance active est contrôlée par l'évaporation des gouttelettes, c'est-à-dire, le cristal final obtenu dépend de la taille de la gouttelette initiale[70].

- **Nanoparticules solides lipidiques :**

En général, les nanoparticules solides lipidiques sont préparées par homogénéisation à haute pression. Le problème que l'on peut rencontrer avec le spray-drying est le risque que le lipide fonde pendant le séchage. Par contre, il a été démontré que l'humidité due à l'évaporation de l'eau pendant le séchage forme une couche autour des gouttelettes lipidiques, qui absorbe la majorité de la chaleur du gaz. Ceci protège les matériaux sensibles à la chaleur de la fusion et/ou dégradation pendant le procédé.

L'influence de la température pendant le spray-drying des particules lipidiques peut être réduite d'autant plus par l'addition d'hydrocarbures, qui forment une couche de sucre autour de la particule, ou encore en nébulisant des solutions alcooliques au lieu des solutions aqueuses, baissant ainsi la température nécessaire pour l'évaporation.

Comme dans le cas des nanoémulsions, l'introduction de ces particules solides lipidiques dans de l'eau permettait d'obtenir la dispersion initiale.

Le grand inconvénient de ce type de procédé, qui permet de produire des nanoparticules de très bonne qualité, est qu'il n'est toujours pas adapté à l'échelle industrielle[71].

II.2.1 Réacteur de flux d'aérosols

Produire des nanoparticules en passant par des aérosols est un procédé simple et efficace, qui se déroule en une étape. La technique permet la fabrication directe et contrôlée des nanoparticules de la taille souhaitée.

Le principe du réacteur de flux d'aérosols comprend la nébulisation de la solution contenant le médicament pour créer des gouttelettes, qui passent ensuite, suspendues dans le gaz nébulisant, au travers d'un réacteur tubulaire à flux laminaire, qui est chauffé (figure 37). La température du réacteur est réglée pour que le solvant puisse s'évaporer et les nanoparticules se forment dans le réacteur à flux. Puisque les particules sont déjà suspendues dans le gaz quand elles rentrent dans le réacteur, la température et le temps de résidence de chaque gouttelette et particule subséquente peuvent être contrôlés[72].

Cette méthode permet la production de nanoparticules avec une distribution de taille étroite. De plus, les particules obtenues sont sphériques, et elles ont une surface bien lisse. Par contre, en augmentant trop la température du réacteur, on peut observer la formation de particules creuses, avec un diamètre plus grand. Ceci est dû au fait qu'une évaporation trop rapide du solvant peut induire la formation d'une couche solide à la surface de la particule, ce qui piège le solvant à l'intérieur de la particule. L'évaporation de ce solvant va amener à la formation de particules creuses[72].

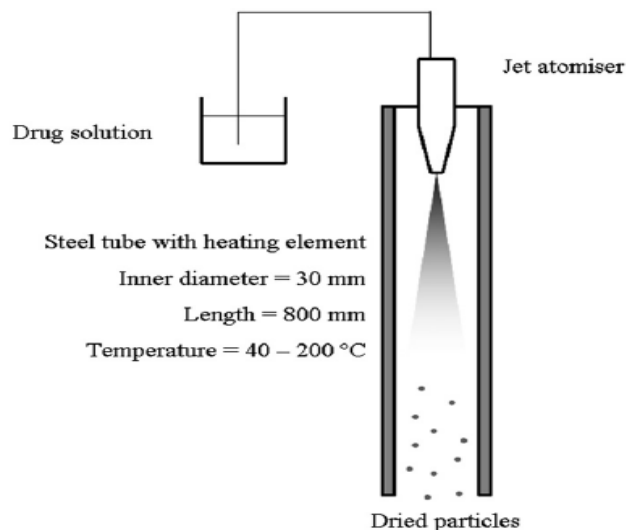


Figure 37: Schéma de principe du réacteur de flux d'aérosol

II.3 Méthodes par polymérisation

Les nanovecteurs peuvent aussi être préparées par polymérisation des monomères. (La polymérisation est une réaction chimique dans laquelle 2 ou plusieurs monomères se lient pour former des molécules de grande taille à motifs répétitifs – les polymères). Il s'agit d'un procédé qui consiste en l'addition d'un monomère dans une solution contenant un tensioactif sous agitation vigoureuse, ce qui induit la polymérisation. La substance active peut être introduite dans le mélange soit avant, soit après la réaction de polymérisation.

II.3.1 Application de la polymérisation en émulsion d'ACA pour produire des nanosphères avec différentes propriétés.

Les nanosphères de poly(alkylcyanoacrylate) sont généralement obtenues par polymérisation en émulsion des monomères correspondants, (alkylcyanoacrylate). Préparation des nanosphères par la polymérisation en émulsion est illustrée dans la figure 38. En pratique, le monomère pur, qui se produit comme un liquide non visqueux, est ajouté goutte à goutte dans la solution aqueuse préparé en tant que milieu de polymérisation. Finalement, La substance active introduite dans le mélange. La polymérisation prend quelques heures et fournit une dispersion laiteuse qui contient les nanoparticules. Il est à noter que la méthode de polymérisation en émulsion utilisée pour préparer des nanoparticules PACA ne nécessite pas l'utilisation de solvant organique. C'est une procédure en une étape réalisée dans un environnement aqueux. Les équipements sont requis pour une production à l'échelle du laboratoire comme illustré sur la figure 38.

La deuxième méthode permettant de préparer les nanovecteurs à partir des monomères est la polymérisation redox en émulsion. Elle consiste à disperser une solution du nitrate d'ammonium et de cérium (IV), $(\text{NH}_4)_2\text{Ce}(\text{NO}_3)_6$, dans l'émulsion en présence du dextrane utilisé comme stabilisant. La phase continue doit être acidifiée. L'ion Ce^{4+} est capable de couper le cycle d'un motif glucopyranose du dextrane par une réaction redox ce qui produit un radical macromoléculaire[73].

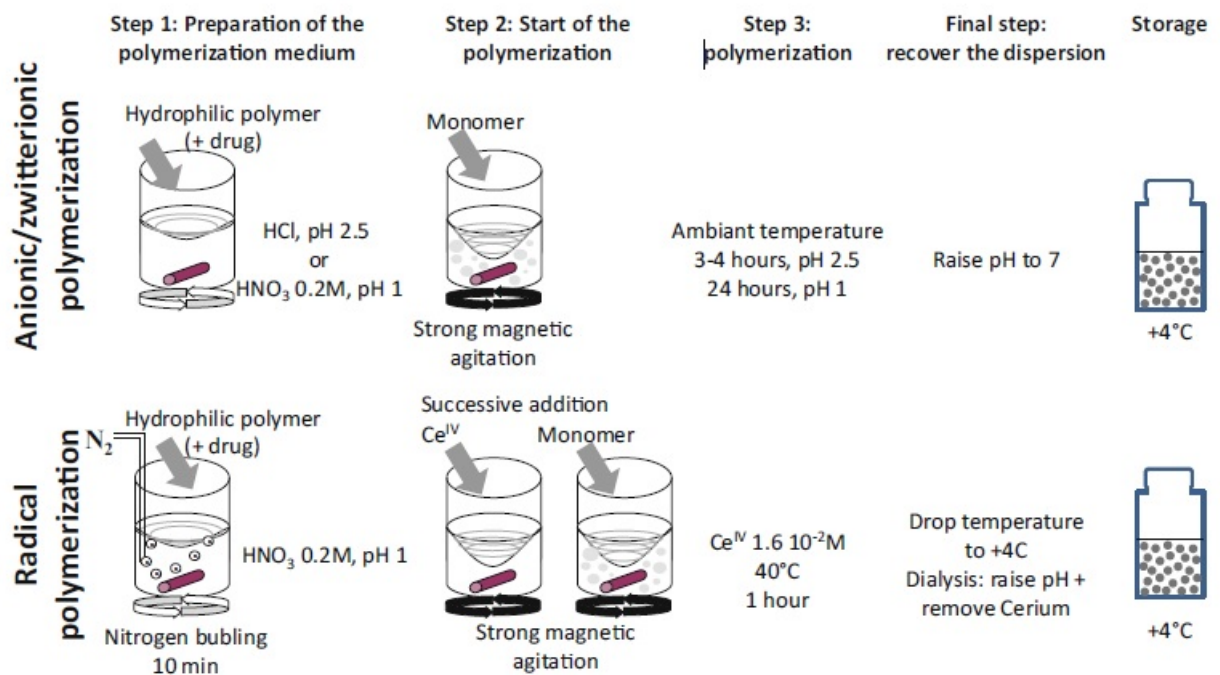


Figure 38: Exemples de procédures pour réaliser la préparation de nanoparticules par polymérisation.

Dans ces synthèses, le dextran 70 kDa peut être utilisé comme polymère hydrophile ajouté dans le milieu de polymérisation à une concentration de 1,3%. Le monomère, l'isobutylcyanoacrylate (IBCA) par exemple est ajouté à une concentration finale de 5% [73].

II.3.2 Application de la polymérisation en miniémulsion de l'ACA pour produire des nanosphères

En polymérisation en miniémulsion, un système tensioactif/costabilisant est utilisé pour stabiliser de petites gouttelettes de monomère (50-500 nm). Plusieurs appareillages ont été conçus pour fabriquer ces émulsions. Les méthodes les plus utilisées dans les applications industrielles sont les systèmes de rotor-stator et les homogénéisateurs à haute pression qui permettent d'obtenir des émulsions dont les diamètres sont en dessous de 100 nm. Au laboratoire, les ultrasons sont couramment utilisés pour la fabrication des émulsions submicroniques. C'est une méthode d'émulsification de haute énergie qui consiste à disperser un liquide en fine suspension dans un autre liquide sous l'influence d'un champ acoustique. Figure 39 montre l'évolution du milieu réactionnel au cours d'une polymérisation en miniémulsion[74].

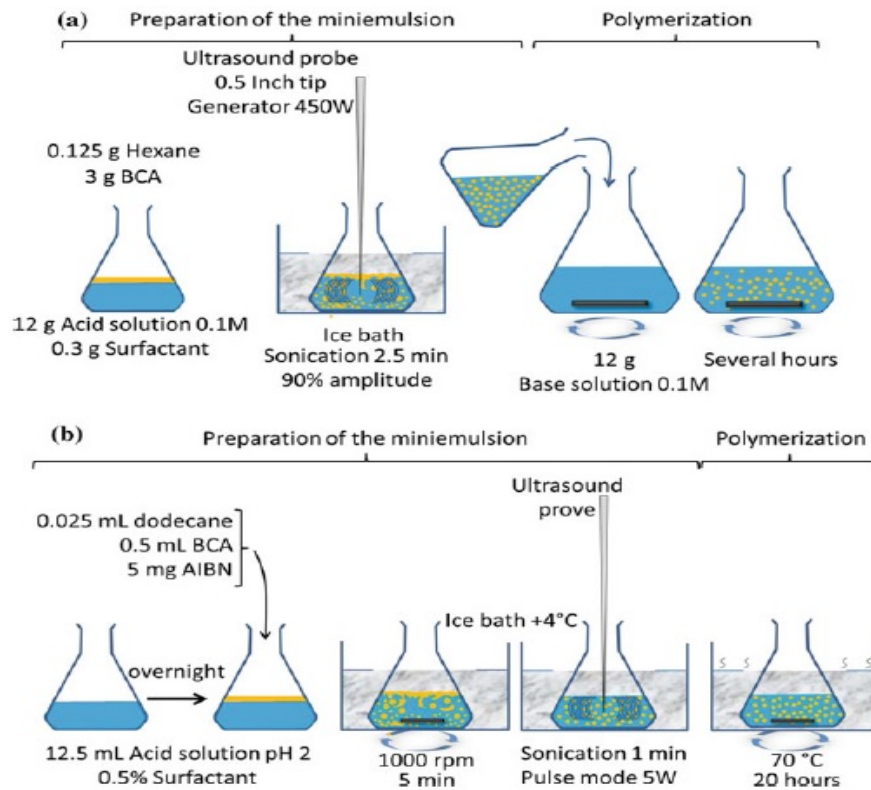


Figure 39: Préparations de nanosphères par polymérisation en miniémulsion de n-butylcyanoacrylate(NCBC).

Les conditions de polymérisation anionique décrites dans Weiss et al. Les solutions acides peuvent être préparées avec de l'acide chlorhydrique et du dodécylsulfate de sodium comme tensioactif ou avec de l'acide phosphorique et l'un des tensioactifs non ioniques suivants: Lutensol® AT50 ou Tween® 20. La solution de base peut être préparée avec de l'hydroxyde de sodium, ammoniac, base TRIS. En variante, des acides aminés à diverses concentrations peuvent également être utilisés.

b) Préparation basée sur la polymérisation radicalaire telle que décrite dans Wu et al. (2009c). La solution d'acide peut être préparée avec de l'acide chlorhydrique. Les tensioactifs sont le dodécylsulfate de sodium ou des composés contenant du poly (éthylène glycol) tels que Brij®78, Brij®700, Tween®80[73].

Un grand avantage de la polymérisation est qu'elle permet la production de particules plus complexes, telles que les dendrimères. Par contre, elle est difficile à mettre en place en milieu industriel.

Toutes ces propriétés sont intrinsèques au polymère choisi. Par exemple, le pH va toujours avoir un effet sur la taille de la particule. Cet effet sera proportionnel ou inversement proportionnel en fonction des propriétés physico-chimiques du polymère lui-même [75].

III. Comparaison des méthodes de fabrication

Tableau IV: Comparaison des méthodes de production des nanovecteurs[62].

Méthode	Type de Particules produites	Avantages	Inconvénients	Adaptée à la production industrielle
Méthodes « top-down »				
Broyage	-Nano-cristaux -Nano-suspensions -Nano-sphères	-Méthode simple et utilisée depuis longtemps -Les particules obtenues sont de caractère cristallin - plus stables	-Problèmes de stabilité des suspensions ; -La réduction de la taille des particules est limitée ; -Nécessite beaucoup d'énergie -Risque de contamination par les billes Risque d'adhérence des matières sur les parois du mélangeur	<i>oui</i>
Microfluidisation	-Liposomes -Nano-suspensions -Nano-émulsions	-Les suspensions et émulsions obtenues sont stables -Peut fonctionner en mode continu	-Procédé très long -Distribution de la taille des particules peut être large -La réduction de la taille des particules est limitée -Nécessite beaucoup d'énergie -Risque de coalescence -Pas adapté pour les molécules sensibles à la chaleur	<i>oui</i>
« Piston-gap » Homogénéisation	-Liposomes -Nano-suspensions -Nano-émulsions	-Les suspensions et émulsions obtenues sont stables -Peut fonctionner en mode continu	-Distribution de la taille des particules peut être large -La réduction de la taille des particules est limitée ; -Nécessite beaucoup d'énergie -Risque de coalescence -Pas adapté pour les molécules sensibles à la chaleur	<i>oui</i>
Méthodes (bottom-up)				
Précipitation « contre-solvant »	-Nano-sphères -Nano-capsules solides ou en suspension	-Distribution de taille étroite utile pour les molécules hydrophobes -Particules sèches peuvent être remises en suspension	-Particules majoritairement amorphes (moins stables) -Risque de solvant organique résiduel	Possible, mais peut être compliquée

Précipitation contrôlée à gravité élevée	-Nano-fibres -Nano-cristaux	-Procédé rapide Permet d'obtenir des particules ultrafines -La taille des particules est contrôlée	-Particules majoritairement amorphes (moins stables) -Risque de solvant organique résiduel	Possible
Jets d'impact de liquides confinés	-Nano-sphères -Nano-capsules	-Procédé rapide -Distribution de taille étroite -Charge en SA importante -Utile pour molécules hydrophiles et hydrophobes	-Méthode compliquée -Les nanoparticules doivent être formées avant de sortir de la chambre d'impact	Possible
Mélangeur à vortex en multi-entrées	-Nano-sphères -Nano-capsules	-Distribution de taille étroite -Charge en PA importante	-Les nanoparticules doivent être formées avant de sortir de la chambre d'impact	Possible
Sono-précipitation	-Liposomes	-Simple Peu ou pas de solvant organique utilisé	-Difficile à mettre en œuvre pour des grosses quantités -La durée du procédé est longue	<i>non</i>
Spray-drying	-Nano émulsions -Nano-capsules -Nano-cristaux -Nanoparticules -Solides lipidiques	-Particules obtenues sont sèches (meilleure stabilité), mais peuvent être remises en suspension Distribution de taille étroite	-Toujours pas adapté à l'échelle industrielle	<i>non</i>
Réacteur de flux d'aérosols	-Nano émulsions -Nano-capsules -Nano-cristaux -Nanoparticules -Solides lipidiques	-Distribution de taille étroite	-Risque d'obtenir des particules creuses si trop chauffées	Oui
Polymérisation	-Nano particules Organiques Dendrimère	-Procédé simple Permet de produire des structures complexes	-Dépend de la molécule et du polymère Contrôlé imparfait de la taille des particules	<i>non</i>

Les méthodes «Bottom Up» sont plutôt utilisées à l'échelle du laboratoire et peu de médicaments sur le marché sont issus de ce type de procédé probablement en raison de la difficulté de la transposition d'échelle industriel. Le nombre de produits préparés par des méthodes ascendantes (bottom-up) est très limité, des exemples rares sont des produits tels que GrisPEG® (griséofulvine dans PEG8000) et Cesamet® (nabilone dans PVP).

Les inconvénients principaux de ces techniques sont: l'utilisation de solvants organiques, la difficulté d'éviter la croissance des nanocristaux qui deviendront alors des microparticules, l'impossibilité d'appliquer la technique aux composés qui sont à la fois peu hydrosolubles et peu liposolubles[76].

**TROISIÈME PARTIE :
APPLICATIONS
DES NANOVECTEURS
DANS LE DOMAINE
DE LA SANTÉ**

Au cours des dernières années, d'importants efforts ont été fait conduisant à des progrès significatifs dans le domaine de la nano-médecine. Un certain nombre d'approches basées sur les nano-médecines ont démontré un potentiel considérable pour rendre le diagnostic et les thérapies plus efficaces et moins toxiques.

I. Imagerie diagnostique

Les nano-médicaments ont fait l'objet de nombreux travaux de recherche depuis une trentaine d'années. Quelques-uns ont été commercialisés, en particulier dans le domaine de l'imagerie diagnostique : les nanoparticules super-paramagnétiques à base d'oxyde de fer utilisées en imagerie de résonance magnétique (IRM). Contrairement aux produits paramagnétiques, ces particules n'ont pas de propriétés magnétiques en dehors d'un champ magnétique externe. Mises dans un champ magnétique intense, elles sont capables de diminuer fortement les temps de relaxation du proton dans un champ magnétique intense et de modifier l'image IRM. Compte tenu de leurs caractéristiques physicochimiques, elles sont phagocytées par les macrophages. Si elles ne sont pas captées par le foie et la rate en totalité, il est alors possible de les utiliser comme marqueurs de l'inflammation et des maladies dégénératives associées à une forte activité macrophagique[77].

I.1 Caractéristiques physicochimiques

La synthèse des nanoparticules d'oxyde de fer pour l'IRM est complexe compte tenu de la nature colloïdale des particules obtenues (Tableau V). Elles sont constituées d'un noyau de cristaux d'oxyde de fer dont la taille peut varier entre 4 et 8 nm selon les produits et en fonction des techniques de mesure utilisées. Ce noyau est entouré d'une enveloppe hydrophile (habituellement du dextran ou ses dérivés), ce qui donne une taille hydrodynamique globale qui peut varier de 15 à 300nm selon les produits. On distingue habituellement deux familles de produits superparamagnétiques: les superparamagnetic iron oxide (SPIO) dont la taille hydrodynamique est supérieure à 50 nm, et les ultrasmall superparamagnetic iron oxide (USPIO) dont la taille globale est inférieure à 50 nm. Ces deux catégories de produits, toutes choses égales par ailleurs, ont un comportement pharmacocinétique très différent et des applications également spécifiques en imagerie[77].

I.2 Éléments de pharmacologie et de toxicologie

Les particules d'oxyde de fer utilisées en IRM ont des comportements différenciés dans l'organisme en fonction de leur taille hydrodynamique et de leur couverture hydrophile (figure 40). Le ferumoxtran-10, par exemple, a un petit diamètre hydrodynamique (30 nm) et un long temps de résidence plasmatique (demi-vie plasmatique chez l'homme: 36 heures), alors que le ferumoxide (150nm de diamètre) a une demi-vie très courte (moins de 60 minutes) et est principalement capté par le foie et la rate. Par ailleurs, des produits comme le feruglose, avec une couverture hydrophile pégylée, ne sont quasiment pas reconnus par les macrophages et ne sont donc pas utilisables pour ce type d'imagerie. Le ferumotran-10 est complètement dégradé dans les lysosomes du macrophage en sept jours. Le fer ainsi libéré est incorporé dans le pool ferrique sanguin normal. Cela correspond aux légères augmentations de ferritine observées au cours des essais cliniques. On constate, par ailleurs, que la demi-vie plasmatique est nettement espèce dépendante. Pour ce produit à la dose clinique, elle est de deux heures chez le rat, de six heures chez le lapin et de plus de 24 heures chez l'homme. Chez le rat et le lapin, augmenter la dose conduit à augmenter la demi-vie plasmatique en raison de la saturation progressive de la fixation par le foie et la rate.

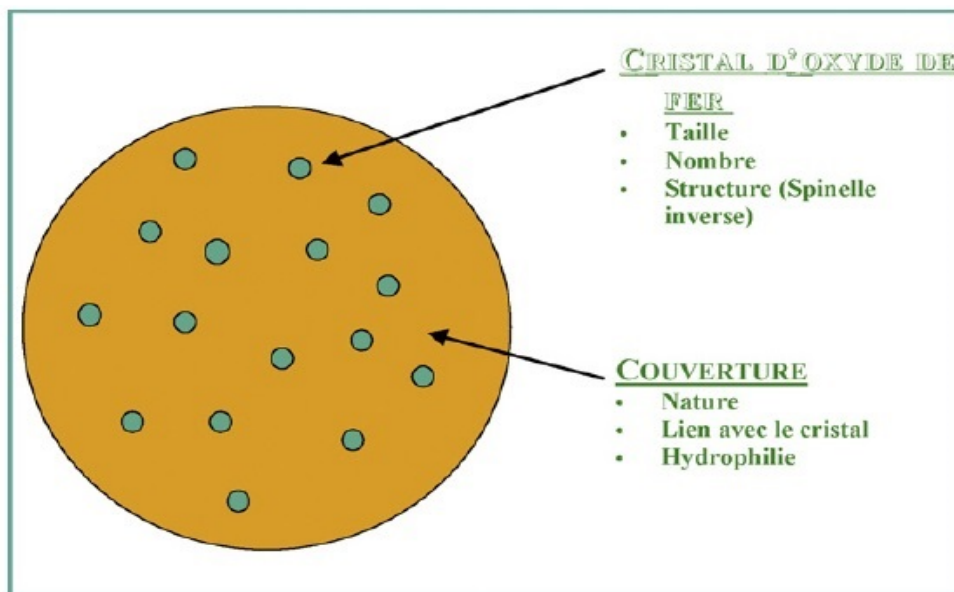


Figure 40: Composants et caractéristiques essentielles des nanoparticules d'oxyde de fer pour l'imagerie de résonance magnétique (IRM).

I.3 Utilisations cliniques actuelles et perspectives

Les applications actuelles et potentielles en imagerie de ces particules superparamagnétiques sont nombreuses:

- La première utilisation, assez logique, des particules d'oxyde de fer a été l'usage des SPIO pour la mise en évidence des lésions hépatiques. Après administration intraveineuse, des produits comme le ferumoxide (Endorem®, Feridex®) ou ferucarbotran (Resovist®) sont rapidement captés par les cellules de K pfer, provoquant l'abaissement du signal IRM au niveau des tissus sains. Les cellules de K pfer étant exclusivement présentes dans le parenchyme hépatique normal, les SPIO augmentent le contraste entre le tissu sain et les tissus pathologiques tels que les cancers. Ce sont des produits particulièrement efficaces pour la détection des petites lésions hépatiques[78].
- Une autre utilisation des SPIO a été l'emploi pour la mise en évidence du tube digestif, après administration par voie orale. Le ferumoxsil (Lumirem® en Europe, Gastromark® aux  tats-Unis) en est un exemple. Il est composé d'une particule d'oxyde de fer enrobée de silicone dont le diamètre hydrodynamique est de 300 nm. Après administration orale, il permet de mieux délimiter les organes proches du tube digestif, comme l'utérus, les voies biliaires ou les ganglions lymphatiques. Il a également été associé à l'emploi de produit de contraste à base de gadolinium pour explorer la maladie de Crohn.
- L'imagerie des ganglions lymphatiques: on connaît l'importance clinique de la caractérisation des ganglions lymphatiques dans la définition du stade des cancers. Cette information permet en effet à l'oncologue de définir précisément le schéma thérapeutique à suivre ou au chirurgien de décider de la nature et de l'extension de la lymphadénectomie. Le Ferumotran-10 a fait l'objet de nombreux travaux pour montrer l'intérêt de ces particules en cours de développement pour le cancer de la prostate, les cancers pelviens en général, mais aussi les cancers ORL. Ces particules d'oxyde de fer de 30nm peuvent accéder aux ganglions lymphatiques, permettant de différencier les ganglions normaux, qui deviennent sombres en IRM, des ganglions métastatiques, dépourvus de macrophages, qui restent iso-intenses comparés à l'image initiale. L'association de ce produit et des IRM de bonne qualité permet de détecter des ganglions de quelques millimètres[77].

I.4 Nanoparticules et l'imagerie moléculaire et cellulaire

Au-delà de cette première approche de l'imagerie des macrophages dans le ganglion, ce type d'imagerie ouvre la porte à de nombreuses applications potentielles dans des domaines où l'imagerie diagnostique est actuellement démunie. C'est ainsi que les USPIO peuvent potentiellement être utiles pour la caractérisation des plaques d'athérome à risque. Les études histologiques ont en effet démontré que le risque de rupture de la plaque, rupture qui conduit aux accidents vasculaires cérébraux ou aux infarctus du myocarde, est proportionnel à la présence de macrophages. Dans ces conditions, on peut penser que la réduction du signal IRM après administration d'un USPIO serait associée à la présence d'un risque important de rupture de la plaque d'athérome. Des études cliniques préliminaires ont confirmé cette hypothèse et donné lieu à des travaux sur l'intérêt de l'usage des nanoparticules comme biomarqueurs de l'efficacité des traitements. D'autres pathologies inflammatoires pourraient bénéficier de cette information macrophagique: la sclérose en plaque, les rejets de greffe, les accidents vasculaires cérébraux, domaines où des essais cliniques ont montré la faisabilité de cette approche. On peut penser également que des pathologies majeures pourraient bénéficier de ces produits, permettant un diagnostic plus précoce de la maladie, comme par exemple la maladie d'Alzheimer, le diabète, le cancer ou la polyarthrite rhumatoïde.

Les nanoparticules d'oxyde de fer, si leur couverture hydrophile est adaptée, sont aussi potentiellement des marqueurs de l'angiogénèse en raison de leur rémanence dans le sang. On parle de produits à rémanence vasculaire car ils ne diffusent pas ou très lentement hors des vaisseaux, permettant ainsi de visualiser en imagerie les zones hypervascularisées. On les a proposés, par exemple, pour mesurer le volume sanguin cérébral en cas d'accident vasculaire cérébral ou pour mesurer et quantifier la perfusion myocardique.

Il y a par ailleurs, un champ d'exploration qui se développe actuellement avec les nanoparticules d'oxyde de fer : celui du marquage des cellules souches permettant de suivre leur devenir dans l'organisme après implantation. Les applications potentielles sont nombreuses, tant dans les pathologies cérébrales (Parkinson, maladie de Huntington, etc.) que les pathologies cardiaques, rénales ou hépatiques. Ce suivi permet d'évaluer de façon non invasive la biodistribution des cellules.

Les nanoparticules superparamagnétiques sont des agents extrêmement actifs sur le signal en IRM. À ce titre, elles peuvent également servir de base à des produits ciblés pour l'imagerie moléculaire. On peut en effet fixer sur ces particules des marqueurs biologiques (peptide, protéines, anticorps, etc.) susceptibles d'aller se localiser sur une cible biologique déterminée. Plusieurs équipes ont ainsi réalisé des liaisons avec des IgG, ces récepteurs à la transferrine, de l'annexine-5 ou encore avec les peptides ciblant l'intégrine. Cela conduit également au théragnostic, qui est l'association du diagnostic et du traitement.

L'usage des nanoparticules est déjà une réalité en imagerie diagnostique. Des produits sont commercialisés depuis plus de dix ans pour l'imagerie hépatique et pour le repérage du tube digestif en IRM (Tableau V). D'autres produits sont en cours de développement soit sous forme d'USPIO, soit sous forme d'USPIO associé à une molécule biologique permettant un ciblage spécifique. Dans tous les cas, ces nanoparticules superparamagnétiques qui ont un effet puissant sur le signal en IRM permettent d'accéder à l'imagerie cellulaire et moléculaire. Dans un premier temps, c'est l'imagerie du macrophage qui a été la plus étudiée et qui permettra d'améliorer le diagnostic et le suivi du traitement de pathologies majeures : cancer, maladies dégénératives, pathologies cardiovasculaires comme la plaque d'athérome, tous ces domaines étant des enjeux essentiels en matière de santé publique où le diagnostic *in vivo* peut permettre une approche personnalisée et à un stade plus précoce des pathologies en développement[77].

Tableau V: Taille et agent de surface des nanoparticules commercialisées ou en développement clinique en IRM.

Nom	Entreprise	Autre dénomination	Agent de surface	Taille mesurée par LLS ^a (nm)
Endorem® Feridex®	Guerbet et AMAG	Ferumoxides AMI-25	Dextran	120–180
Sinerem® Combidex®	Guerbet et AMAG	Ferumoxtran-10AMI-227	Dextran T10	15–30
–	AMAG	Ferumoxytol Code 7228	Dérivé du dextran	30
Lumirem®Gastromark®	Guerbet et AMAG	Ferumoxsil AMI-121	Silicone	300
Resovist®	Bayer-Schering	FerucarbotranSHU-555A	Carboxy-dextran	60
Clariscan®	GE Healthcare	Feruglose NC100150	Amidon pégylé	20
Abdoscan®	GE Healthcare	Ferristène	Polymère de styrène-divinyl benzène sulfoné	3500
VSOP-C184	Ferropharm	–	citrate	7,0

^a LLS: *laser light scattering* (mesure de la granulométrie par diffusion laser).

I.5 Avantages

- Amélioration du ciblage de la spécificité.
- Amélioration des performances : sensibilité, seuil de détection, rapidité.
- Détection précoce de pathologie.
- Fiabilité et justesse des résultats.
- Miniaturisation des dispositifs.
- Stabilisation des biocomposants.
- Diminution de la consommation en réactifs pour les analyses (diminution des coûts).
- Nouvelles technologies d'imagerie plus performantes[79].

II. Vaccination

Les particules biodégradables ont un important potentiel d'application en tant que vecteurs de molécules à activité biologique. Ces molécules peuvent être des principes actifs médicamenteux ou des protéines et acides nucléiques pour des applications à but vaccinal. Il a été démontré que des antigènes encapsulés par des microparticules, produites à partir de polymères biodégradables, présentent un bon potentiel pour les systèmes de relargage et pour l'adjuvantation. Ces microparticules permettent un relargage contrôlé de l'antigène ayant pour effet de réduire le nombre de doses d'immunisation ou de développer des vaccins unidoses [80].

II.1 Élaboration des nanoparticules de poly (acide lactique) multifonctionnelles comme adjuvants potentiels de vaccination

La vaccination est l'un des moyens les plus efficaces de la médecine moderne dans le combat contre les maladies infectieuses. L'amélioration de l'efficacité des vaccins requiert la mise au point d'adjuvants permettant d'accroître la qualité de la réponse immunitaire. À titre d'exemple, les nanoparticules (NP) de poly(acide lactique) (PLA) constituent un système efficace pour la délivrance d'antigènes. Afin de renforcer leur potentiel vaccinal, ce travail de recherche a eu pour objectif d'élaborer des NP de PLA décorées en surface par des molécules immunostimulantes, le d-mannose ou un peptide dérivé de l'interleukine-1, et au cœur, par

l'imiquimod. La stratégie repose sur l'utilisation d'un tensioactif macromoléculaire composé d'un bloc de PLA et d'un bloc de poly(N-acryloxysuccinimideco-N-vinylpyrrolidone) (P(NAS-co-NVP)), dont les fonctions ester de N-succinimidyle (NS) permettent le couplage de biomolécules. Ce copolymère a été synthétisé par combinaison de la polymérisation par ouverture de cycle et de la polymérisation radicalaire contrôlée par les nitroxydes (NMP). Après l'étude de la copolymérisation du l'acrylate de N-hydroxysuccinimide (NAS) et de la NVP par NMP à partir d'une alcoxyamine modèle (MAMA-SG1), leur copolymérisation a été réalisée à partir de la macro-alcoxyamine PLA-SG1, conduisant au copolymère PLA-b-P(NAS-co-NVP) désiré. Des NP de PLA ont alors été préparées par nanoprécipitation et diafiltration en présence du copolymère, conduisant à des tailles respectives de 150 et 500 nm. Des études de potentiel zêta et de spectrométrie UV ont démontré la présence des esters de NS à la surface des NP, disponibles pour le couplage des biomolécules. Des micelles de copolymère ont été également préparées, après substitution des esters de NS par des sucres, et permettent une encapsulation efficace de l'imiquimod, contrairement aux NP de PLA. Ces systèmes constituent une plateforme flexible d'adjuvants potentiels comme alternative aux adjuvants non biodégradables actuellement utilisés[81].

II.2 Avantages

- Nanoparticules facilement captées par les macrophages et les cellules dendritiques.
- Stimulation du système immunitaire.
- Taille comparable à celles de pathogènes déjà reconnus par le système immunitaire.
- Substitution des sels d'aluminium.
- Voies d'administration alternatives[79].

III. Cosmétologie

En cosmétologie, des nanoparticules lipophiles solides ont été mises au point pour faire pénétrer des ingrédients actifs dans la peau. Elles sont présentes dans de nombreux produits : produits de protection solaire, déodorants, soins anti-âge, maquillage, etc. La protection solaire utilise des nanoparticules dans les écrans minéraux. Le consommateur n'était pas, jusqu'à présent, informé de leur présence. À ce sujet, la loi vient de changer (figure41): tout ingrédient présent sous forme d'un nanomatériau doit être clairement indiqué dans la liste des ingrédients. Le nom de l'ingrédient est suivi de « nano » entre crochets ; exemple: Titanium dioxyde [nano] (figure 42)[82].

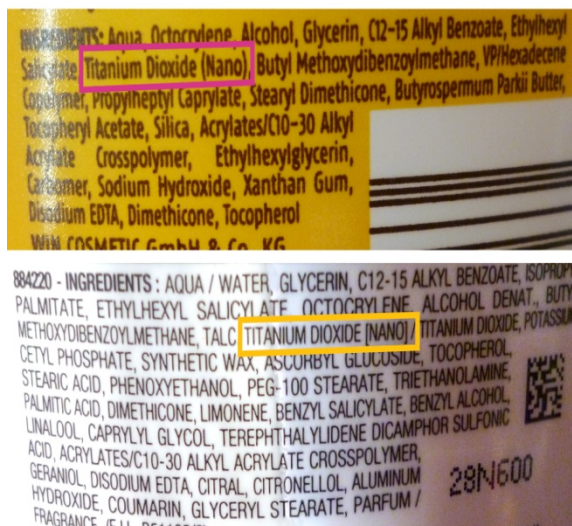


Figure 41 : Exemple d'étiquette réglementée d'un produit cosmétique



Figure 42: Exemple de légende que l'on peut retrouver sur un produit cosmétique

Il existe 2 types de filtres solaires :

- **Chimiques:** C'est un composé chimique organique qui absorbe la lumière ultraviolette. Il existe un grand nombre de filtres chimiques. Chacun protège dans une gamme donnée de longueurs d'onde. Pour une protection contre tous les ultraviolets, il faut associer plusieurs filtres différents.
- **Minéraux:** On parle aussi parfois d'écrans ou de filtres physiques. Les filtres minéraux sont des poudres inertes et opaques qui reflètent la lumière.

On choisit l'exemple des écrans solaires minéraux à propos desquels les patients interrogent quotidiennement. L'utilisation d'écrans solaires minéraux présente certains avantages par rapport aux filtres chimiques. Les écrans minéraux bloquent la pénétration des UVA et des UVB. Cela minimise les risques d'irritation cutanée et de sensibilisation provoqués par les filtres chimiques, compte tenu du caractère inerte des ingrédients. La pénétration cutanée est limitée. Le spectre de protection est large. Les écrans minéraux classiques, micronisés (sans particules inférieures à 100 nm), contenant du ZnO (Dénomination INCI : « Zinc oxyde ») et du TiO₂ micronisés (Dénomination INCI : « Titanium dioxyde ») ont l'inconvénient majeur d'être opaques à la lumière visible et de donner un aspect blanchâtre, crayeux, aux régions sur lesquelles ils sont appliqués.

Pour éviter ce phénomène, les nanoparticules de dioxyde de titane (TiO₂-NP) et d'oxyde de zinc (ZnO-NP) sont aujourd'hui utilisées dans les produits de protection solaire minéraux. Leur présence permet d'obtenir une photo-protection efficace, tout en évitant le caractère affichant des anciennes préparations. En effet, quand les particules deviennent plus petites que 100 nm, de nouvelles propriétés optiques s'observent. On peut dire que des particules de ZnO inférieures à 200 nm, voire plus petites, sont virtuellement transparentes. Le TiO₂, lui, doit être inférieur à 20 nm pour devenir invisible. Le spectre de protection, cependant, se déplace vers les UVB, les UVA-1 pouvant alors passer cette barrière de protection. Le savoir-faire des formulateurs permet de trouver un compromis entre l'utilisation de ZnO et de TiO₂ sous forme classique micronisée, et sous forme nanométrique[82].

III.1 Caractéristiques physico-chimiques

Tableau VI: Principales caractéristiques physico-chimiques du TiO₂ et du ZnO.

	DIOXYDE DE TITANE	OXYDE DE ZINC
	O = Ti = O	Zn-O
FORMULE BRUTE	TiO ₂	OZn
NOM INCI	Titanium dioxyde	Zinc oxyde
NOMS CHIMIQUES	Titanium dioxide CI 77891 CI pigment white 6	Zinc oxide CI 77947 CI pigment white 4
N°CAS	13463-67-7	1314-13-2
N°EC	236-675-5	215-222-5
ASPECT	Poudre blanche, inodore	Poudre blanche, inodore
FORMES CRISTALLINES	Anastase Rutile Brookite	Wurtzite (hexagonale) Blende Rocksalt (cubique)
POIDS MOLECULAIRE	79.9	81.4
POINT DE FUSION (°C)	1.843	1.975
POINT D'EBULITION (°C)	2972	-
SOLUBILITE DANS L'EAU A TA (MG/L)	insoluble	20 à 47
MASSE VOLUMIQUE (G·CM⁻³)	3,9 - 4,3	5.6

III.2 Dangers potentiels des nanoparticules de ZnO et de TiO₂

Aujourd'hui ANSM a fait l'état des connaissances relatives aux nanoparticules de TiO₂ et de ZnO dans les produits cosmétiques.

III.2.1 Concernant la génotoxicité

Les nanoparticules de TiO₂ et de ZnO peuvent générer des espèces réactives de l'oxygène (ERO) capables d'endommager l'ADN, même sans exposition aux UV. Les nanoparticules de TiO₂ sont susceptibles de générer des ERO après exposition aux rayonnements UV. Cependant, ces résultats d'études fondamentales ne sont pas transposables automatiquement aux produits commercialisés. Ces études ne prennent pas en compte des procédés tels que l'enrobage ou le dopage, qui peuvent permettre de diminuer les effets des ERO. Pour l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé, à ce stade actuel des connaissances, il n'est pas possible de conclure de manière générale sur le potentiel génotoxique des NP utilisées dans les produits cosmétiques[82].

III.2.2 Concernant la cancérogénèse

Il y a peu d'études disponibles aujourd'hui. Chez le rat, en particulier par voie respiratoire (instillation intratrachéale, intranasale), il existe une toxicité pulmonaire (inflammation pulmonaire chronique, production d'ERO, altérations cellulaires...). Concernant les produits cosmétiques, l'extrapolation à l'homme est difficile, l'application cutanée étant quasiment la seule la voie d'exposition pour les produits cosmétiques de protection solaire, sauf pour les formes en spray[82].

III.3 Les nanoparticules de ZnO et de TiO2 pénètrent-elles à travers la peau ?

Par rapport au ZnO-np où il existe peu de travaux, le TiO₂-np a fait l'objet d'un grand nombre d'études (in vitro, in vivo, chez l'animal et chez l'homme). La majorité des études utilisent des applications courtes. Aucune ne met en évidence de TiO₂-np, ni dans le corps muqueux de l'épiderme, ni dans la partie « vivante » du follicule pileux. Une étude (souris hairless in vivo et peau de cochon in vitro) avec une bonne méthodologie et une durée d'application longue de 60 jours, montre un passage transcutané et un dépôt de nanoparticules de TiO₂ dans différents organes internes.

En dermatologie, l'utilisation de nanocristaux de sels d'argent (Technologie Nucrust) est actuellement en développement pour le traitement de la dermatite atopique, au stade de la phase II aux États-Unis et au Canada. Des études précliniques ont également démontré une activité potentielle pour le traitement de l'acné et du psoriasis (brevet US7 008,647). Les sels d'argent sont déjà très largement utilisés dans la cicatrisation et sont reconnus pour leurs propriétés bactéricides. Une meilleure connaissance et compréhension des mécanismes de diffusion de l'ensemble de ces vecteurs dans les assises cutanées ainsi qu'une bonne maîtrise du devenir de ces vecteurs dans la peau devraient permettre l'aboutissement de la mise au point de spécialités topiques dans un futur proche[82].

IV. Traitement des maladies

IV.1 Cancer

IV.1.1 Radiothérapie

La radiothérapie est largement utilisée dans la plupart des indications d'oncologie. Plus de 60% des patients atteints de cancer reçoivent un traitement par radiothérapie à une étape de leur parcours de soin. Avec la chirurgie, la radiothérapie est le traitement local du cancer par excellence, et permet d'améliorer le pronostic vital de beaucoup de patients.

Cependant, il existe encore d'importantes limitations à la radiothérapie, en raison des dommages qu'elle peut causer aux tissus sains environnants une tumeur. Dans ces circonstances, de nombreux patients atteints d'un cancer reçoivent une dose insuffisante pour la destruction de la tumeur[83].

- *Améliorer drastiquement l'efficacité de la radiothérapie augmenterait l'efficacité générale du traitement du cancer*

Une approche récente pour répondre à ces importants besoins médicaux non satisfaits, Nanobiotix via sa plateforme de produits NanoXray, ambitionne d'accroître l'efficacité de la radiothérapie sans augmenter la dose reçue par les tissus sains environnants.

- *NanoXray vise potentiellement à adresser tous les types de cancers traités par radiothérapie*

Le pipeline NanoXray est constitué de trois produits conçus avec le même cœur d'oxyde d'hafnium et destinés à satisfaire les besoins cliniques spécifiques des différents cancers. Les nanoparticules d'oxyde d'hafnium s'accumulent dans les cellules cancéreuses grâce à leur taille spécifique et à la particularité de leur revêtement de surface. Lors de l'exposition aux radiations ionisantes, l'oxyde d'hafnium absorbe énormément d'énergie et génère des quantités très importantes d'électrons, amplifiant ainsi la destruction des cellules cancéreuses et de la tumeur. L'efficacité de la radiothérapie s'en trouve ainsi démultipliée alors même que la dose de rayons X traversant les tissus sains est restée inchangée. Les produits NanoXray

sont fondés sur l'utilisation de l'oxyde d'hafnium (HfO₂), matériau inerte qui ne produit un effet que lorsqu'il est exposé à la radiothérapie.

NanoXray est désigné pour augmenter l'efficacité de la radiothérapie en amplifiant son mode d'action afin d'améliorer le ratio bénéfice/risque pour le patient.

- **Le produit :**

NBTRX3* est une suspension aqueuse contenant des nanoparticules dont le revêtement de surface est conçu de façon à ce qu'elles pénètrent les cellules cancéreuses et restent à l'intérieur de la tumeur(figure 43)[83].



Figure 43: NBTRX3* nanomédicament à base des nanoparticules d'oxyde d'hafnium(HfO₂)

IV.1.2 Les nanomédicaments de première génération et traitement du cancer du foie

- ***Amélioration de l'efficacité et diminution la toxicité du médicament***

À l'heure actuelle, on dispose d'un arsenal relativement vaste de nanovecteurs pour administrer des médicaments: liposomes, nanoparticules polymères, nanoparticules sous forme d'oxyde de fer, micelles, etc. Tous ces vecteurs n'ayant subi aucune modification chimique de leur surface sont qualifiés de vecteurs de première génération. On observe que lors de leur administration par voie intraveineuse à un animal, ces vecteurs de première

génération se concentrent essentiellement au niveau des tissus du système réticulo-endothélial, c'est à- dire principalement dans le foie. Ce phénomène est essentiellement dû au fait qu'ils présentent une surface spécifique considérable, sur laquelle viennent s'adsorber de nombreuses protéines plasmatiques, en particulier des opsonines, qui seront par la suite reconnues sélectivement par les macrophages du foie. Ces derniers viennent alors interagir avec les nanovecteurs: cela explique pourquoi les nanovecteurs de première génération se concentrent rapidement au niveau hépatique. Les nanovecteurs de première génération se retrouvent principalement au niveau du foie, car ils sont reconnus par ses macrophages grâce aux opsonines qui s'adsorbent à leur surface.

Bien que cela puisse être considéré comme un inconvénient, on peut aussi en tirer avantage. En effet, ces systèmes constituent de véritables navettes pour amener de manière sélective des médicaments au niveau du tissu hépatique ; de cette manière, il est possible de traiter efficacement les pathologies sévères du foie, telles que l'hépatocarcinome résistant, ou encore les métastases hépatiques.

En vue de cette application, un médicament anticancéreux comme la doxorubicine a été encapsulé à l'intérieur d'une nanomatrice conçue à partir d'un polymère, le poly(alkylcyanoacrylate). Ce polymère, déjà largement utilisé comme colle chirurgicale, a l'avantage d'être biodégradable et biocompatible. Son utilisation peut donc être envisagée en clinique humaine.

Des tests ont ensuite été pratiqués dans des traitements de métastases hépatiques. Les résultats montrent que, dans le cas d'un traitement par la doxorubicine sous une forme galénique traditionnelle, il apparaît un problème inhérent à la chimiothérapie anticancéreuse: le nombre de métastases diminue effectivement en fonction de la dose injectée, ce qui montre bien l'activité anticancéreuse de la doxorubicine mais, à la dose de 5 mg/kg, on ne réduit que de 50 % les métastases hépatiques, ce qui n'est pas suffisant; et à la dose de 7,5 mg/kg, quelques animaux meurent, non pas de leur tumeur, mais de la toxicité cardiaque du produit. On retrouve ici tout le problème du traitement du cancer par de petites molécules: la « fenêtre de tir » est extrêmement étroite entre la dose pharmacologiquement active et la dose toxique. En revanche, si l'on encapsule la doxorubicine, on observe que sa concentration au niveau du

foie est fortement accrue et, pour une dose de seulement 2,5 mg/ kg, le nombre de métastases hépatiques diminue de manière beaucoup plus importante qu'avec la doxorubicine seule. De plus, pour des doses de 5 à 7,5 mg/kg, il est possible de débarrasser les animaux de la quasi-totalité de leurs métastases, tout en réduisant fortement la toxicité cardiaque du produit.

Ces résultats montrent clairement l'un des principaux intérêts de la vectorisation (figure 44): le médicament est mieux concentré au niveau de l'organe cible, alors que la toxicité est réduite, ce qui améliore considérablement son index thérapeutique. C'est ainsi qu'un nanomédicament de première génération à base de doxorubicine est entré fin 2006 en phase II/III d'essais. cliniques pour le traitement du cancer primitif du foie[84].

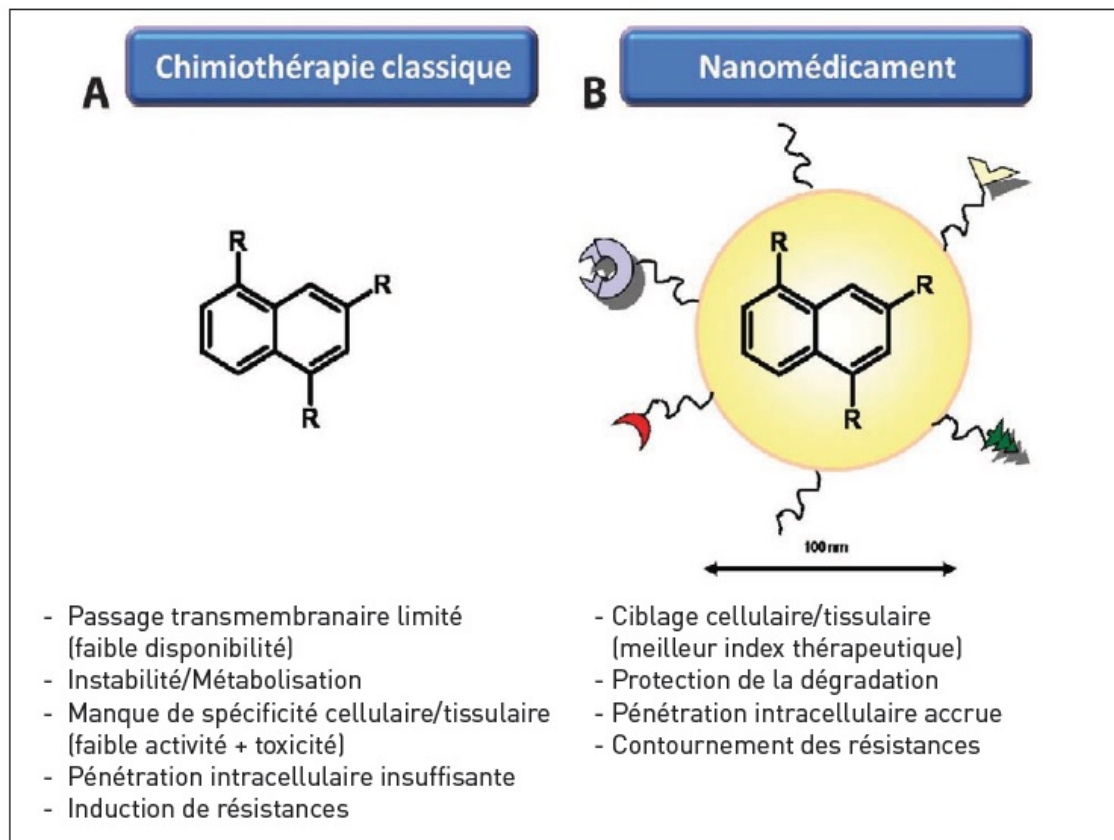


Figure 44: Comparaison d'un médicament classique et nanomédicament. **A.** Un principe actif libre **B.** Ce principe actif est encapsulé dans un nanovecteur équipé de fonctionnalités : c'est un nanomédicament.

IV. 1.3 Contourner les défenses du foie pour cibler d'autres organes : les nanovecteurs de deuxième génération

Comme expliqué précédemment, les opsonines qui viennent se fixer sur la surface des nanovecteurs sont responsables de leur capture par le foie. Pour contourner ce ciblage au niveau hépatique, l'idée est de « décorer » la surface de ces nanovecteurs par des chaînes de polymères hydrophiles et flexibles, capables de ce fait de repousser ces opsonines. Une fois encore, l'apport de la chimie est important, en particulier dans le concept physico-chimique de « répulsion stérique » utilisé ici, à l'aide de nanovecteurs dits de deuxième génération. Ils sont également dits « furtifs » car ils ne sont pas reconnus par le foie (plus précisément par les cellules de Kupffer du système réticulo-endothélial) et ne vont pas s'y concentrer. Afin de véhiculer des médicaments vers d'autres organes que le foie, un nanovecteur a été développé à partir du polymère biodégradable précédemment utilisé pour les nanovecteurs de première génération, mais auquel ont été greffées des chaînes de polyéthylène glycol PEG. On obtient ainsi un nanovecteur de deuxième génération dit « PEGylé ». Les nanovecteurs de deuxième génération ne sont pas reconnus par le foie et peuvent circuler plus longtemps dans le sang pour atteindre d'autres organes.

Au cours d'expériences comparatives, on observe qu'après injection intraveineuse de nanoparticules non PEGylées, celles-ci disparaissent de façon extrêmement rapide et massive du compartiment sanguin : elles sont captées par le foie. Au contraire, les nanoparticules PEGylées sont présentes beaucoup plus longtemps dans la circulation sanguine : étant partiellement furtives vis-à-vis des cellules du foie, elles sont beaucoup moins captées par cet organe. Ce résultat témoigne de leur meilleure efficacité en termes de pharmacocinétique. Cette augmentation du temps de circulation va leur permettre de cibler d'autres tumeurs. Or les études histologiques montrent que, dans un tissu sain, l'endothélium vasculaire est dit jointif, c'est-à-dire que les jonctions intercellulaires sont serrées, ce qui empêche les nanovecteurs de pénétrer dans ce tissu. Inversement, au niveau des tissus cancéreux, on observe une réaction inflammatoire, caractérisée par l'arrivée de macrophages et une libération de toute une série de cytokines, qui induit une augmentation de la perméabilité

vasculaire. Mécaniquement, cette augmentation de perméabilité va permettre aux nanoparticules de pénétrer dans le tissu cancéreux par diffusion. Il y aura donc une pénétration ciblée au niveau de la tumeur, en raison de la réaction inflammatoire. Cet effet est appelé effet EPR (« enhanced permeability and retention effect ») (figure 45). Il existe à la fois un effet de pénétration sélective mais aussi un effet d'accumulation dans la tumeur du fait de la présence du système nanoparticulaire.

L'effet « EPR » n'est pas seulement observé dans les cancers, mais il peut s'appliquer à toutes les pathologies où l'on observe une réaction inflammatoire. C'est le cas, par exemple, de l'encéphalomyélite auto-immune expérimentale, qui est une maladie auto-immune cérébrale induisant une forte réaction inflammatoire, en particulier au niveau de la moelle épinière[84, 85].

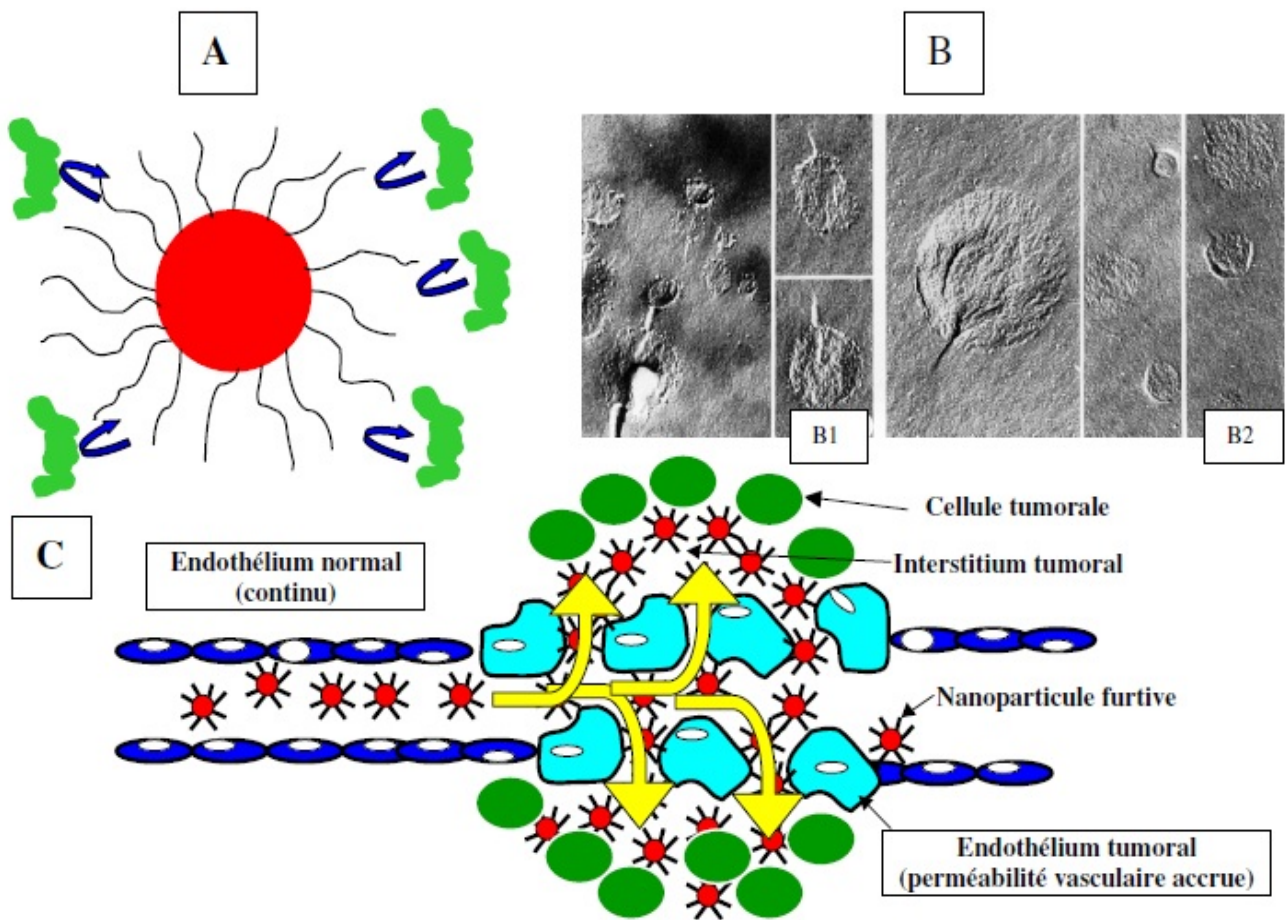


Figure 45: Représentation schématique du concept de répulsion stérique qui évite l'opsonisation et la reconnaissance par les macrophages (vecteurs de 2e génération) (A) lorsque les nanovecteurs ne sont pas décorés de PEG, on peut observer en microscopie électronique qu'elles sont recouvertes par les protéines du sérum (B1, la surface des particules est granuleuse) ; au contraire, lorsqu'elles sont recouvertes de PEG, elles exercent un effet de répulsion vis-à-vis des protéines plasmatiques (B2, la surface des particules est lisse). Ces particules sont alors capables de diffuser sélectivement à travers l'endothélium vasculaire tumoral dont la perméabilité est accrue et ainsi atteindre le tissu tumoral (C)[86].

IV.1.4 Applications thérapeutiques des nanovecteurs de troisième génération (vectorisation active)

Les résultats précédents montrent le bon ciblage des tissus malades par les nanovecteurs de deuxième génération grâce à l'effet EPR. Cependant, si ces vecteurs peuvent permettre de véhiculer sélectivement des médicaments au niveau des tissus cancéreux, ils ne restent, cependant, que dans l'espace interstitiel et ne pénètrent pas dans la cellule tumorale. Un nouveau type de nanovecteur dit de troisième génération a été conçu afin de pénétrer à l'intérieur de la cellule, permettant ainsi de véhiculer les médicaments vers des cibles intracellulaires.

Pour ce faire, on peut équiper les nanovecteurs de ligands capables de reconnaître des récepteurs spécifiques afin de pouvoir délivrer les médicaments qu'ils transportent à l'intérieur de la cellule cible. Il est nécessaire de choisir des cibles moléculaires qui exprimées à la surface des cellules, soient susceptibles d'être endocytées par celles-ci après interaction avec le ligand. Il s'agit d'une fonctionnalité supplémentaire, qui pourra être attribuée à la couronne du nanovecteur[84].

IV.1.5 Nanoparticules peptidiques pour la vectorisation ciblée in vivo de siRNA thérapeutiques

La découverte des ARN interférents a permis d'ouvrir de nouvelles perspectives pour les thérapies cellulaires et géniques. Cependant, bien que ces acides nucléiques présentent un potentiel antitumoral remarquable, leur passage en clinique reste limité par leur faible biodisponibilité et incapacité à atteindre leur cible in vivo. Récemment, dans l'optique d'évoluer vers une vectorisation ciblée, les chercheurs ont développé le concept de nanoparticules « NANOVEPEP ». Cette technologie basée sur l'utilisation des peptides amphipathiques secondaires court formant des nanoparticules « cages peptidiques » stables avec des siRNA. Elle a été utilisée avec succès ex vivo sur un large panel de lignées cellulaires et in vivo pour potentialiser l'action d'ARN interférents anti tumoraux (figure 46). Les chercheurs ont démontré que l'administration par voie systémique intraveineuse des particules « NANOVEPEP » permet la délivrance de siRNA dans la majorité des tissus, sans induire de toxicité ou de réponse inflammatoire non spécifique. La surface des nanoparticules

NANOVEPEP peut être fonctionnalisée à façon et l'addition de motif cholestérol, d'anticorps ou de peptides spécifiques permet d'améliorer l'adressage tissulaire/tumoral ou d'augmenter la stabilité des particules in vivo. Le potentiel thérapeutique de cette technologie a été validé dans plusieurs modèles tumoraux chez la souris, en ciblant la cycline B1, une protéine régulatrice essentielle à l'entrée en mitose et à la progression cellulaire. Ils ont démontré aussi que l'administration par voie intraveineuse systémique des particules « NANOVEPEP » stabilisées avec des fonctions cholestérol permet la délivrance de siRNA anti-cycline B1 dans la tumeur et bloque la croissance tumorale (0,1 mg/Kg) dans des modèles murins de cancer de la prostate et du poumon. Compte tenu de l'ensemble de ces résultats, la stratégie non covalente «NANOVEPEP » apparaît comme une des approches de vectorisation les plus prometteuses pour un développement clinique de siRNA thérapeutiques[87].

IV.1.6 Nanoparticules de chitosane pour vectorisation de petits ARN interférents

Une approche plus simple et plus facilement réalisable consiste à utiliser de petits fragments, soit des monobrans tels que les oligonucléotides Antisens soit des doubles brins comme les petits ARN interférents. L'avantage est que la cible de ces molécules, qui est l'ARN messager, ne se situe pas au niveau du noyau, mais au niveau du cytoplasme cellulaire, plus accessible. Cette approche est donc plus facile à mettre au point en utilisant les nanotechnologies.

L'exemple du carcinome papillaire de la thyroïde (maladie de Tchernobyl) est intéressant car la biologie moléculaire de cette pathologie est bien connue. En effet, on sait que les cellules deviennent cancéreuses en raison de la fusion de deux gènes : le gène *ret* et le gène *H4*. Chez un individu sain, ces deux gènes sont normalement positionnés sur deux chromosomes différents, alors que chez les individus porteurs du carcinome papillaire de la thyroïde, on observe une fusion de ces deux gènes sur un même chromosome. Des expériences réalisées sur des cellules fibroblastiques 3T3 (chez la souris) ont montré que l'introduction des gènes fusionnés *ret* et *H4* dans ces modèles de cellules induit la production d'une protéine chimère, *ret/PTC1*(PhénylThioCarbamide 1), responsable de la cancérisation. Dès lors, la jonction entre les deux gènes, appelée « oncogène de jonction », est une cible thérapeutique unique

pour faire de la vectorisation, soit d'oligonucléotides anti-sens, soit d'ARN interférents comme le siRNA. Pour cela, il est nécessaire de développer des technologies de vectorisation adaptées, et ce, en utilisant les outils de la chimie. Ainsi il a été développé voici quelques années une technique permettant de recouvrir des nanoparticules de polymères biodégradables par tous types de chaînes de polysaccharides. Un exemple choisi pour la vectorisation des siRNA est le chitosane, un polysaccharide naturel comportant des charges positives, et qui a été utilisé pour synthétiser des nanoparticules de 20 à 100 nanomètres. À ces nouveaux nanovecteurs ont alors été fixées des quantités importantes de siRNA, grâce aux charges positives du chitosane qui forment avec les charges négatives des siRNA des paires d'ions.

Afin de tester l'efficacité de ces nanoparticules de chitosane pour vectoriser des siRNA, des tests ont été effectués sur des cellules tumorales qui ont été greffées à des souris par voie sous-cutanée. Rappelons que la cible de la thérapie est la jonction entre les deux gènes ret et H4.

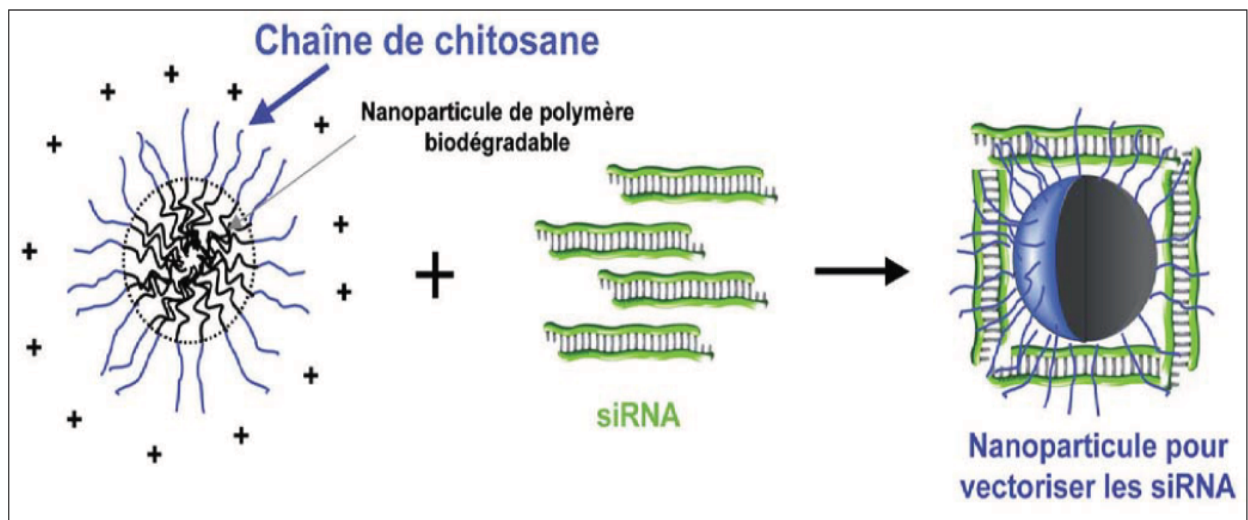


Figure 46: Nanoparticule de polymère biodégradable ont été greffées des chaînes de chitosane (bleu), portant des charges positives. Ces dernières permettent ensuite de fixer un grand nombre de doubles brins de siRNA (en vert), prêts à être véhiculés vers l'ARN-cible, à l'intérieur d'une cellule.

L'évolution de la tumeur a ensuite été observée chez les animaux traités par une simple solution de NaCl (0,9 %), et chez ceux ayant reçu cinq injections de siRNA sous forme libre. Il n'a alors été observé aucun effet en termes d'inhibition de la croissance tumorale, bien que ce siRNA soit bien orienté contre la séquence de l'oncogène de jonction. En revanche ce même siRNA associé aux nanoparticules de chitosane provoque une inhibition significative de l'évolution de la masse tumorale.

Pour montrer que cette inhibition du cancer est bien due à une reconnaissance de l'oncogène de jonction par siRNA (figure 47), Ils ont injecté le siRNA contrôle, encapsulé dans le même nanovecteur et, dans ce cas, aucun effet antisens n'a été observé.

Ces résultats mettent en évidence deux conditions requises pour bien toucher la cible avec les siRNA : posséder la bonne séquence de bases dans l'ARN interférent, sans quoi l'action serait nulle ; et avoir une forme galénique qui soit capable de favoriser la pénétration intracellulaire, et surtout de protéger ces ARN interférants de la dégradation[87].

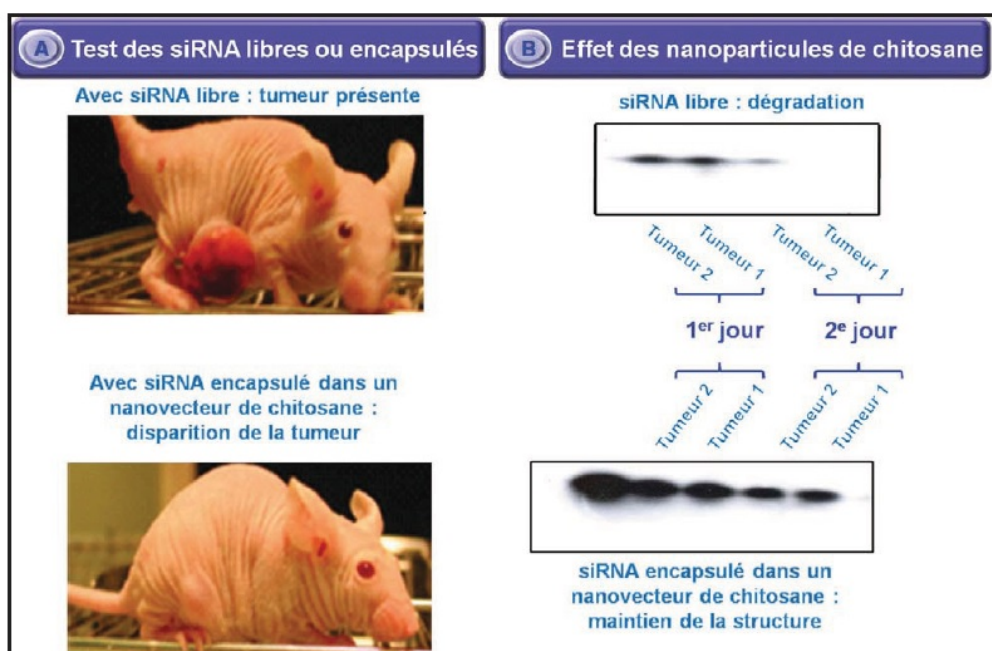


Figure 47: Le siRNA libre ne permet pas d'inhiber la croissance tumorale (tumeur encore présente chez la souris), alors que vectorisés par les nanoparticules de chitosane, on observe une disparition des masses tumorales. Les analyses des tissus in vivo par gel de Northern-blots montrent que l'injection de siRNA sous forme de nanoparticules permet de retrouver du siRNA intact au niveau de la tumeur après un et deux jours.

IV.1.7 Les nanomédicaments squalénisés : Quelle efficacité pour le traitement de cancer ?

Du point de vue pharmacologique, l'activité de ces nouveaux médicaments a été testée sur un modèle relativement agressif de tumeur expérimentale, la leucémie de murine L-1210[88]. Dans ces expériences, les cellules cancéreuses ont été injectées par voie intraveineuse aux souris, puis elles ont été traitées par la même voie, dans différentes conditions.

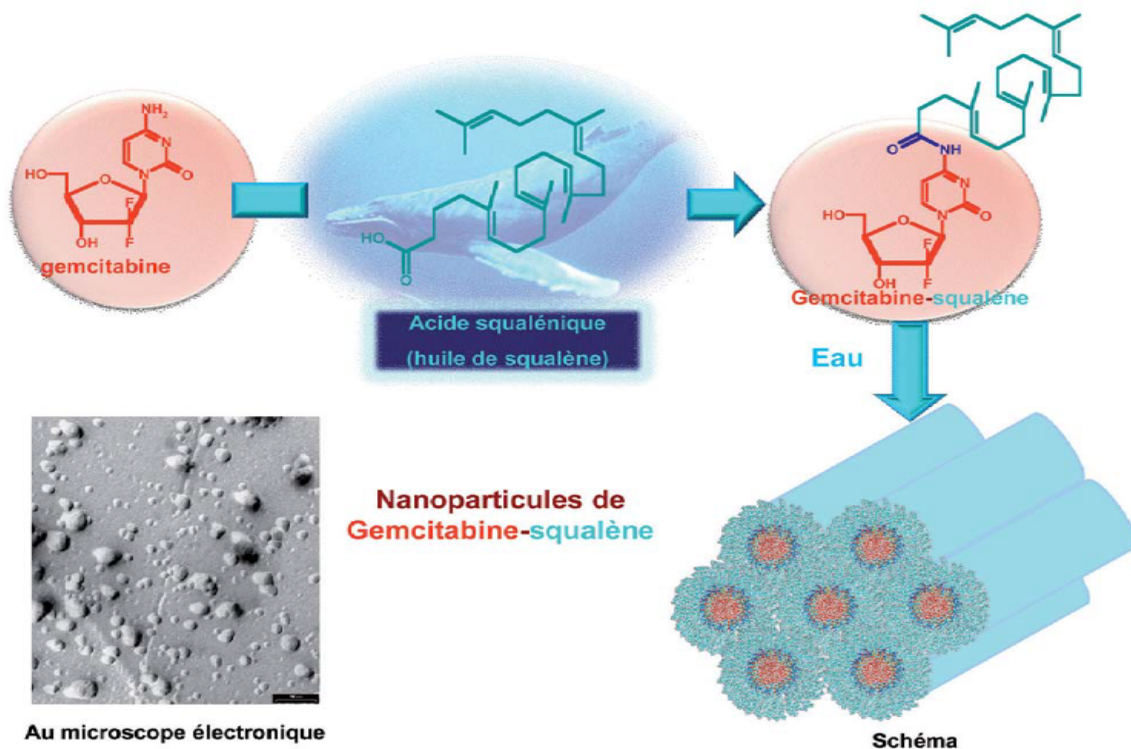


Figure 48: La squalénisation de la gemcitabine : on fait réagir l'anticancéreux gemcitabine avec l'acide squalénique et l'on obtient des molécules de gemcitabinesqualène. Lorsqu'on les met dans l'eau, elles se mettent à s'auto-organiser en colonnes parallèles, où la partie principe actif (gemcitabine) est orientée vers l'intérieur. La « coque » extérieure est constituée par les chaînes de squalène. L'ensemble de ces nanoparticules de 100 à 150 nm de diamètre est observable par microscopie électronique.

Les souris non traitées meurent au bout de vingt jours, et l'on voit bien que cette leucémie est très agressive (en bleu sur la figure 49). Les cellules cancéreuses vont disséminer extrêmement rapidement au niveau des organes profonds et induire des métastases; très vite les souris vont perdre du poids et toutes vont mourir moins de vingt jours après la greffe des cellules tumorales. Au contraire, pour les souris traitées par la gemcitabine libre à la dose de 100 mg/kg (en violet) qui est la dose maximale tolérée, on observe que le médicament a une activité puisque la survie des souris est prolongée en moyenne de 50 %. Cependant, elles ne sont pas guéries puisqu'aucun survivant à long terme n'est observé et qu'après 45 jours toutes finissent par mourir. Il est bien évident que les particules de squalène injectées seules n'ont aucun effet. En revanche, les particules de gemcitabine-squalène (figure 48) injectées à une dose cinq fois moindre que la gemcitabine libre conduisent (en rouge) à 75 % de survivants à long terme, c'est-à-dire des souris guéries. Ensuite il fallait s'assurer que la technologie de squalénisation fonctionnait sur des tumeurs localisées (figure 49). Pour cela, les cellules cancéreuses ont été injectées par voie sous-cutanée et l'évolution des tumeurs a été suivie.

Tout d'abord pour les souris non traitées, le volume tumoral croît de manière très rapide, en concordance avec les observations précédentes. L'évolution tumorale a ensuite été étudiée pour les souris traitées à la gemcitabine (à la dose de 100 mg/kg) et il apparaît que la tumeur est résistante à ce médicament. En effet, aucune différence de la croissance tumorale n'est observée par rapport aux souris non traitées, alors que l'on est à la dose maximale tolérée. Inversement, les souris traitées par voie intraveineuse par les nanoparticules de gemcitabine-squalène (en rouge) subissent dans un premier temps une diminution de la masse tumorale, et après dix jours, la tumeur disparaît[89].

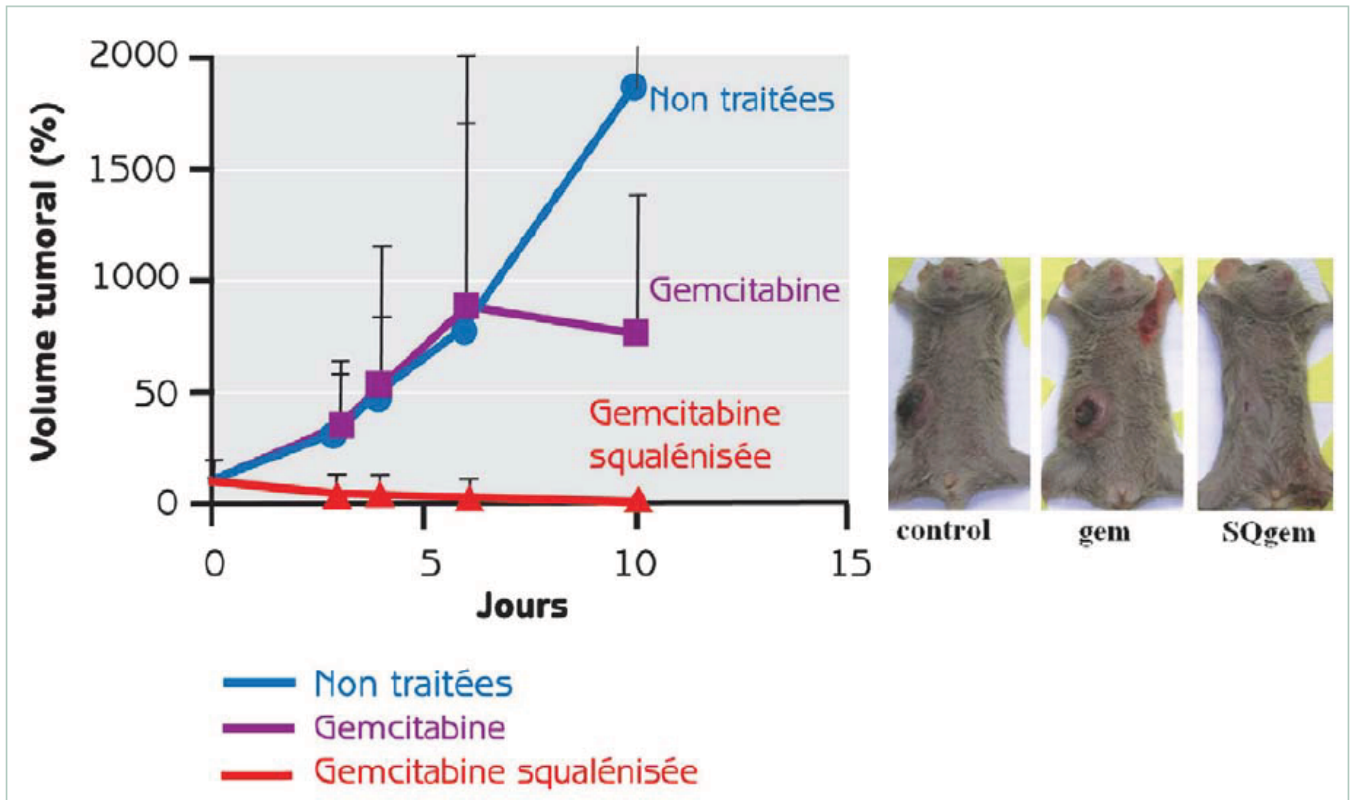


Figure 49: Résultats des traitements par la gemcitabine libre ou squalénisée sur le volume tumoral.

IV.2 Athérosclérose

L'athérosclérose se caractérise par le dépôt d'une plaque de graisses sur la paroi des artères, pouvant bloquer la circulation sanguine et entraînant par la suite sa lésion. La plaque peut aussi se rompre provoquant la formation soudaine d'un caillot de sang. L'athérosclérose peut provoquer une crise cardiaque si elle bloque complètement les artères du cœur, ou un accident vasculaire cérébral si elle touche celles du cerveau.

Les facteurs de risque des maladies de la paroi artérielle sont : le taux important de cholestérol ou triglycérides, le diabète, le tabac et l'hypertension, ce qui les rend responsables de la majorité des décès des pays développés. Les stratégies actuelles de lutte contre les conséquences de l'athérosclérose sont orientées soit vers la promotion d'un style de vie sain et le traitement pharmacologique des facteurs de risque, soit vers des stratégies d'intervention tardive telles que l'implantation de dispositifs médicaux, ou la thrombolyse (désagréger par médicament les caillots), etc... Toutefois, le traitement thrombolytique nécessiterait encore des améliorations afin d'accroître son efficacité et réduire ses effets secondaires (hémorragie intracrânienne)[90].

L'athérosclérose est une maladie complexe, qui implique de nombreuses biomolécules, en particulier les lipoprotéines à basse densité (LDL) et leur forme oxydée (oxLDL). Les patients présentant une grande concentration de LDL dans le sang (>100mg/mL) présentent d'avantage de risques de développer des plaques athérosclérotiques. Une stratégie pour combattre la maladie est donc de diminuer cette concentration, en suivant par exemple un régime alimentaire allégé en matières grasses, ou à l'aide de médicaments, les statines, qui ont démontré leur efficacité dans le traitement de l'hypercholestéromie, mais dont les effets secondaires sont aujourd'hui trop importants. Cependant, l'efficacité de ces dernières méthodes est limitée. Dans les cas où la concentration en LDL est très élevée (due à un problème métabolique par exemple), les traitements actuels sont parfois impuissants. Une stratégie alternative est de filtrer le sang des patients pour y retirer le LDL. Pour cela, il faut trouver un moyen de sélectionner cette molécule[90].

IV.2.1 Développement de la maladie

L'athérosclérose est caractérisée par un épaissement et une perte d'élasticité des parois de l'artère (plaque d'athérome), ce qui entraîne une réduction du flux sanguin, voire un blocage. Les vaisseaux concernés sont les artères les plus larges, comme l'aorte, les carotides, ou les artères coronaires. On distingue deux causes menant au développement de la maladie: une infection (le parasite intracellulaire *Chlamydia pneumoniae*, le virus de l'herpès cytomegalovirus, les virus de l'herpès simplex de type 1 et 25, ainsi que la bactérie *Helicobacter pylori*), ou un dysfonctionnement endothélial. Nous nous intéressons ici à cette dernière cause, car c'est celle-ci qui met en jeu le LDL[90].

IV.2.1 Utilisation de nanoparticules d'oxyde de fer comme nouveau traitement potentiel pour l'athérosclérose

L'athérosclérose est une épidémie mondiale dont les facteurs de risque sont nombreux, comme le mode de vie ou les prédispositions génétiques, entre autres. Le traitement de l'athérosclérose est abordé de deux manières différentes : l'une vise l'abaissement des taux de lipoprotéines de basse densité (LDL) dans le sang pour éviter ou diminuer la genèse de plaques d'athérome, tandis que l'autre approche vise la suppression des plaques d'athérome par la chirurgie, ou encore par l'implantation de stents. Bien que ces deux approches soient peu adaptées aux patients externes ou ceux qui présentent une hypercholestérolémie, il est urgent de développer de nouveaux médicaments et technologies qui pourraient aider ces patients. À cet égard, une arme classique pour abaisser le taux de LDL du sang est la plasmaphérèse. Cependant, elle nécessite quotidiennement une hospitalisation de longue durée, ce qui diminue la qualité de vie des personnes soumises à de tels traitements. D'où l'intérêt, de l'utilisation de nanoparticules d'oxyde de fer superparamagnétiques (SPIONs) pour diminuer les niveaux de LDL-libre présents dans le sang (figure 50). En effet, une preuve de concept d'un nouveau traitement potentiel pour l'athérosclérose, utilisant les SPIONs fonctionnalisés ciblant le LDL. Les chercheurs ont évalué la biocompatibilité de ces SPIONs à travers des tests de cytotoxicité in vitro et d'hémocompatibilité. Leur capacité à déplacer ces SPIONs, de manière unidirectionnelle, sous l'influence d'un champ magnétique, démontre la faisabilité de les utiliser dans un système de circulation sanguine ex vivo contenant un piège magnétique

afin de les récupérer une fois qu'ils ont fixé les LDL dans le sang. Par des essais ex vivo avec du plasma sanguin de lapin hypercholestérolémique, ils ont trouvé que chaque interaction de SPIONs, à 0,5 mg/ml, diminue la concentration de LDL d'au moins 34%.

Après avoir testé cette technologie sur des animaux, et pour finaliser le développement de la stratégie de traitement de l'athérosclérose, il faut réaliser une étude clinique randomisée. La moitié des patients serait soumise soit à l'injection de nanoparticules dans un système ex vivo, soit à l'injection d'un placebo. En comparaison, la deuxième moitié serait soumise à un traitement classique à base de statines ou de son placebo. Une étude statistique serait utilisée pour démontrer l'efficacité de la diminution de la concentration en LDL dans le sang, en mesurant par exemple le nombre d'événements cardiovasculaires et la présence de plaques athérosclérotiques[91, 92].

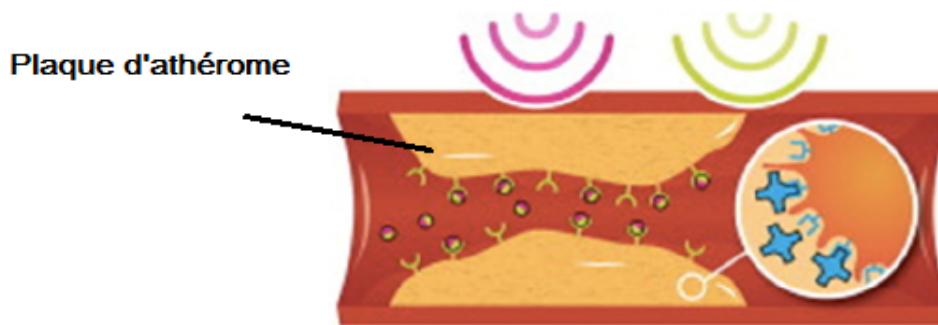


Figure 50: Mécanisme d'action des nanovecteurs pour le traitement de l'athérosclérose

IV.3 Diabète

Si l'on devait décrire le système idéal d'administration d'insuline exogène, l'on pourrait mettre en avant un système facilement accessible, d'utilisation simple, rapide et discret, qui ne nécessiterait pas de pique, respecterait un premier passage hépatique pour offrir un bon équilibre glycémique et faire oublier les hypoglycémies et les complications à long terme. En théorie, seule l'administration d'insuline par voie orale répond à tous ces critères (figure 51). En pratique, une telle formulation est en cours de développement depuis une trentaine d'années et pourrait, un jour, émerger sur le marché au vu de l'avancée des essais cliniques[93].

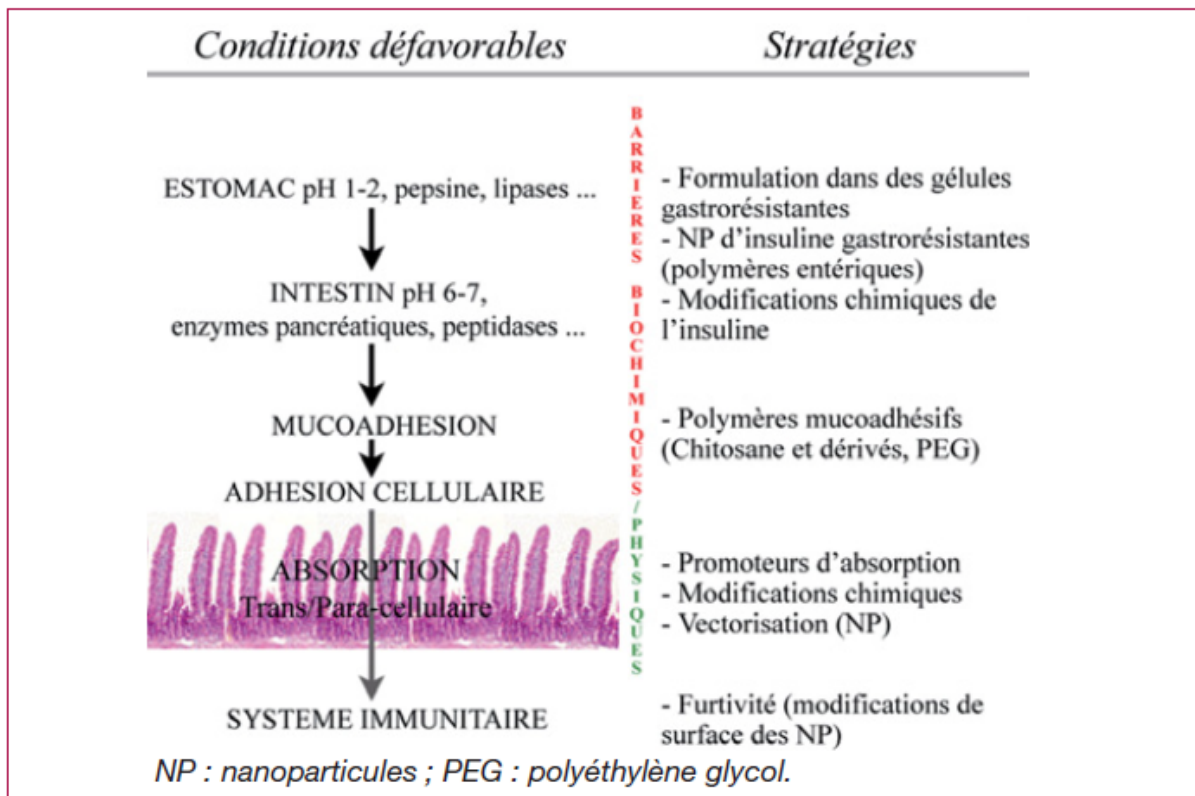


Figure 51: L'insuline orale : problématiques et stratégies.

IV.3.1 Physiologie majeur de l'insuline orale : la délivrance portale d'insuline

En temps normal, l'insuline est sécrétée par la cellule β -pancréatique dans la circulation porte afin d'être directement acheminée vers le foie. Cette insuline est extraite lors du premier passage hépatique selon un pourcentage (jusqu'à 80 %) module par le foie afin d'éviter les excès et les carences d'insuline dans la circulation périphérique. Cette extraction est responsable d'un gradient d'insuline positif porto-systémique. De ce fait, la forte concentration en insuline au niveau du foie permet l'inhibition de la glycogénolyse hépatique, la stimulation de la glycogénogenèse par le foie et par les tissus périphériques, la synthèse de certaines protéines comme les lipoprotéines, l'insuline-like growth factor (IGF-1), l'inhibiteur de l'activateur du plasminogène de type 1 (plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1) et la sex-hormone binding globulin (SHBG). De la même façon, la mobilisation de glycogène hépatique et la production de glucagon lors des hypoglycémies sont favorisées. Ces capacités

restant intactes chez les personnes diabétiques[94], il semble donc intéressant de les mettre à profit afin d'optimiser la régulation glycémique par de l'insuline exogène. C'est actuellement le cas avec les pompes à insuline implantables qui, en infusant de l'insuline dans l'espace péritonéal, permettent son acheminement vers le système veineux porte hépatique après résorption. L'efficacité métabolique de la perfusion intra-péritonéale d'insuline transparait au travers :

- De la diminution des taux d'HbA1c ;
- Des épisodes hypoglycémiques sévères;
- Des taux d'insuline périphérique.

Ceci s'associe à l'amélioration de la sécrétion de glucagon et de la production de glucose hépatique en réponse aux hypoglycémies. Tous ces événements concourent à limiter les fluctuations glycémiques au cours de la journée et à éviter l'hyperinsulinisme périphérique, connu pour engendrer une résistance à l'insuline. Au final, les patients relatent une meilleure qualité de vie sans prise de poids.

Il apparaît ainsi, de façon évidente, que l'administration portale d'insuline est la meilleure façon de fournir de l'insuline exogène à l'organisme des personnes diabétiques[93].

IV.3.2 Intérêt potentiel de l'insuline orale

A l'heure actuelle, de nombreux travaux s'orientent vers la recherche d'alternatives aux injections d'insuline qui soient efficaces et non invasives, l'objectif étant d'assurer une délivrance reproductible d'une quantité suffisante d'insuline. Le souhait important qu'ont les diabétiques de pouvoir s'administrer de l'insuline autrement que par injection, via un dispositif médical, encourage les laboratoires pharmaceutiques et de recherche à innover. Cependant, l'insuccès commercial de l'insuline inhalée (par voie pulmonaire), Exubera®(Nektar Therapeutics & Pfizer), qui n'a pas convaincu les diabétologues de ses avantages, prouve qu'une évolution ne sera majeure que si une nouvelle formulation galénique offre, non seulement l'argument psychologique d'éviter les injections, mais, surtout, si elle présente des avantages cliniques solides sur le contrôle glycémique et la limitation des complications à long terme. L'administration d'insuline par voie orale reste, ainsi, la voie la plus intéressante, car la plus physiologique grâce au respect du premier passage hépatique qui implique les bénéfices précédemment décrits[93].

IV3.3 Problématique de l'insuline par voie orale

Tout peptide ou toute protéine devant être administrés par voie orale doivent franchir plusieurs barrières afin d'arriver intacts dans le sang:

- L'environnement gastro-intestinal, dont le rôle est d'assurer la dégradation des aliments grâce à des variations de pH et à la présence d'enzymes gastriques, pancréatiques et intestinales, est responsable de l'hydrolyse des liaisons peptidiques ;
- L'épithélium intestinal, bien que dévolu au trafic moléculaire et à l'absorption de nutriments, a pour rôle d'empêcher les antigènes et autres micro-organismes de pénétrer dans la circulation sanguine. Sa perméabilité reste donc relativement sélective, ce qui représente une barrière difficilement franchissable par les molécules de grande taille, telles que l'insuline.
- Le mucus, protégeant la muqueuse de l'environnement intestinal, représente également un obstacle physique à franchir. Des interactions trop fortes entre le mucus et une formulation pharmaceutique peuvent induire l'immobilisation de cette formulation dans le mucus ou en surface des cellules. Il apparaît alors que cet environnement est hostile à l'intégrité et à l'absorption de l'insuline après sa prise par voie orale.

Au final, l'objectif à atteindre est une formulation gastro-résistante et stable en conditions intestinales, qui transporte l'insuline au travers de l'épithélium intestinal pour l'acheminer dans le sang où elle exercera son effet hypoglycémiant. De plus, une fois dans le sang, la formulation doit être furtive afin de ne pas déclencher de réactions immunitaires. Outre l'obtention de l'effet escompté sur la glycémie, il est important d'avoir une biodisponibilité suffisante, une faible variabilité inter- et intra-individuelle et, bien évidemment, une absence de toxicité[93].

IV3.4 Encapsulation de l'insuline dans des particules

- **Le rationnel**

Une alternative à ces différentes stratégies provient de l'évolution des nanotechnologies qui ont permis l'utilisation de nouveaux outils, les polymères, à l'échelle cellulaire et moléculaire. Désormais, il est possible de piéger l'insuline au sein d'un vecteur particulaire dont la taille est comprise entre quelques dizaines de nanomètres et quelques centaines de microns. Un vecteur peut assurer des rôles multiples, comme :

- Isoler l'insuline des milieux biologiques traversés et, ainsi, assurer une protection vis-à-vis des dégradations gastro-intestinales.
- Véhiculer l'insuline à travers la muqueuse intestinale.
- Libérer le principe actif dans le milieu désire, le sang dans le cas de l'insuline[93].

- **Les contraintes**

Un vecteur doit respecter certaines contraintes pour un usage pharmaceutique. Il doit être composé de matériaux biocompatibles et biodégradables n'entraînant aucune réaction toxique, immunogène ou inflammatoire, et doit être rapidement éliminé par l'organisme afin d'éviter toute accumulation qui pourrait être toxique à long terme. Les vecteurs particuliers utilisés pour la délivrance de médicaments sont formulés à base de lipides (liposomes, nanocapsules lipidiques) ou de polymères.

- **Les formulations à base de lipides**

Les formulations à base de lipides présentent un atout majeur: l'innocuité des composants (la plupart des lipides utilisés étant naturellement présents dans l'organisme humain). Les nanoparticules lipidiques isolent le principe actif du milieu extérieur dans un compartiment interne aqueux. Le taux d'encapsulation de telles structures est faible pour l'insuline, entraînant une perte importante de principe actif lors de la synthèse (de l'ordre de 5 à 10 %). Les liposomes sont stables à pH physiologique, mais se déstabilisent sous conditions acides, conduisant au relargage de leur contenu. Les liposomes peuvent cependant être stabilisés à pH acide après avoir été recouverts de chitosane. L'efficacité des formulations à base de lipides repose sur leur capacité à promouvoir l'absorption mucosale[93].

- **Les formulations à base de polymères**

De nombreuses formulations à base de polymères naturels ou de synthèse, plus stables que celles à base de lipides, ont également été proposées.

Parmi les polymères naturels, ceux qui sont retenus sont généralement des polysaccharides ayant des propriétés gélifiantes, comme le chitosane, le dextrane (gastro-résistant) ou l'acide hyaluronique. La fabrication des particules à base de polymères naturels fait appel à des techniques douces et à des conditions opératoires non dénaturantes pour les principes actifs.

Les polymères synthétiques les mieux placés pour l'encapsulation sont, naturellement, ceux sur lesquels on dispose de plus de données, en particulier au niveau de leur biodégradabilité et de leur toxicité : les poly(alkylcyanoacrylates) et les acides poly(lactique-*co*-glycolique).

- **Le cas des nanoparticules n'ayant pas de propriétés gastro-résistantes**

Pour les nanoparticules n'ayant pas de propriétés gastro-résistantes, il est possible de procéder à un enrobage avec des polymères entériques afin d'assurer la stabilité des nanoparticules en conditions gastriques.

Une autre stratégie intéressante a été décrite dans le brevet intitulé « *Vecteur pour administration orale* »[95]. Ce brevet décrit un système basé sur la double encapsulation de principes actifs et trouve, logiquement, son application dans la formulation d'insuline administrable per os (figure 52). Dans un premier temps, l'insuline est encapsulée dans des nanoparticules qui permettront l'acheminement de l'insuline de la lumière intestinale vers le sang au travers de l'épithélium. La protection de ces nanoparticules en conditions gastriques est alors assurée par l'encapsulation de ces nanoparticules dans un vecteur entérique, de type gélules gastro-résistantes. Ce système a pour but d'apporter une solution globale aux problématiques de l'insuline orale[93].

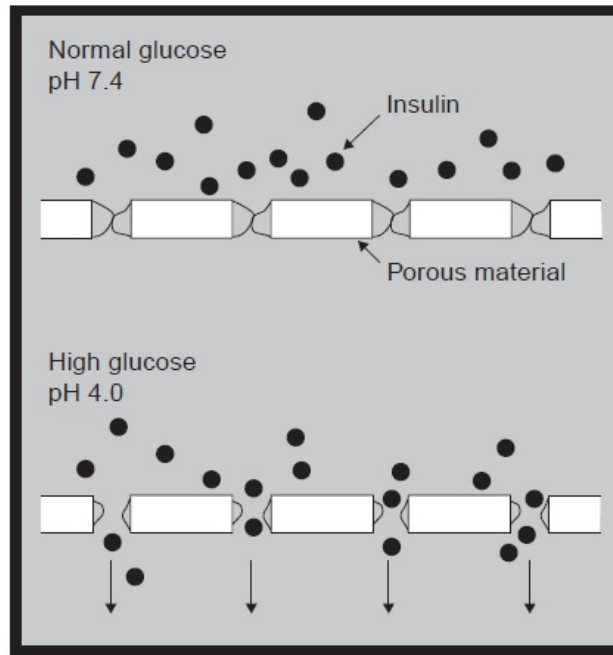


Figure 52: Schéma des nanoparticules polymères avec des portes moléculaires sensibles au pH pour contrôler la libération d'insuline déclenchée par la présence de glucose dans le sang.

IV.3.5 Potentialiser l'absorption des nanoparticules

Le passage de particules au niveau de l'épithélium intestinal reste un phénomène limité. Il ne représente qu'une faible quantité des particules administrées (< 10 %). Tout le challenge du développement d'une insuline orale réside donc en l'obtention d'une biodisponibilité satisfaisante. Il est très rapidement apparu que la taille des particules est un facteur critique de l'absorption. Des tailles de 50 nm à 5 µm ont montré leur efficacité. Les plus petites nanoparticules transitent alors par voie paracellulaire, et les autres peuvent être absorbées par voie transcellulaire. La charge de surface des particules est également un paramètre d'importance. Le mucus étant constitué de glycoprotéines hydrophiles négativement chargées, le caractère muco-adhésif d'un vecteur particulaire va dépendre de la charge positive et de l'hydrophilie de surface des particules. Il est possible de potentialiser la muco- et la bio-adhésion pour améliorer la biodisponibilité en se servant des propriétés du chitosane et de ses dérivés, ou encore du poly(éthylène glycol). En effet, ces polymères interagissent fortement avec le mucus. Certains auteurs proposent également de réaliser des modifications de la surface en greffant des ligands, afin de cibler spécifiquement certains récepteurs membranaires exprimés au niveau des cellules épithéliales de l'intestin[93, 96].

IV.3.6 Essais cliniques avec données récentes

Afin d'illustrer les différentes stratégies qui viennent d'être énumérées, le tableau VII dresse un bilan des essais cliniques ayant récemment communiqué leurs avancées. D'une façon générale, l'on peut noter que les stratégies qui emploient un promoteur d'absorption ou une modification chimique dans leur formulation présentent une biodisponibilité faible. La présence de mucus sur l'épithélium intestinal est un frein au passage des promoteurs, d'où une répercussion sur l'efficacité.

L'insuline modifiée chimiquement, développée par Nobex/Biocon, est formée d'insuline conjuguée à un ou plusieurs oligomères amphiphiles. Cette conjugaison favorise le passage du peptide au travers de la muqueuse intestinale (grâce au caractère lipophile du conjugué) et la protection enzymatique est assurée grâce aux interférences stériques entre enzymes et oligomères. Cependant, l'insuline ainsi modifiée perd 30 % de son activité, ce qui est le risque majeur encouru par ce type de manipulation. Ces stratégies supportent cependant l'emploi de quantités importantes d'insuline compte tenu de la disponibilité et du coût, relativement faible, de cette dernière sur le marché.

La stratégie de l'encapsulation, adoptée par la firme Diasome, est actuellement la plus efficace en terme de biodisponibilité. Ceci reflète bien la solution globale apportée par un vecteur particulière aux problèmes rencontrés par la formulation orale des protéines, et de l'insuline en particulier [93, 97].

Tableau VII: Bilan des études cliniques menées sur l'insuline orale

Nom du système	Firme(s)	Dose /jour (UI)	Bio-disponibilité	Technologie/ Principe	Essais cliniques	Résultats	Année des dernières données [Réf.]
Eligen® <i>in su lin</i>	Partenariat : Emisphere Technol., États-Unis Et Novo Nordisk, Danemark	1 200	Faible	Complexation de l'insuline avec un promoteur d'absorption (SNAC)	Ph II	<ul style="list-style-type: none"> - C_{max} : 30-60 min - Pas d'altération de l'intégrité membranaire intestinale - Pas d'effet indésirable observé 	Décembre 2010* [16]
HIM2 (<i>Hexyl Insulin Monoconjugate 2</i>)	Partenariat : Nobex Corp., États-Unis Et Biocon, Inde	1 200-2 000	Faible	Modification chimique d'une insuline rapide	Ph II	<ul style="list-style-type: none"> - C_{max} : 30 min - Effet insuline rapide - Effet dose-dépendant - Absence de toxicité validée 	2009 [17]
Capsulin™	Diabetology Ltd, UK	600-1 200	Faible	Gélules gastro-résistantes contenant un mélange insuline (150 UI) + promoteurs d'absorption	Ph II	<ul style="list-style-type: none"> - C_{max} : 90 min - Durée action > 6 heures - Pas d'effet dose-dépendant - Légères diminutions HbA_{1c} et TG - Bonne tolérance du produit 	2010 [18]
HDV-I (<i>Directed Hepatic Vesicle-Insulin</i>)	Diasome Pharm., États-Unis	20	Élevée	<ul style="list-style-type: none"> - Nanoliposomes contenant de l'insuline (5 UI), couplés à une molécule ciblant les hépatocytes - Protection gastro-intestinale et dans le sang 	Ph III	<ul style="list-style-type: none"> - Effet par voie orale proche de l'effet de la même dose par voie sous-cutanée - Bonne biodisponibilité 	2009 [19]
ORMD-0801	Oramed Pharm., Israël	944	Faible	Gélules contenant insuline (216 UI) + promoteurs d'absorption	Ph II	<ul style="list-style-type: none"> - C_{max} : 4 h - Réduction de la glycémie de 7 à 37 % - Pas d'effet indésirable sévère 	2010 [20] Octobre 2011 [21]

* D'après www.emisphere.com et www.novonordisk.com

SNAC : sodium N-[β-(2-hydroxybenzoyl)amino]caprylate ; C_{max} : concentration maximale au pic ; TG : triglycérides.

IV.4 Maladie d'Alzheimer

IV.4.1 Caractéristique sur la maladie d'Alzheimer

- **Origine de la maladie**

L'état actuel des connaissances suggère que la production progressive et ensuite l'accumulation du peptide β -amyloïde ($A\beta$), un fragment de la protéine appelée membrane associated amyloid precursor protein (APP), joue un rôle central dans la genèse de la maladie. Ce peptide est libéré par les cellules sous une forme soluble qui va pouvoir s'agréger progressivement et former des plaques extracellulaires qui sont des caractéristiques morphologiques de la maladie, détectables dans le cerveau des malades décédés. De plus, l'accumulation dans les neurones sous la forme de neurofibrilles de la protéine tau anormalement hyper-phosphorylée est une autre caractéristique de la maladie, retrouvée dans les cerveaux de malades ; c'est une autre cause importante de la maladie qui apparaît dans un second temps.

- **Signes cliniques/symptômes**

La maladie d'Alzheimer se caractérise par une détérioration continue des fonctions cérébrales en raison d'une dégénération neuronale progressive et irréversible. On constate notamment une perte importante de neurones cholinergiques et un déficit en acétylcholine, un neurotransmetteur essentiel au fonctionnement de l'organisme. Le mode d'installation des troubles cliniques témoigne de la progression des lésions cérébrales. Les premiers signes sont des troubles de la mémoire des faits récents. Puis apparaissent les atteintes d'autres fonctions cognitives comme l'apraxie, l'agnosie ou l'aphasie. Ceci conduit à une perte totale de l'autonomie des patients et éventuellement à la mort[98].

- **Diagnostic**

Cette maladie n'est diagnostiquée que chez 50 % des patients et seuls 30 % des patients Alzheimer bénéficient d'un traitement. Pourtant, les connaissances sur la maladie ont considérablement progressé ces dernières années et devraient permettre aux praticiens de poser un diagnostic dès le début de la maladie. Une prise en charge médicale et paramédicale devrait alors être mise en place pour chaque patient diagnostiqué. Un diagnostic précoce

lorsque le patient n'est atteint que de troubles légers de la mémoire est en effet maintenant possible. Il faut pour cela réaliser une expertise neuropsychologique qui détecte les malades avec une sensibilité de 80 % et une spécificité de 90 %. D'autres outils comme l'imagerie cérébrale, les dosages de biomarqueurs après une ponction lombaire ou encore la scintigraphie cérébrale permettent de diagnostiquer des stades précoces de la maladie. Malheureusement, ces examens sont encore trop rarement pratiqués et c'est souvent à un stade plus évolué de la maladie, quand les troubles sont plus invalidants, que le diagnostic est posé[98].

- **Traitements/médicaments**

Les traitements existants sont uniquement basés sur la correction du déficit en acétylcholine. Ces médicaments sont des inhibiteurs de la cholinestérase, une enzyme qui dégrade l'acétylcholine. Ils permettent donc d'augmenter la concentration en neurotransmetteur et de corriger les symptômes de la maladie. Cependant, aucun traitement n'est capable à l'heure actuelle d'empêcher la mort de nouveaux neurones (c'est-à-dire d'arrêter la progression de la maladie), ni de remplacer les neurones perdus (c'est-à-dire de guérir la maladie sans séquelles) et de nombreuses recherches sont menées dans ce but.

IV.4.2 Utilisation des nanoparticules au traitement et au diagnostic de la maladie d'Alzheimer

L'état des connaissances actuelles suggère d'utiliser le peptide A β comme cible principale des approches thérapeutiques et diagnostiques. Les nanoparticules et les liposomes offrent un outil attractif pour réussir ce challenge grâce à la possibilité d'en fonctionnaliser la surface à l'aide de molécules et/ou de ligands afin de les rendre furtives pour prolonger leur demi-vie plasmatique, capables de traverser la barrière hémato-encéphalique et susceptibles de cibler le peptide A β . Il est à noter que ces vecteurs ont l'avantage d'être biocompatibles, peu toxiques, faciles à préparer et qu'ils sont capables de contrôler la libération des principes actifs encapsulés. Un projet européen (European Community's Seventh Framework Programme, FP7/2007-2013, n° 212043), basé sur ces idées, est actuellement en cours de réalisation. Ce projet repose donc sur l'utilisation de vecteurs spécifiquement conçus pour viser le peptide A β dans le but de diagnostiquer et de traiter la maladie d'Alzheimer. Il envisage deux stratégies qui s'appliquent aussi bien aux états précoces qu'aux états avancés de la maladie.

- a. Interagir avec le peptide A β soluble circulant dans le sang. Des données récentes montrent que le peptide A β est présenté à l'état soluble dans le sang et le cerveau et cet équilibre de part et d'autre de la BHE serait déplacé par la formation des plaques cérébrales. Selon cette hypothèse de travail, des nanoparticules ou des liposomes conçus pour interagir avec le peptide A β au niveau de la circulation sanguine devraient déplacer l'équilibre vers le compartiment sanguin et empêcher le peptide de s'accumuler dans le cerveau, puis d'exercer sa toxicité vis-à-vis des neurones.
- b. Interagir avec les différentes formes du peptide A β (monomères, oligomères, plaques) présentes au niveau du cerveau. L'interaction avec le peptide A β soluble dans le cerveau pourrait empêcher son oligomérisation, et ainsi prévenir la formation des différents agrégats toxiques. De plus, l'interaction avec le peptide déjà agrégé devrait également réduire sa toxicité. Pour cela, il conviendra de concevoir des vecteurs capables de traverser la BHE et de cibler le peptide A β grâce à différents ligands capables de le reconnaître et de se lier à ce peptide et qui seront greffés à leur surface.

Parallèlement, la fonctionnalisation des vecteurs avec des agents de contraste pourrait permettre la détection des plaques et envisager une approche combinée diagnostique et thérapeutique, appelée théranostique[98] .

IV.5 Infections

Actuellement, il existe différents systèmes de vectorisation, principalement à base de liposomes ou de nanoparticules constitués le plus souvent de polymères naturels biocompatibles. En microbiologie, les nanoparticules ont trouvé également leurs applications dans l'amélioration des antibiotiques vis-à-vis le phénomène de la résistance. Des études récentes ont montré que des constituants des nanoparticules comme l'argent (Ar), l'oxyde de zinc (ZnO), l'oxyde de cuivre (CuO) et l'oxyde ferrique (Fe₂O₃) ont des propriétés antibiotiques en particulier contre les bactéries Gram négatif comme le *S. aureus* et le *Bacillus subtilis* et contre les bactéries Gram positif comme le *P. aeruginosa* et l'*E. coli*. Par exemple, les nanoparticules préparées à partir des extraits de plantes et des métaux d'argent (AgNO₃) ont montré des propriétés antimicrobiennes contre des bactéries pathogènes comme *E. coli*, *Proteus spp*, *Klebsiella spp*, *Staphylococcus spp*, *Enterobacter spp*, *Bacillus spp*, et *Pseudomonas spp*[99].

IV.5.1 Nanoparticules de cuivre et d'oxyde de cuivre

- **Généralités**

Le cuivre est un oligo-élément, présent dans l'organisme à faible concentration (1.5 à 3 mg/kg/jour apport quotidien) et sans lequel la vie ne serait pas possible. Le cuivre est nécessaire au bon fonctionnement de certains enzymes. Il est essentiel et nécessaire pour la stimulation du système immunitaire contre les infections et un élément essentiel pour maintenir l'homéostasie. Cependant, pour les bactéries, le cuivre n'est pas un élément essentiel. Il joue un rôle bénéfique pour les organismes supérieurs (animaux) et non pour les organismes inférieurs (virus et bactéries). Donc sa présence à l'intérieur de la cellule est considérée comme étrangère. Il est connu toxique envers les microorganismes[100].

- **Effets antibactériens**

Alors que les métaux d'argent et les ions d'argent ont été les premiers à être utilisés comme agent antimicrobien, des évidences montrent que les agents antimicrobiens à base de cuivre seraient plus efficaces que l'argent, en offrant des avantages comme la réduction des coûts et des effets toxiques sur les cellules eucaryotes.

L'effet antimicrobien des nanoparticules de cuivre contre de nombreux organismes a été rapporté dans diverses études. Plusieurs paramètres rentrent en considération pour l'augmentation de l'effet antimicrobien des NPs de cuivre et oxyde de cuivre. Yoon a regardé l'effet antibactérien des nanoparticules d'argent et de cuivre sur les souches *Escherichia coli* et *Bacillus subtilis*[101]. Il remarque que le ratio des bactéries mortes augmente lorsque les concentrations de NPs augmentent (plus de 70, 80g/mL). D'autres nanoparticules de cuivre et d'argent ont été étudiées par l'équipe de Ruparelia, et les conclusions sont similaires à l'équipe de Yoon. Il conclut que les effets antibactériens des nanoparticules de cuivre et argent sont dépendants de la concentration des nanoparticules et de la concentration en bactéries initialement[100].

- **Mécanismes d'action**

La concentration des NPs utilisées, la méthode de synthèse des NPs ainsi que le temps d'incubation de plusieurs auteurs utilisant les NPs de Cu et CuO comme agent antibactérien. Tous ces paramètres influencent la toxicité des NPs envers les bactéries expliquant les différents rapports contradictoires sur l'effet bactéricide des NPs de cuivre et d'oxyde de cuivre. Il y a une nécessité de poursuivre les recherches en vue de comprendre l'effet des NPs de cuivre et d'oxyde de cuivre. Des études montrent que l'ADN est endommagé à cause du stress oxydant, à une concentration de NPs de Cu de 80µg/mL. Les dommages sur l'ADN des NPs de CuO sont plus importants que ceux effectués par les MPs de CuO. Dans toutes les études, les NPs de CuO étaient constamment plus cytotoxiques et induisaient plus de dommages oxydants sur l'ADN que les ions libérés par les nanoparticules elles-mêmes. Cependant les ions libres de cuivre peuvent endommager les protéines et la membrane à de hautes concentrations (supérieur à 140 mg/L), auraient une grande affinité pour les molécules riches en électrons comme l'ADN et utiliseraient le stress oxydant[100].

IV.5.2 Le monoxyde d'azote

- **Généralités**

Le monoxyde d'azote (NO) est une molécule versatile, petite et instable qui est générée enzymatiquement à l'intérieur des cellules eucaryotes et bactériennes.

La synthase du monoxyde d'azote (nitric oxide synthase, NOS) produit le NO, en présence d'oxygène et d'acides aminés L-arginine. Les bactéries peuvent aussi produire le NO, car elles détiennent aussi la synthase. Cependant, les bactéries ne détiennent pas un domaine essentiel de la réductase pour compléter la production de NO. Les bactéries doivent donc utiliser celle des cellules eucaryotes. Gusarov et collègues ont observé qu'à des concentrations faibles de NO, produit par la synthase bactérienne, permettrait de protéger les bactéries contre le stress oxydatif dû à l'utilisation systémique des antibiotiques (augmentant la résistance des bactéries aux antibiotiques).

Le NO et les produits dérivés exercent une activité toxique envers les micro-organismes. Le NO a plusieurs fonctions comme la régulation de la pression sanguine, le contrôle de

l'agrégation des plaquettes, la protection contre les blessures vasculaires , la vasodilatation des muscles lisses, la neurotransmission, la guérison des plaies et le NO est utilisé comme agent antimicrobien par les cellules immunitaires[100].

- **Effets antibactériens**

Il y a plus de 50 ans, le monoxyde d'azote était utilisé pour prévenir les détritres provenant de la viande. Le NO libéré du nitrite de sodium dans un milieu acide aurait été la cause de l'effet bactériostatique. Des études ont permis de conclure que le NO aurait un effet bactériostatique et pourrait même avoir un effet bactéricide. Les chercheurs s'intéressent grandement à la toxicité du NO, car chez les mammifères, les macrophages et autres cellules immunitaires produisent cette molécule en réponse à l'invasion des pathogènes microbiens. Les sites connus de colonisation bactérienne comme dans le nasopharynx (grande quantité de bactéries *S.aureus*), il est possible de retrouver d'importante quantité de NO. Les effets antimicrobiens du NO ont été d'abord examinés avec du NO gazeux (gNO). Cela inhibait la croissance des bactéries, champignons, mycobactéries, parasites et virus. Le flux du NO était contrôlé par une chambre spécialisée et permettait de prévenir les réactions des espèces réactives d'oxygène avec le NO. L'équipe de McMullin aussi a exposé du NO gazeux (200ppm) à des souches bactériennes. Ils ont remarqué un effet bactéricide à 100% pour la souche *S.aureus* après 4h d'exposition. Une étude remarque que les bactéries ne sont pas susceptibles à de faibles concentrations de NO (0.1 à 1.4ppm), cela n'affectait pas leur croissance. L'équipe de Seabra a utilisé les nanoparticules d'oxyde de fer et les ont fonctionnalisées avec du NO[100].

- **Mécanismes d'action**

L'équipe de Schoenfish a analysé la morphologie des bactéries après un traitement nanoparticules libérant du NO[102]. Les effets ont été remarqués pour la souche *E.coli* et *P.aeruginosa*. Il y avait lyse bactérienne et un effondrement de la membrane. Des débris cellulaires étaient observables ainsi qu'une diminution de la croissance cellulaire. Le groupe de Friedman a observé l'effet du NO sur les bactéries connues causant les infections nosocomiales comme *S.aureus* in vitro, et la souche résistante à la methicilline *S.aureus* MRSA in vivo.

Ils ont libéré le NO (75nM libération initiale et une libération continue de 50nM) à l'aide de 5mg/mL de nanoparticules à base d'hydrogel. Ils ont observé une activité antimicrobienne contre ces bactéries dans une souris ayant des abcès. Les effets antibactériens peuvent être induits par la modification des macromolécules ou par la formation d'espèces de nitrogène réactive (ERN). Ces ERN peuvent induire du stress nitrosatif qui rendra les bactéries plus vulnérables et seront ainsi détruites. Le NO endommage l'ADN en trois mécanismes. Le premier est une réaction directe des ERN avec la structure de l'ADN. Le NO agit aussi de façon indirecte sur l'inhibition de la réparation de l'ADN en inhibant les enzymes associées à la réparation. Et le dernier mécanisme est l'augmentation des agents alcalins et du peroxyde d'hydrogène (produits génotoxiques)[100].

IV.5.3 Nanoparticules à base de polyéthylène glycol contenant de l'ofloxacin

Une étude récente a montré que l'utilisation des nanoparticules contenant des antibiotiques de la classe des fluoroquinolones permet de contourner leur résistance comme la réduction de la perméabilité membranaire et l'augmentation de l'efflux (figure 53). Cette étude a montré que des nanoparticules à base de polyéthylène glycol contenant de l'ofloxacin (fluoroquinolone) présentent une meilleure activité antimicrobienne contre des nombreuses souches bactériennes pathogènes en comparaison avec l'ofloxacin seul. Il s'agit des souches *d'E.coli*, *de P. vulgaris*, *de S. typhimurium*, *de P. aeruginosa*, *de K. pneumoniae* et *de S. aureus*. Cet effet a été confirmé par une amélioration de la pénétration intrabactérienne de l'ofloxacin qui est à l'origine de la résistance. Cependant, cette stratégie est principalement testée *in vitro* sur des bactéries en culture. Peu d'essais cliniques ont été initiés tant que médicaments en utilisant les antibiotiques à base de nanoparticules[99, 103].

Or, actuellement, les leishmanioses résistantes aux traitements usuels sont en constante augmentation: ceci peut être lié au caractère génétique de quelques souches, mais, surtout au terrain immunodéprimé de certains patients. Ces résistances mettent en exergue la pauvreté de notre arsenal thérapeutique et notre méconnaissance du mode d'action de ces médicaments. Parallèlement à la recherche de nouveaux médicaments, différents protocoles d'administration sont expérimentés; ainsi la vectorisation particulière permet d'amener un produit leishmanicide connu dans la vacuole lysosomiale du macrophage parasite à l'aide d'une suspension colloïdale dont la taille des éléments varie entre 20 et 500 nm. Des leishmanioses viscérales poly-résistantes ont été mises en rémission complète par l'injection de liposomes chargés d'amphotéricine B. Actuellement il n'existe pas de vecteur colloïdal fixant les dérivés stibiés, mais on peut vectoriser la pentamidine à l'aide de nanoparticules de polymères de méthacrylate afin d'essayer d'en améliorer l'efficacité et d'en diminuer la toxicité; ce même principe a été appliqué avec succès pour des substances anticancéreuses et des antibiotiques. De plus, une autre variété de nanoparticules constituées de polymères biodégradables de polyisobutylcyanoacrylate, a montré, *in vitro*, qu'elle détruisait les trypanosomes africains et les amastigotes libres de leishmanies. Le but est d'évaluer les possibilités thérapeutiques leishmanicides de ces deux polymères à l'aide d'un modèle *in vitro* combinant une lignée monohistiocytaire d'origine humaine et une souche de *Leishmania major*[104].

La souche de leishmanie a été isolée au Maroc sur *P.papatasi* et est identifiée comme *Leishmania major*.

La pentamidine libre est efficace (figure 54) en 24 heures, avec une CE 50 % = 2,7 µg/ml (soit 4,6 pM) et une CE 90 % = 6,3 µg/ml (soit 10,7 pM).

La pentamidine vectorisée se montre très active avec une CE 50 % à 24 heures = 0,10 µg/ml (soit 0,19 pM), CE 90 % = 0,14 µg/ml (soit 0,26 pM). Cette activité leishmanicide est peu améliorée par un contact de 48 heures; dans ce cas, la CE 90 % se situe à 0,135 µg/ml (soit 0,24 pM). De plus l'augmentation de la concentration de pentamidine vectorisée jusqu'à 0,28 µg/ml (soit 0,52 pM) correspondant au double de la CE 90 % ne permet pas l'obtention d'une concentration efficace 100 % en 48 heures[104].

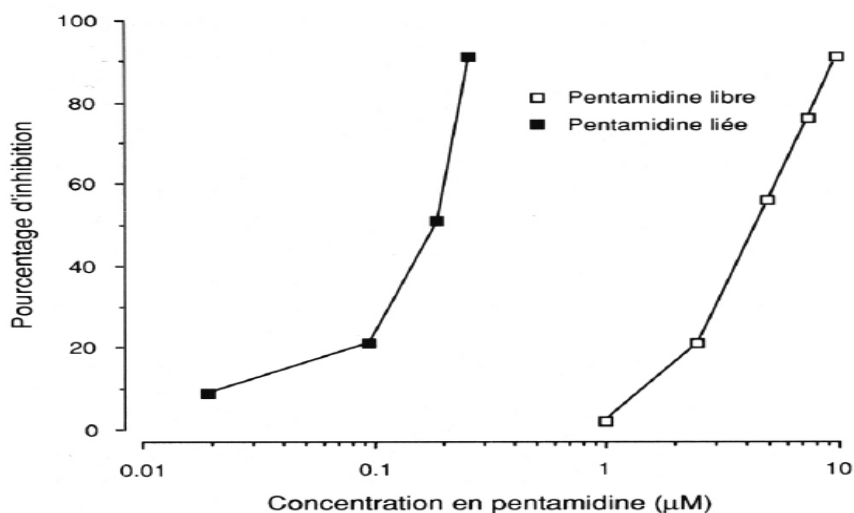


Figure 54: Activité leishmanicide in vitro de la pentamidine libre et vectorisée par des nanoparticules de méthacrylate vis-à-vis des amastigotes de *Leishmania major* dans des cellules U937 après 24 heures d'incubation.

IV.6 Maladies de la rétine

Les maladies de la rétine sont la première cause de cécité. Les possibilités de traitement sont limitées du fait de la difficulté d'accès à ce tissu, prolongement du système nerveux central tapissant l'intérieur du globe oculaire. Toute stratégie thérapeutique dans le domaine des maladies de la rétine doit comporter une méthode de délivrance de l'agent thérapeutique in situ. Les recherches portant sur les méthodes de délivrance des produits actifs sont de ce fait en plein essor. Elles sont au carrefour de la pharmacologie, de la pharmacotechnie, des biomatériaux, de l'ophtalmologie et de la biologie. Des dispositifs solides, biodégradables ou non, peuvent être implantés dans la cavité vitréenne et des polymères biodégradables peuvent y être injectés. Des méthodes non invasives comme l'iontophorèse ou le transport trans-scléral sont en cours de développement. Les premières applications de ces procédés ont récemment vu le jour en clinique humaine. L'intensification des recherches dans le domaine du transfert intraoculaire de médicaments indique que de véritables perspectives vont s'ouvrir pour le traitement des maladies rétiniennes[105].

IV.6.1 Nouvelles méthodes d'administration en développement

La recherche s'oriente vers deux voies: le développement de méthodes d'administration locales sans pénétration intraoculaire (figure 55), permettant la répétition (iontophorèse ou implantation intrasclérale) et les dispositifs intra-vitréens biodégradables.

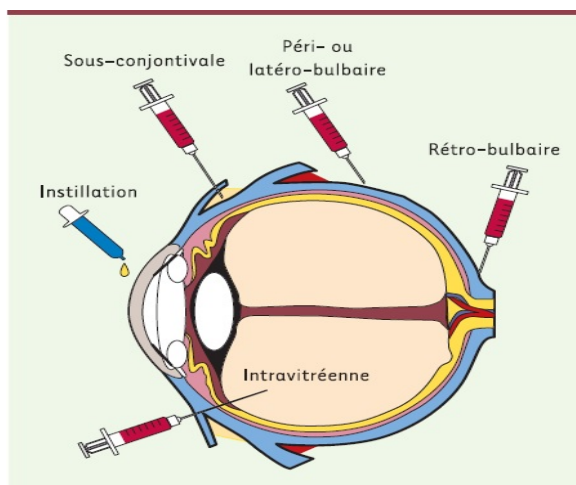


Figure 55: Voies d'administration oculaires des médicaments.

IV.6.2 Particularités et intérêts potentiels des systèmes colloïdaux

Les systèmes colloïdaux ont l'avantage de pouvoir être injectés avec des aiguilles fines, d'être biodégradables, et d'entraîner une gêne visuelle modérée.

- **Nanoparticules**

Les nanoparticules ont un diamètre inférieur à 1 μ m, en général de 10 à 500 nm. Elles sont constituées de PLA, PLGA, polycaprolactone, polycyanoacrylate d'alkyle (polycyanoacrylate d'éthyle) ou de polymères hydrophiles comme le chitosan, l'alginate de sodium ou la gélatine. L'intérêt théorique des nanoparticules est leur capacité d'internalisation intracellulaire. Des modifications chimiques de surface permettent d'optimiser leur ciblage cellulaire et de limiter leur élimination par le système réticulo-endothélial. Les nanoparticules sont des vecteurs potentiels de fragments nucléiques et de peptides qu'ils protègent de la dégradation enzymatique. Les nanoparticules ont essentiellement été utilisées pour augmenter la biodisponibilité de produits actifs instillés, dont les résultats étaient mitigés. Peu d'études

avaient rapporté l'administration de nanoparticules dans la cavité vitréenne, hormis pour l'encapsulation de ganciclovir dans du polycyanoacrylate d'éthyle. Des travaux récents ont montré qu'après une injection intravitréenne, des nanoparticules (< 400 nm) sont éliminées par voie transrétinienne et ciblent préférentiellement les cellules de l'épithélium pigmenté.

Les liposomes permettent de diminuer la toxicité rétinienne de certaines drogues (amphotéricine B) et de favoriser la biodisponibilité de composés hydrophobes (antiviraux, antibiotiques). Le ganciclovir sous forme de liposomes a été utilisé chez des patients sidéens. Des concentrations intra-vitréennes efficaces ont été mesurés jusqu'à 24 jours, sans aucune toxicité ni complication rétinienne. Les liposomes présentent également un intérêt pour l'apport de fragments géniques, protégés ainsi de l'activité intense des nucléases vitréennes. Après injection, les liposomes s'étalent sur la surface rétinienne et le principe actif diffuse sous forme libre dans les tissus oculaires. Leur élimination se ferait par voie antérieure avec une clairance d'autant plus lente que leur taille est importante. Les liposomes entraînent des opacités vitréennes brillantes responsables de flou visuel et gênant l'examen du fond d'oeil pendant plusieurs semaines[105].

IV.7 Maladies inflammatoires chroniques

- **Etudes in vitro**

Les chercheurs ont récemment montré in vitro que certains dendrimères peuvent interférer avec les cellules du système immunitaire au bénéfice d'une action anti-inflammatoire. En bref, ces molécules interagissent avec des cellules impliquées dans les phénomènes d'inflammation: les monocytes-macrophages, qui ont la particularité de se différencier en ostéoclastes, cellules géantes qui dégradent l'os.

Sur la base de ces premières recherches, les scientifiques ont exploré le potentiel thérapeutique de cette nouvelle famille de dendrimères dans le traitement de maladies inflammatoires chroniques telle que la polyarthrite rhumatoïde. Cette maladie auto-immune qui affecte environ 1% de la population se caractérise par l'inflammation de l'ensemble des tissus articulaires (cartilage mais aussi os et membrane synoviale) et conduit à des déformations articulaires invalidantes[106].

- **Chez l'animal**

Dans ce travail, les chercheurs ont utilisé deux modèles animaux qui miment les effets de la polyarthrite rhumatoïde humaine.

Dans un de ces deux modèles de souris, la maladie se développe spontanément après 4 semaines de vie. Dans l'autre, l'arthrite est induite par injection d'autoanticorps. Les symptômes sont présents chez 100% des animaux. Pour essayer de contrecarrer les effets de la maladie, les chercheurs ont injecté une fois par semaine, ces fameux dendrimères par voie intraveineuse. « Alors que chez les animaux non traités, le cartilage est complètement détruit, chez les souris traitées, le cartilage est préservé et les articulations sont intactes et parfaitement fonctionnelles. » déclare Rémy Poupot, l'un des chercheurs auteur de ce travail. « Il est important également de souligner que les doses administrées (de 1 à 10 mg/kg) sont compatibles avec les doses thérapeutiques chez l'homme. »

Pour élucider le(s) mécanisme(s) mis en jeu, les scientifiques ont quantifié le niveau de cytokine dans le sérum de tous les animaux. Les cytokines sont les substances secrétées par l'organisme. Certaines d'entre elles, les cytokines pro-inflammatoires, ont pour fonction de fortement stimuler la croissance et la prolifération des cellules du système immunitaire. Chez les animaux traités, le taux de cytokine redevient similaire à celui des animaux sains contrairement aux animaux malades non traités chez lesquels ce taux est beaucoup plus élevé[106].

- **Chez l'homme**

A l'heure actuelle, le traitement des maladies inflammatoires chroniques fait souvent appel aux anticorps monoclonaux thérapeutiques, notamment dans la polyarthrite rhumatoïde. Malheureusement, un tiers des patients ne répond pas à ces traitements qui, de plus, sont extrêmement coûteux (environ 15000 € / patient / an). En parallèle des recherches menées chez l'animal, les chercheurs ont d'ores et déjà testé, in vitro, l'efficacité thérapeutique des dendrimères sur des monocytes humains et des membranes synoviales de patients atteints de polyarthrite rhumatoïde. Dans ces dernières expériences, l'activité anti-ostéoclastique (qui bloque la formation des cellules de dégradation de l'os) est également démontrée. Les dendrimères constituent donc une piste prometteuse pour le développement de nouvelles thérapeutiques dans le traitement des maladies inflammatoires chroniques[106].

IV.8 Asthme

- **Un vaccin efficace par injection intramusculaire**

L'asthme est une maladie chronique inflammatoire et respiratoire causée par une réactivité anormale contre des allergènes de l'environnement. Parmi les nouvelles pistes actuellement en développement, la vaccination est l'une des approches prometteuses. Dans une publication à paraître dans la revue *Human Gene Therapy*, les chercheurs de l'Inserm et du CNRS (« Institut du thorax » CNRS/Inserm/Université de Nantes) décrivent un vaccin novateur contre un des allergènes les plus rencontrés chez les patients asthmatiques. L'administration directe du vaccin dans le muscle d'une souris asthmatique grâce à un nanovecteur réduit significativement l'hypersensibilité à l'allergène et la réponse inflammatoire associée[107].

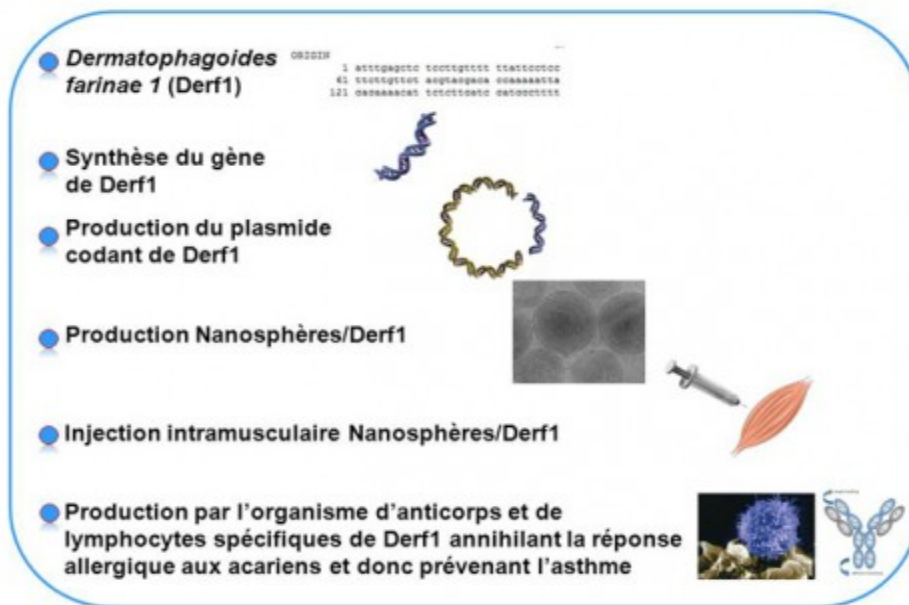


Figure 56: Schémas représentant le mécanisme d'action du vaccin novateur contre un des allergènes les plus rencontrés chez les patients asthmatiques.

L'asthme allergique est une maladie respiratoire chronique affectant 300 millions de personnes dans le monde. Le nombre d'individus asthmatiques a doublé ces dix dernières années et près de 250 000 personnes meurent prématurément chaque année en raison de cette affection. Dans la majorité des cas, l'asthme est causé par une réactivité anormale à des substances de l'environnement appelées allergènes. D'un point de vue physiologique, cette

hypersensibilité se traduit par une inflammation importante au niveau des bronches et des bronchioles des individus. Leur capacité à respirer correctement est alors altérée[107].

Le traitement actuel consiste à administrer des corticoïdes qui traitent les symptômes et suspendent temporairement la maladie sans toutefois la guérir. Un traitement alternatif et pérenne de l'asthme allergique est basé sur un protocole d'immunothérapie spécifique communément appelé « désensibilisation ». L'administration répétée de doses croissantes d'allergène vise à diminuer l'hypersensibilité et réduire les symptômes lors d'une exposition ultérieure. Néanmoins, l'efficacité de ce protocole reste limitée et très variable selon les patients.

Les chercheurs ont donc imaginé une technique de vaccination basée sur l'ADN de la substance allergisante. « Plutôt que d'administrer des extraits d'allergènes de manière répétée afin de diminuer la sensibilité, ils ont travaillé à partir de séquences d'ADN spécifiques (de l'allergène) responsables de l'allergie. Quelques études ont montré le potentiel thérapeutique de cette stratégie mais il fallait trouver des techniques s'assurant de la faisabilité chez l'homme », explique Bruno Pitard, Directeur de l'équipe Innovations en Biothérapie de l'Institut du thorax (CNRS/Inserm/Université de Nantes). Le passage à l'homme exige effectivement que le traitement soit efficace à partir d'une faible dose d'ADN injectée[107].

Les chercheurs ont d'abord cherché à prouver l'efficacité de cette vaccination à base d'ADN contre l'allergène spécifique, Derf1, dans un modèle animal pertinent mis au point par l'Equipe Pathologies Bronchiques et Allergies dirigée par Antoine Magnan (figure 56). En Europe, *Dermatophagoides farinae* 1 (Derf1) est en effet un allergène très commun véhiculé par l'acarien *Dermatophagoides farinae*. Plus de la moitié des patients allergiques aux acariens produisent des anticorps de type IgE spécifiques (Derf1) contre cette substance et caractéristiques de la maladie.

En pratique, les chercheurs ont associé les séquences génétiques d'intérêt de l'allergène (*Dermatophagoides farinae* 1) avec un nanovecteur constitué d'un polymère synthétique. Cette séquence d'ADN, transportée par une sorte de « taxi moléculaire » dans les cellules musculaires, assurant la synthèse protéique de l'allergène, a permis de moduler la réponse allergique aux acariens chez les animaux asthmatiques.

Le vaccin mis au point dans un modèle de souris saines a ensuite été optimisé dans un modèle de souris asthmatiques. Chez ces dernières il déclenche une fabrication d'anticorps spécifiques anti dermatophagoides farinae1 (Derf1) et une réponse cellulaire spécifique de *Derf1*, orientant ainsi le système immunitaire vers une réponse non allergisante, protectrice lorsque l'allergène est rencontré. Les deux injections nécessaires et administrées à 3 semaines d'intervalle ont réduit de manière significative l'hypersensibilité des voies aériennes et les niveaux de cytokines inflammatoires qui étaient en revanche présentes dans les poumons de souris asthmatiques non vaccinées. Ces nouveaux résultats valident tout le potentiel de ce nouveau nanovecteur pour la vaccination à ADN, et est en cours de développement préclinique réglementaire pour les futurs essais cliniques chez l'Homme[107].

V. Limites

De nombreuses interrogations existent concernant les risques de toxicité à court et long terme des NP, notamment inorganiques, ce qui pourrait retarder la translation des résultats des études précliniques chez l'animal pour les essais chez l'homme. En effet, les particules inorganiques intègrent souvent dans leur structure des dérivés de métaux lourds toxiques et ne sont pas biodégradables.

Le premier sujet de préoccupation est la similarité physique qui existe entre les NP humaines manufacturées (nanomédecine), les NP humaines « sales » (NP de diésel, smog, noir de carbone) et certaines NP naturelles minérales (fumée de volcan). Les composantes particulaires ultrafines de la pollution atmosphérique sont susceptibles d'avoir des effets néfastes sur la santé humaine (pathologie allergique respiratoire, troubles cardiovasculaires) et ces propriétés pourraient s'appliquer aux NP manufacturées[30].

La toxicité en cas de pénétration aérienne pourrait être proche de celles des fibres d'amiante, ce qui nécessiterait des précautions lors de la manipulation et pose des questions sur les risques encourus par les travailleurs des usines fabriquant ces NP. Des études de toxicité pulmonaire chez l'animal montrent qu'en cas d'inhalation de grandes quantités de NP, il s'ensuit une réaction à corps étranger avec inflammation de l'épithélium pulmonaire, prolifération cellulaire, granulomes multifocaux puis fibrose pulmonaire. Ces effets sont constatés essentiellement pour des NP comprises entre 10 et 100 nm (celles inférieures à dix et supérieures à 100 nm sont bloquées dans la trachée): le système mucociliaire et l'épuration macrophagique pulmonaire sont peu efficaces pour ces petites particules. Des études humaines chez des volontaires asthmatiques inhalant de très faibles quantités de CNT révèlent une accentuation de l'inflammation de l'épithélium pulmonaire, une hyperréactivité bronchique et une vasoconstriction pulmonaire et/ou systémique.

Une autre interrogation concerne la toxicité des QD qui sont constitués de métaux lourds toxiques pour l'homme, le cadmium étant par exemple un composé néphrotoxique. Le fait que le métal soit protégé par une couche de zinc et encapsulé dans une pellicule de polymère n'élimine pas le risque de lésion progressive des couches protectrices avec libération du métal lourd, risque proportionnel au caractère non biodégradable des QD. Une des solutions pour

éviter ces risques pourra être de remplacer les dérivés de métaux lourds des QD par des métaux moins toxiques (indium) ou de développer des QD tout organiques dont la couleur d'émission ne dépend pas de la taille mais de leur composition[30].

Il est cependant important de noter qu'à la différence de l'échelle micrométrique où la toxicité est liée à la composition chimique de l'objet, à l'échelle nanométrique la toxicité est liée à la surface de l'objet: à cause de leur très petite taille, les NP offrent une très grande surface de contact par unité de masse et sont beaucoup plus réactives que la même masse du même matériel composé de particules plus grosses. Les particules d'oxyde de titane de 250 nm de diamètre sont non toxiques et sont utilisées comme substance inerte de référence pour les études d'inhalation pulmonaire: le même matériel inhalé sous forme de NP de 20 nm entraîne une inflammation pulmonaire. Le carbone injecté par voie veineuse sous la forme de « ballons » de fullerènes (C 60, construction nanométrique d'atomes de carbone) a montré des effets mutagènes et tératogènes chez l'animal.

Les données concernant la biodistribution dans l'organisme, les sites potentiels d'accumulation, la persistance et la toxicité des NP sont peu précises ou manquantes, voire discordantes. La distribution d'une NP dépend de la voie de pénétration: par voie aérienne pulmonaire, l'inflammation pulmonaire peut être responsable d'un passage sanguin ; par voie aérienne, il a aussi été prouvé une accumulation cérébrale, les NP suivant le trajet du nerf olfactif; par voie sanguine, l'accumulation est essentiellement hépatique et splénique; par voie digestive, une distribution sanguine et lymphatique est possible. Les NP insolubles ou peu solubles peuvent franchir différentes barrières de protection des êtres vivants[30].

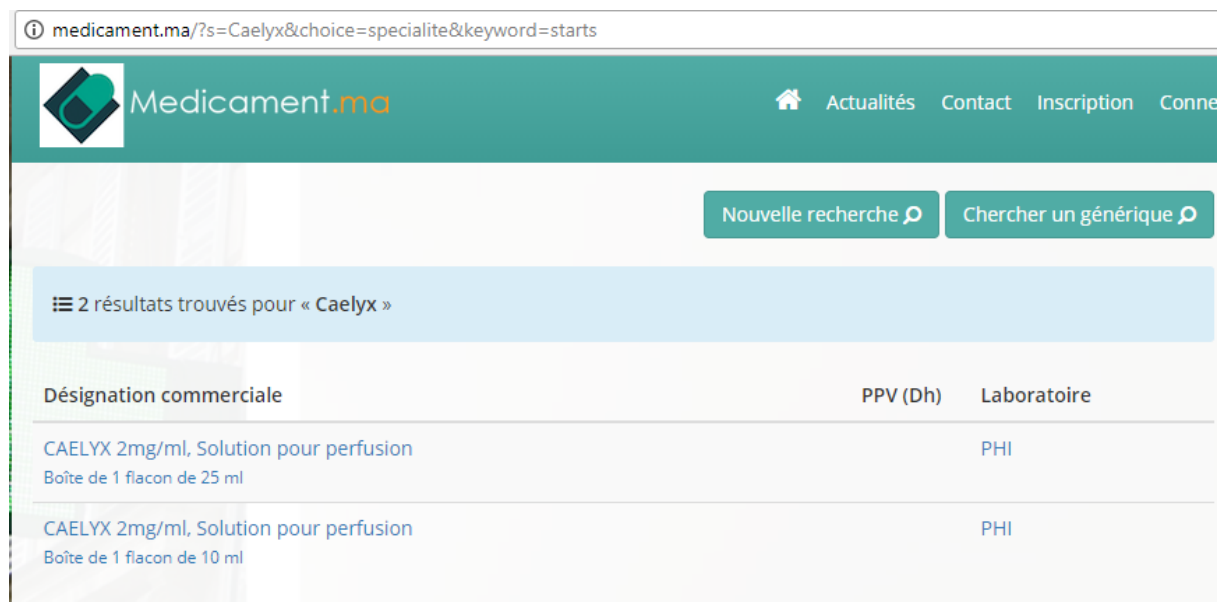
L'accumulation des NP est difficilement prévisible et doit faire l'objet d'études spécifiques au cas par cas. Le choix des espèces animales est important car il doit être prédictif. La persistance des NP dans l'organisme est augmentée car les systèmes d'élimination des corps étrangers sont moins efficaces, peu adaptés à la petite taille de ces objets et en raison de leurs propriétés physicochimiques de surface particulière. Pour les quantum dots (QD), si leur taille dépasse 5,5 nm, ils ne peuvent subir de filtration glomérulaire et leur élimination rénale est impossible. Une étude utilisant des quantum dots de 16 nm pour la détection du ganglion sentinelle (GS) axillaire chez la souris ne retrouvait pas d'excrétion urinaire ou fécale des QD

sur des prélèvements continus sur 48 heures, témoignant que les QD n'étaient pas éliminés de l'animal. Les auteurs suggèrent que les QD seront en grande partie éliminés par l'ablation chirurgicale du point d'injection et du GS. Le sort des quantum dots (QD) injectés par voie veineuse et bloqués dans le système réticulo-endothélial (SRE) n'est pas encore étudié, mais le SRE est susceptible de les rompre, libérant le métal lourd toxique ou de les stocker indéfiniment. Les études toxicologiques chimiques applicables à l'échelle microscopique ne peuvent servir de base pour évaluer le risque des NP et chaque nouvelle NP devra faire l'objet d'une étude toxicologique complète avant son utilisation chez l'homme, en sachant que ces études n'ont quasiment pas débuté chez l'animal. Le champ des recherches en toxicologie des NP est tellement vaste qu'il est organisé au niveau international. L'Organisation de coopération et de développement économique (OCDE) a sélectionné celles à étudier en priorité, notamment les plus préoccupantes car déjà produites par l'industrie, en fonction de leur quantité et de leur type d'utilisation[30].

VI. Médicaments à base des nanovecteurs commercialisés au Maroc

Caelyx®

Approuvés par la Food and Drug Administration américaine en tant que vecteurs pour adresser un principe actif.



The screenshot shows the website Medicament.ma with search results for 'Caelyx'. The page header includes the site logo and navigation links: 'Actualités', 'Contact', 'Inscription', and 'Connexion'. Below the header, there are two search buttons: 'Nouvelle recherche' and 'Chercher un générique'. A light blue banner indicates '2 résultats trouvés pour « Caelyx »'. Below this, a table lists the search results.

Désignation commerciale	PPV (Dh)	Laboratoire
CAELYX 2mg/ml, Solution pour perfusion Boîte de 1 flacon de 25 ml		PHI
CAELYX 2mg/ml, Solution pour perfusion Boîte de 1 flacon de 10 ml		PHI

Figure 57: CAELYX* nanomédicament commercialisé au Maroc[108].

- **Principe actif :**

Doxorubicine liposomale pégylée

- **Excipient**

MPEG-DSPE–Soja-Cholestérol-Ammonium sulfate-Saccharose-Histidine- Eau pour préparations injectables-Chlorhydrique acide (E507)- Sodium hydroxyde (E524).

- **Indications thérapeutiques**


Caelyx* est indiqué :

- En monothérapie chez les patients ayant un cancer du sein métastatique, avec un risque cardiaque augmenté.
- Dans le traitement d'un cancer ovarien à un stade avancé chez les femmes après l'échec d'une chimiothérapie de première intention à base de platine.
- En association avec le bortézomib pour le traitement du myélome multiple en progression chez les patients qui ont reçu au moins un traitement antérieur et qui ont déjà subi ou qui sont inéligibles pour une greffe de moelle osseuse.
- Dans le traitement du Sarcome de Kaposi (SK) associé au SIDA chez des patients ayant un faible taux de CD4 (< 200 lymphocytes CD4/mm³) et présentant des lésions cutanéomuqueuses ou viscérales étendues. Caelyx* peut être utilisé en tant que chimiothérapie systémique de première intention, ou comme chimiothérapie de seconde intention chez des patients présentant un sarcome de Kaposi associé au Sida dont la maladie a progressé malgré une chimiothérapie préalable, comprenant au moins deux des agents suivants: alcaloïdes de la pervenche, bléomycine et doxorubicine conventionnelle (ou autre anthracycline), ou chez des patients qui y furent intolérants[109].

GLIVEC*

L'imatinib, une molécule inhibitrice de protéine tyrosine kinase (TK) dont les globules blancs cancéreux ont besoin pour proliférer. Elle a multiplié par quatre l'espérance de vie des patients atteints de leucémie myéloïde chronique et s'est également montrée efficace dans la prise en charge de la leucémie aigüe lymphoblastique dès lors que les cellules tumorales sont porteuses d'une translocation BCR-ABL. L'indication de l'imatinib a depuis été étendue à d'autres types de cancer et actuellement, selon l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM) en France, les thérapies ciblées constituent « le domaine thérapeutique le plus actif en termes d'innovations thérapeutiques. Environ 90 % d'entre elles sont utilisées pour le traitement des cancers et elles représentent près de 80 % des AMM en cancérologie. Les thérapies ciblées sont donc particulièrement porteuses d'espairs pour les patients atteints de cancer et plusieurs d'entre elles ont obtenu une AMM au Maroc(figure 57)[110].

medicament.ma/?s=imatinib&choice=dc&keyword=starts


[Actualités](#) [Contact](#) [Inscription](#)

[Nouvelle recherche](#) [Chercher un générique](#)

5 résultats trouvés pour « imatinib »

Désignation commerciale	PPV (Dh)	Laboratoire
GLIVEC 100 mg, Comprimé Boîte de 60 comprimés pelliculés	11940.00	NOVARTIS PHARMA MAROC
GLIVEC 100 mg, Gélule Boîte de 120	20399.00	NOVARTIS PHARMA MAROC
Glivec 400 mg, Comprimé Boîte de 30 comprimés pelliculés	23131.00	NOVARTIS PHARMA MAROC

Figure 58: GLIVEC* nanomédicament commercialisé au Maroc[111].

Visudyne* « Vertéporfine liposomale »

La vertéporfine (figure 59) appartient à la classe des médicaments appelés agents photosensibilisants. Elle s'utilise pour soigner la forme « humide » de la dégénérescence maculaire liée à l'âge ou DMLA, la myopie pathologique (une grave forme de myopie), et l'histoplasmose oculaire présumée (une infection fongique de l'œil)[112].

Ces affections entraînent une baisse de la vision due à des dommages à la macula (la partie centrale de la rétine) causés par le développement de vaisseaux sanguins anormaux sous la macula, un phénomène désigné néovascularisation choroïdienne ou NVC. Du sang et des liquides suintent le long de ces vaisseaux et forment des lésions. La vertéporfine s'utilise pour traiter principalement la forme classique de NVC au cours de laquelle le suintement se transforme rapidement en épanchement. Lorsqu'elle est activée par la lumière, la vertéporfine détruit les vaisseaux sanguins anormaux qui prolifèrent dans la macula[113].



medicament.ma/?s=Visudyne&choice=specialite&keyword=starts

 Medicament.ma [Actualités](#) [Contact](#) [Inscription](#) [Connexion](#)

[Nouvelle recherche](#) [Chercher un générique](#)

☰ 1 résultats trouvés pour « Visudyne »

Désignation commerciale	PPV (Dh)	Laboratoire
VISUDYNE 15 mg, Poudre pour perfusion en flacon de 10 ml Boîte de 1	14700.00	NOVARTIS PHARMA MAROC

Figure 59: Visudyne* nanomédicament commercialisé au Maroc [114].

CONCLUSION

L'application de la nanoscience et de la nanotechnologie en médecine et plus particulièrement dans le domaine de la délivrance de médicaments devrait augmenter rapidement. Une vaste gamme de nanomatériaux et de nanostructures est en cours de développement pour l'administration de composés thérapeutiques. Les nanomatériaux, en tant que systèmes transporteurs de médicaments, sont fabriqués pour améliorer les propriétés thérapeutiques et pharmacologiques des médicaments conventionnels. La conjugaison / intégration de molécules bioactives au nanovecteur peut protéger la molécule médicamenteuse de la dégradation, ainsi que des possibilités de ciblage et de libération contrôlée du médicament. Comparés aux médicaments conventionnels, les nanovecteurs sont plus efficaces et sélectifs. En outre, les nanovecteurs peuvent réduire la toxicité et d'autres effets secondaires indésirables dans les cellules saines en accumulant les médicaments dans les tissus malades cibles et également réduire la dose de médicament requise. Il existe plusieurs nanomatériaux tels que des nanoparticules métalliques, des nanomatériaux polymériques, des dendrimères, des boîtes quantiques, qui sont en cours de développement en tant qu'agents thérapeutiques et sont en cours d'évaluation préclinique. Quelques médicaments nanomatériaux actuellement disponibles sur le marché pharmaceutique sont le Doxil^{*} (doxorubicine) ou le DaunoXome^{*} (daunorubicine). Chaque nanomatériau a ses propres avantages, mais à mesure que ces nanomatériaux deviennent optimisés pour leur application spécifique, le résultat sera une meilleure thérapie pour la livraison de molécules de médicaments aux sites cibles du corps. L'utilisation de matériel biocompatible, le contrôle amélioré de la taille des particules et une meilleure compréhension de l'interaction entre le nanomatériau et les cellules vivantes, ainsi que leurs effets dans des conditions *in vivo*, sont les paramètres importants pour le développement du système de libération de médicament. De véritables avancées thérapeutiques peuvent être réalisées exclusivement en menant des études minutieuses dans le domaine de la thérapie médicamenteuse. L'application de nanomatériaux dans la thérapie de maladie peut contribuer à réaliser un traitement efficace pour plusieurs maladies. En outre, la conjugaison de médicaments comme la doxorubicine et le miconazole, l'immobilisation de différents bioligands, tels que l'acide folique et le facteur de croissance épidermique / anticorps à la surface des nanomatériaux, améliore la sélectivité des transporteurs de médicaments. Ces nanovecteurs ont un brillant avenir dans la livraison de molécules

bioactives et la délivrance de médicaments nanométrique, ce qui entraînerait une amélioration concomitante des profils d'efficacité et de sécurité des médicaments conventionnels. Des informations limitées sont actuellement disponibles sur la toxicité possible de divers nanomatériaux et leur impact et risques éventuels sur l'environnement et la santé humaine. En outre, des informations suffisantes doivent être générées sur la sécurité et le devenir de ces nanomatériaux dans le corps humain, afin de permettre les évaluations biologiques rationnelles pour leur traduction en temps voulu dans les cliniques. Bien que de nombreux progrès aient été réalisés dans le domaine de la nanomédecine, certains de ces nouveaux développements font actuellement l'objet d'essais cliniques pour les autorisations réglementaires. Néanmoins, c'est le facteur temps qui décidera du rôle de ces nouveaux modèles passionnants dans la pratique régulière des soins de santé.

RÉSUMÉS

Résumé

Titre : Application des nanovecteurs dans le domaine de la santé

Auteur : HAMID SALHI

Mots clés : Nanoparticules ; Fabrication ; Ciblage thérapeutique ; Santé

L'orientation des molécules thérapeutiques vers l'organe, le tissu ou la cellule malade constitue aujourd'hui un défi majeur pour le traitement des maladies humaines, notamment infectieuses, cancéreuses ou d'origine génétique.

De nombreux principes actifs présentent des caractéristiques physico-chimiques (hydrophilie, poids moléculaires, etc) peu favorables au passage des barrières biologiques qui séparent le site d'administration du médicament de son site d'action. D'autres molécules actives se heurtent aussi à des barrières enzymatiques entraînant leur dégradation et métabolisation rapides. L'obtention de concentrations thérapeutiques au niveau du site d'action ne peut donc se faire qu'au détriment d'une importante déperdition du médicament vers d'autres tissus ou cellules, ce qui occasionne des effets toxiques importants et entraîne parfois l'abandon du traitement en dépit de son efficacité.

Le développement de nanotechnologie a pris un essor considérable au cours des dernières années par innovation des nanovecteurs (NV). Ces derniers sont des structures composées de quelques centaines à quelques milliers d'atomes. Du fait de leur taille (1 à 100 nanomètres), les propriétés physiques et chimiques de ces nano-objets sont différentes de celles des matériaux classiques. Leur champ de développement est extrêmement vaste et inclut la recherche médicale: on peut différencier deux grands groupes, les NV organiques (système micellaire, NP à base de polymères, nanotubes de carbone, fullerènes) et les NV inorganiques (quantum dots, NP d'oxyde de fer magnétique, sondes Raman). La polyvalence de ces NV est grande car elles peuvent être conçues et modélées pour servir de vecteurs de médicaments (thérapeutique), de sondes d'imagerie (diagnostique), capables à la fois de protéger la molécule active de la dégradation et d'en contrôler la libération dans le temps. Cependant, ces nanovecteurs présentent également quelques limitations.

Summary

Title : Application of nanocarriers in the field of health

Author : HAMID SALHI

Keywords : Nanoparticles; Manufacturing; Therapeutic targeting; Health

Addressing therapeutic molecules to a specific organ, tissue or diseased cell is today a major challenge for the treatment of human diseases, especially infectious, cancerous or of genetic origin.

Many active ingredients have physicochemical characteristics (hydrophilicity, molecular weight, etc.) that are not very favorable to the passage of biological barriers that separate the site of administration of the drug from its site of action. Other active molecules also come up against enzymatic barriers causing their rapid degradation and metabolization. Obtaining therapeutic concentrations at the site of action can therefore be done only to the detriment of a significant loss of the drug to other tissues or cells, which causes significant toxic effects and sometimes leads to the abandonment of the treatment despite its effectiveness.

The development of nanotechnology has taken a considerable step forward in recent years by nanocarriers (NC) innovation. Nanocarriers are structures comprising from some hundreds to some thousands atoms. Owing to their size (1 to 100 nanometres), the physical and chemical properties of these nano-objects differ from those of classical materials. They cover a wide development area, which includes medical research: they can be classified into two major groups, organic NC (liposomes, polymers NP, carbon nanotubes, fullerenes) and inorganic NC (quantum dots, magnetic NP, Raman probes). NC can be conceived to act as a drug delivery system (therapeutic), imaging probe (diagnostic). However, these nanocarriers also have some limitations, mainly their high contact surface causing reactivity with the tissues of the body.

ملخص

العنوان : استعمال الجسيمات الدقيقة في الميدان الصحي.

الكاتب : حميد صالح

الكلمات الرئيسية: جسيمات متناهية الصغر ؛ تصنيع ؛ العلاج الإستهدافي ؛ الصحة

توجيه الجسيمات العلاجية لعضو في الجسم والأنسجة أو في الخلية المريضة تشكل اليوم تحديا كبيرا لعلاج مجموعة من الأمراض خاصة المعدية ، السرطانية او ذات اصل جيني.

العديد من المكونات النشطة ، لها خصائص فيزيائية كيميائية التي ليست مواتية للمرور عبر الحواجز البيولوجية التي تفصل بين اخذ الدواء و موقع تأثيره في الجسم . جزيئات نشيطة اخرى تأتي ايضا ضد الحواجز الأنزيمية مما يسبب في انحطاط سريع لهذه الجسيمات . بالتالي فان الحصول على تركيزات علاجية في موقع التأثير يمكن أن يتم فقط على حساب خسارة كبيرة للدواء إلى أنسجة أو خلايا أخرى ؛ مما يسبب آثارا سامة كبيرة ويؤدي في بعض الأحيان إلى التخلي عنه في العلاج على الرغم من فعاليته.

ولكل هذه الأسباب مكن تطوير النانوتكنولوجيا من ابتكار جسيمات متناهية الصغر التي تتكون من بضع مئات إلى بضعة آلاف من الذرات . و بسبب حجمها (1 إلى 100 نانومتر) ، فإن الخصائص الفيزيائية والكيميائية لهذه الأجسام الدقيقة تختلف عن تلك الموجودة في المواد التقليدية . مجال تطويرها واسع للغاية ويشمل البحوث الطبية : يمكن تمييز مجموعتين كبيرتين، جسيمات متناهية الصغر عضوية (جسيم شمعي، توليف البوليمرات و انابيب كربونية دقيقة) وجسيمات غير عضوية (جسيمات اوكسيد الحديد المغناطيسي على سبيل المثال) . لهذه الجسيمات الصغيرة أهمية كبيرة لأنها يمكن ان تستعمل في أنظمة توجيه الجسيمات النشيطة و في حماية الأدوية من الإنحطاط ومراقبة مثلى لتوزيعه داخل الأنسجة بالإضافة الى تشخيص الأمراض ؛ ومع ذلك فإن للجسيمات الدقيقة بعض القيود.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Zecheru, T., New biopolymers with possible use in dentistry and orthopaedics. 2008, Université d'Angers.
2. Folkman, J. and D.M. Long, The use of silicone rubber as a carrier for prolonged drug therapy. *Journal of Surgical Research*, 1964. 4(3): p. 139-142.
3. Hoffman, A.S., The origins and evolution of “controlled” drug delivery systems. *Journal of Controlled Release*, 2008. 132(3): p. 153-163.
4. Hung, O., Drug transformation: Advances in drug delivery systems. *Canadian Journal of Anesthesia/Journal canadien d'anesthésie*, 2006. 53(11): p. 1074-1077.
5. J. Khandare, R.H., principles, structures, and applications of pharmaceutical delivery systems. M. Schäfer-Korting (ed.), *Drug Delivery, Handbook of Experimental Pharmacology*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 197. 2010 p. 221-250.
6. Allen, T.M. and P.R. Cullis, Drug delivery systems: entering the mainstream. *Science*, 2004. 303(5665): p. 1818-1822.
7. Laroui, H., Nanosphères polymères à couverture de hyaluronate pour la délivrance ciblée de molécules actives dans le traitement des affections du cartilage. 2007, Nancy 1.
8. Couvreur, P., Les nanotechnologies pour la conception de nouveaux médicaments. *Biologie Aujourd'hui*, 7 Février 2012. 206: p. 237-248.
9. <http://liposometpe.wixsite.com/liposome/blank-t8kd4> Accessed : 13/01/2018.
10. Le Cerf, D., Systèmes polymères stimuli sensibles. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 2014. 72(6): p. 389-399.
11. Licciardi, M., et al., Polymeric Nanocarriers for Magnetic Targeted Drug Delivery: Preparation, Characterization, and in Vitro and in Vivo Evaluation. *Molecular Pharmaceutics*, 2013. 10(12): p. 4397-4407.
12. Zhao, Y., Light-Responsive Block Copolymer Micelles. *Macromolecules*, 2012. 45(9): p. 3647-3657.
13. Cabane, E., V. Malinova, and W. Meier, Synthesis of Photocleavable Amphiphilic Block Copolymers: Toward the Design of Photosensitive Nanocarriers. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 2010. 211(17): p. 1847-1856.
14. Vaupel P, K.F.O.P., Blood Flow, Oxygen and Nutrient Supply, and Metabolic Microenvironment of Human Tumors. 1989: p. 6449-65.
15. FRICIU, M.M., Nouvelles formes pharmaceutique de la mésalamine. MARS 2013.

16. Takeuchi, H., et al., Effectiveness of submicron-sized, chitosan-coated liposomes in oral administration of peptide drugs. *International Journal of Pharmaceutics*, 2005. 303(1): p. 160-170.
17. Anne Wawrezinieck, J.-M.P., Patrick Wüthrich et Jean-Pierre Benoit, Biodisponibilité et vecteurs particuliers pour la voie orale. *Med Sci (Paris)*, Juin-Juillet 2008. 24: p. 659-664.
18. Jung, T., et al., Biodegradable nanoparticles for oral delivery of peptides: is there a role for polymers to affect mucosal uptake? *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2000. 50(1): p. 147-160.
19. <http://www.cnrs.fr/cw/dossiers/dosnano/glossaire/mot/vectorisationPlus.htm>, Le centre national de la recherche scientifique. Accessed: 15/09/17.
20. <https://medecine.savoir.fr/l-encapsulation-des-medicaments/> Accés le 14/01/2018.
21. Gerweck, L.E. and K. Seetharaman, Cellular pH Gradient in Tumor & versus & Normal Tissue: Potential Exploitation for the Treatment of Cancer. *Cancer Research*, 1996. 56(6): p. 1194.
22. Egeblad, M. and Z. Werb, New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression. *Nature Reviews Cancer*, 2002. 2: p. 161.
23. Lee, E.S., et al., Tumor pH-responsive flower-like micelles of poly(l-lactic acid)-b-poly(ethylene glycol)-b-poly(l-histidine). *Journal of Controlled Release*, 2007. 123(1): p. 19-26.
24. Cerritelli, S., D. Velluto, and J.A. Hubbell, PEG-SS-PPS: Reduction-Sensitive Disulfide Block Copolymer Vesicles for Intracellular Drug Delivery. *Biomacromolecules*, 2007. 8(6): p. 1966-1972.
25. Koo, O.M., I. Rubinstein, and H. Onyuksel, Role of nanotechnology in targeted drug delivery and imaging: a concise review. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 2005. 1(3): p. 193-212.
26. Allen, T.M. and P.R. Cullis, Drug Delivery Systems: Entering the Mainstream. *Science*, 2004. 303(5665): p. 1818.
27. Couvreur, P., et al., Nanocapsules: A new type of lysosomotropic carrier. *FEBS Letters*, 1977. 84(2): p. 323-326.
28. Bangham, A.D., M.M. Standish, and G. Weissmann, The action of steroids and streptolysin S on the permeability of phospholipid structures to cations. *Journal of Molecular Biology*, 1965. 13(1): p. 253-288.
29. Steichen, S.D., M. Caldorera-Moore, and N.A. Peppas, A review of current nanoparticle and targeting moieties for the delivery of cancer therapeutics. *Eur J Pharm Sci*, 2013. 48(3): p. 416-27.

30. Chuto, G. and P. Chaumet-Riffaud, Les nanoparticules. Médecine Nucléaire, 2010. 34(6): p. 370-376.
31. ISO/TS 27687:2008. Nanotechnologies - Terminology and definitions for nano-objects —Nanoparticle, n.a.n., <https://www.iso.org/standard/44278.html> Accessed: 27/09/2017.
32. 2011/696/UE., Recommandations de la commission relative à la définition des nanomatériaux . Journal officiel de l'Union européenne. 20.10.2011.L 275/38 :1-3. du 18 octobre 2011.
33. Mora-Huertas, C.E., H. Fessi, and A. Elaissari, Polymer-based nanocapsules for drug delivery. International Journal of Pharmaceutics, 2010. 385(1): p. 113-142.
34. Sakurai, E., et al., Effect of Particle Size of Polymeric Nanospheres on Intravitreal Kinetics. Ophthalmic Research, 2001. 33(1): p. 31-36.
35. Boas U, H.P., Dendrimers in drug research. CHem Soc Rev. 33:43-63. 2004.
36. Nair, L.S. and C.T. Laurencin, Biodegradable polymers as biomaterials. Progress in Polymer Science, 2007. 32(8): p. 762-798.
37. Couvreur, P., et al., Polycyanoacrylate nanocapsules as potential lysosomotropic carriers: preparation, morphological and sorptive properties. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 1979. 31(1): p. 331-332.
38. Garcia-Garcia, E., et al., Colloidal carriers and blood–brain barrier (BBB) translocation: A way to deliver drugs to the brain? International Journal of Pharmaceutics, 2005. 298(2): p. 274-292.
39. Vauthier, C., et al., Poly(alkylcyanoacrylates) as biodegradable materials for biomedical applications. Advanced Drug Delivery Reviews, 2003. 55(4): p. 519-548.
40. Choi, K.Y., et al., Self-assembled hyaluronic acid nanoparticles for active tumor targeting. Biomaterials, 2010. 31(1): p. 106-114.
41. Rinaudo, M., Chitin and chitosan: Properties and applications. Progress in Polymer Science, 2006. 31(7): p. 603-632.
42. Mitra, S., et al., Tumour targeted delivery of encapsulated dextran–doxorubicin conjugate using chitosan nanoparticles as carrier. Journal of Controlled Release, 2001. 74(1): p. 317-323.
43. Kim, J.-H., et al., Hydrophobically modified glycol chitosan nanoparticles as carriers for paclitaxel. Journal of Controlled Release, 2006. 111(1): p. 228-234.
44. Danhier, F., et al., PLGA-based nanoparticles: An overview of biomedical applications. Journal of Controlled Release, 2012. 161(2): p. 505-522.

45. Farré, M., et al., First determination of C60 and C70 fullerenes and N-methylfulleropyrrolidine C60 on the suspended material of wastewater effluents by liquid chromatography hybrid quadrupole linear ion trap tandem mass spectrometry. *Journal of Hydrology*, 2010. 383(1): p. 44-51.
46. Ogier, J., Evaluation of nanorings as vectors for drug delivery. 2008, Université Paris Sud - Paris XI.
47. Yezhelyev, M.V., et al., Emerging use of nanoparticles in diagnosis and treatment of breast cancer. *The Lancet Oncology*, 2006. 7(8): p. 657-667.
48. Smith, A.M., et al., Bioconjugated quantum dots for in vivo molecular and cellular imaging. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2008. 60(11): p. 1226-1240.
49. Debbage, P. and W. Jaschke, Molecular imaging with nanoparticles: giant roles for dwarf actors. *Histochemistry and Cell Biology*, 2008. 130(5): p. 845-875.
50. Couvreur, M.P., Les nanomedicaments http://www.college-de-france.fr/media/patrick-couvreur/UPL66429_Couvreur.pdf. 30 mai 2010.
51. Möschwitzer, J.P., Drug nanocrystals in the commercial pharmaceutical development process. *International Journal of Pharmaceutics*, 2013. 453(1): p. 142-156.
52. W.Cao, Synthesis of Nanomaterials by High Energy Ball Milling <http://www.understandingnano.com/nanomaterial-synthesis-ball-milling.html> Accessed: 04/10/2017.
53. Merisko-Liversidge, E. and G.G. Liversidge, Nanosizing for oral and parenteral drug delivery: A perspective on formulating poorly-water soluble compounds using wet media milling technology. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2011. 63(6): p. 427-440.
54. Date, A.A. and V.B. Patravale, Current strategies for engineering drug nanoparticles. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 2004. 9(3): p. 222-235.
55. Patravale, V.B., A.A. Date, and R.M. Kulkarni, Nanosuspensions: a promising drug delivery strategy. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2004. 56(7): p. 827-840.
56. homogenisation, H.p., http://www.foodtech-portal.eu/index.php?title=High_pressure_homogenisation. Food Tech Innovation Portal, Accessed: 23-Oct-2017.
57. Keck, C.M. and R.H. Müller, Drug nanocrystals of poorly soluble drugs produced by high pressure homogenisation. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2006. 62(1): p. 3-16.
58. Qian, C. and D.J. McClements, Formation of nanoemulsions stabilized by model food-grade emulsifiers using high-pressure homogenization: Factors affecting particle size. *Food Hydrocolloids*, 2011. 25(5): p. 1000-1008.

59. sebastien, R., Homogénéisation a haute pression des dispersions alimentaires liquides <http://prodinra.inra.fr/ft?id=CEDBF63D-AD64-434A-BFDA-EFC3D56C6758> Accessed: 05/10/2017. May,22, 2014.
60. Jafari, S.M., Y. He, and B. Bhandari, Optimization of nano-emulsions production by microfluidization. *European Food Research and Technology*, 2007. 225(5): p. 733-741.
61. Matteucci, M.E., et al., Drug Nanoparticles by Antisolvent Precipitation: Mixing Energy versus Surfactant Stabilization. *Langmuir*, 2006. 22(21): p. 8951-8959.
62. Chan, H.-K. and P.C.L. Kwok, Production methods for nanodrug particles using the bottom-up approach. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2011. 63(6): p. 406-416.
63. Chen, J.-F., et al., Feasibility of preparing nanodrugs by high-gravity reactive precipitation. *International Journal of Pharmaceutics*, 2004. 269(1): p. 267-274.
64. Hu, T.-T., et al., Engineering of drug nanoparticles by HGCP for pharmaceutical applications. *Particuology*, 2008. 6(4): p. 239-251.
65. Zhu, Z., Flash Nanoprecipitation: Prediction and Enhancement of Particle Stability via Drug Structure. *Molecular pharmaceutics*, 2014. 11(3): p. 776-786.
66. Chiou, H., et al., Evaluation on the Use of Confined Liquid Impinging Jets for the Synthesis of Nanodrug Particles. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 2008. 34(1): p. 59-64.
67. Shen, H., et al., Self-assembling process of flash nanoprecipitation in a multi-inlet vortex mixer to produce drug-loaded polymeric nanoparticles. *Journal of Nanoparticle Research*, 2011. 13(9): p. 4109-4120.
68. Liu, Y., et al., Mixing in a multi-inlet vortex mixer (MIVM) for flash nano-precipitation. *Chemical Engineering Science*, 2008. 63(11): p. 2829-2842.
69. Luque de Castro, M.D. and F. Priego-Capote, Ultrasound-assisted crystallization (sonocrystallization). *Ultrasonics Sonochemistry*, 2007. 14(6): p. 717-724.
70. Li, X., et al., Nanoparticles by spray drying using innovative new technology: The Büchi Nano Spray Dryer B-90. *Journal of Controlled Release*, 2010. 147(2): p. 304-310.
71. Freitas, C. and R.H. Müller, Spray-drying of solid lipid nanoparticles (SLNTM). *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 1998. 46(2): p. 145-151.
72. Eerikäinen, H., et al., Aerosol flow reactor method for synthesis of drug nanoparticles. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2003. 55(3): p. 357-360.

73. Vauthier, C., Methods for the Preparation of Nanoparticles by Polymerization, in Polymer Nanoparticles for Nanomedicines: A Guide for their Design, Preparation and Development, C. Vauthier and G. Ponchel, Editors. 2016, Springer International Publishing: Cham. p. 123-157.
74. Asua, J.M., Miniemulsion polymerization. Progress in Polymer Science, 2002. 27(7): p. 1283-1346.
75. Rao, J.P. and K.E. Geckeler, Polymer nanoparticles: Preparation techniques and size-control parameters. Progress in Polymer Science, 2011. 36(7): p. 887-913.
76. de Waard, H., H.W. Frijlink, and W.L.J. Hinrichs, Bottom-Up Preparation Techniques for Nanocrystals of Lipophilic Drugs. Pharmaceutical Research, 2011. 28(5): p. 1220-1223.
77. Bonnemain, B., Nanoparticules : le point de vue d'un industriel. Applications en imagerie diagnostique. Annales Pharmaceutiques Françaises, 2008. 66(5): p. 263-267.
78. Saini, S., et al., Ferrite particles: a superparamagnetic MR contrast agent for the reticuloendothelial system. Radiology, 1987. 162(1): p. 211-216.
79. medicine, A.d.n.a.l., <https://www.etp-nanomedicine.eu/public/press-documents/publications/public-documents/bionest-partners-2014-nanomedicine-study-leem/Rapport%20final%20version%20definitive.pdf>. Décembre 2013.
80. Birmingham, A., New Strategies for Oral Immunization. March 21–22, 1988.
81. Handke, N., Elaboration de nanoparticules de poly (acide lactique) multifonctionnelles comme adjuvants potentiels de vaccination. 2011.
82. Maître, M.L., Les nanoparticules en cosmétologie. Dermato Mag, 2014. 2: p. 61-62.
83. http://www.nanobiotix.com/_fr/nanoxray-products/ Accessed : 20/01/2018.
84. Couvreur, P., Les nanomédicaments :une approche intelegente pour le traitement des maladies sévères. 2010: p. 105
85. Peracchia, M.T., et al., Stealth® PEGylated polycyanoacrylate nanoparticles for intravenous administration and splenic targeting. Journal of Controlled Release, 1999. 60(1): p. 121-128.
86. Couvreur, P., Les nanotechnologies pour la conception de nouveaux médicaments. Biologie Aujourd'hui, 2012: p. 237 - 248.
87. de Martimprey, H., et al., siRNA nanoformulation against the Ret/PTC1 junction oncogene is efficient in an in vivo model of papillary thyroid carcinoma. Nucleic Acids Research, 2008. 36(1): p. e2-e2.
88. Reddy, L.H., et al., Squalenylation Favorably Modifies the in Vivo Pharmacokinetics and Biodistribution of Gemcitabine in Mice. Drug Metabolism and Disposition, 2008. 36(8): p. 1570.

89. Reddy, L.H., et al., Anticancer Efficacy of Squalenoyl Gemcitabine Nanomedicine on 60 Human Tumor Cell Panel and on Experimental Tumor. *Molecular Pharmaceutics*, 2009. 6(5): p. 1526-1535.
90. Ietourneur, D., NanoAthero : la nanomédecine pour traiter les maladies cardiovasculaires <http://presse.inserm.fr/nanoathero-la-nanomedecine-pour-traiter-les-maladies-cardiovasculaires/7028/> Accés le 20/10/2017. INSERM (SALLE DE PRESSE), Accessed: 27 FÉVR. 2013
91. Ruellan, A., Utilisation de nanoparticules d'oxyde de fer comme nouveau traitement potentiel pour l'athérosclérose (Mémoire de maîtrise, École Polytechnique de Montréal. 2015.
92. Cheraghi, M., et al., Heart targeted nanoliposomal/nanoparticles drug delivery: An updated review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2017. 86: p. 316-323.
93. Reix, N., et al., L'insuline par voie orale : promesses et réalités. *Médecine des Maladies Métaboliques*, 2012. 6(5): p. 403-408.
94. Firth, R.G., P.M. Bell, and R.A. Rizza, Effects of Tolazamide and Exogenous Insulin on Insulin Action in Patients with Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. *New England Journal of Medicine*, 1986. 314(20): p. 1280-1286.
95. Frere, Y., L. Danicher, and A. Belcourt, Vecteur pour administration par voie orale. 2004, Google Patents.
96. Florence, A.T., et al., Factors Affecting the Oral Uptake and Translocation of Polystyrene Nanoparticles: Histological and Analytical Evidence. *Journal of Drug Targeting*, 1995. 3(1): p. 65-70.
97. Lutz, H. and J. Yves, Oral Insulin and Buccal Insulin: A Critical Reappraisal. *Journal of Diabetes Science and Technology*, 2009. 3(3): p. 568-584.
98. Couvreur, K.A.e.P., Nanoparticules pour la délivrance cérébrale de principes actifs ou d'agents de contraste. Application à la maladie d'Alzheimer. *Biologie Aujourd'hui*, 2012.
99. Lemaoui, C.E., et al., Stratégies actuelles de lutte contre la résistance aux antibiotiques. *Journal des Anti-infectieux*, 2017. 19(1): p. 12-19.
100. TALANTIKIT, M., Effet antibactériens des nanoparticules de cuivre, oxyde de cuivre et oxyde de fer. https://publications.polymtl.ca/1608/1/2014_MyriamTalantikit.pdf. DÉCEMBRE 2014.
101. Ping, G., et al., Preparation and antibacterial activity of Fe₃O₄@Ag nanoparticles. *Nanotechnology*, 2007. 18(28): p. 285604.
102. Hetrick, E.M., et al., Bactericidal efficacy of nitric oxide-releasing silica nanoparticles. *ACS Nano*, 2008. 2(2): p. 235-46.

103. Marslin, G., et al., PEGylated ofloxacin nanoparticles render strong antibacterial activity against many clinically important human pathogens. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2015. 132: p. 62-70.
104. Deniau, M., et al., Étude in vitro de médicaments leishmanicides vectorisés. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1993. 68(1): p. 34-37.
105. Behar-Cohen, F., Vectorisation intra-oculaire. *M/S : médecine sciences*, 2004. 20(6-7): p. 701-706.
106. Poupot, R., Les dendrimères : un remède aux maladies inflammatoires chroniques INSERM (SALLE DE PRESSE) 05 MAI 2011.
107. Pitard, B., Asthme : un vaccin efficace par injection intramusculaire. INSERM (SALLE DE PRESSE) 02 AVRIL 2012.
108. <http://medicament.ma/?s=Caelyx&choice=specialite&keyword=starts>, Accessed: 19-11-17.
109. <http://sante.lefigaro.fr/medicaments/5632615-caelyx-2mg-ml-sol-perf-25ml-1>, Accessed : 19/11/2017.
110. cancer, t.c.e., <http://www.doctinews.com/index.php/fondamentaux/item/2925-th%C3%A9rapies-cibl%C3%A9es-et-cancer>. Accessed: 19-11-17.
111. <http://medicament.ma/?s=imatinib&choice=dc&keyword=starts>, Accessed: 19-11-17.
112. M.Grumezescu, E.A.A., *Nanostructures for Drug Delivery*. 2017.
113. <http://sante.canoe.ca/drug/getdrug/visudyne>, Accessed: 20-11-17.
114. <http://medicament.ma/?s=Visudyne&choice=specialite&keyword=starts>, Accessed : 20-11-17.



Serment de Galien

- Je jure en présence des maîtres de cette faculté :
- D'honorer ceux qui m'ont instruite dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.
- D'exercer ma profession avec conscience, dans l'intérêt de la santé publique, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.
- D'être fidèle dans l'exercice de la pharmacie à la législation en vigueur, aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.
- De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession, de ne jamais consentir à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.
- Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses, que je sois méprisée de mes confrères si je manquais à mes engagements.



قسم الصيدلي

بسم الله الرحمن الرحيم

أقسم بالله العظيم

- ◀ أن أراقب الله في مهنتي
- ◀ أن أبجل أساتذتي الذين تعلمت على أيديهم مبادئ مهنتي وأعترف لهم بالجميل وأبقى دوما وفيما لتعاليمهم.
- ◀ أن أزاول مهنتي بوازع من ضميري لما فيه صالح الصحة العمومية، وأن لا أقصر أبدا في مسؤوليتي وواجباتي تجاه المريض وكرامته الإنسانية.
- ◀ أن ألتزم أثناء ممارستي للصيدلة بالقوانين المعمول بها وبأداب السلوك والشرف، وكذا بالاستقامة والترفع.
- ◀ أن لا أفشي الأسرار التي قد تعهد إلى أو التي قد أطلع عليها أثناء القيام بمهامي، وأن لا أوافق على استعمال معلوماتي لإفساد الأخلاق أو تشجيع الأعمال الإجرامية.
- ◀ لأحضى بتقدير الناس إن أنا تقيدت بعهودي، أو أحتقر من طرف زملائي إن أنا لم أف بالتزاماتي.

والله علمي ما أقول شهيدا

جامعة محمد الخامس - الرباط
كلية الطب والصيدلة بالرباط

أطروحة رقم: 26

سنة : 2018

استعمال الجسيمات الدقيقة في الميدان الصحي

أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم :

من طرفه

السيد: حميد صالح

المولد في: 11 أبريل 1992 بتزيت

لنيل شهادة الدكتوراه في الصيدلة

الكلمات الأساسية: جسيمات متناهية الصغر - تصنيع - العلاج الاستهدافي - الصحة.

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيسة

السيدة: سعيدة طلال

مشرف

أستاذة في الكيمياء الحيوية

السيد: عبد القادر لعثيريس

أستاذ في الصيدلة الغالبية

أعضاء

السيد: ياسين سخسوخ

أستاذ في علم الأحياء الدقيقة

السيد: جواد الحارثي

أستاذ في الكيمياء العلاجية