

Nanotechnologies et santé

Karine Andrieux

Université Paris Descartes, France
karine.andrieux@parisdescartes.fr

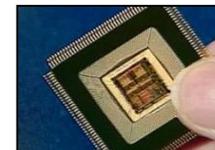
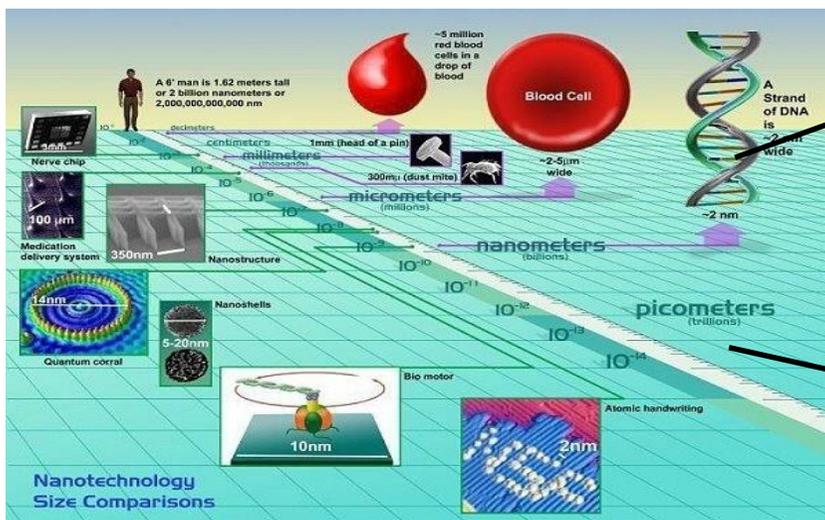
Applications des Nanoparticules



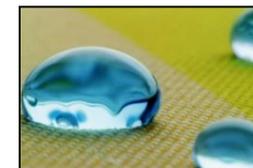
Cosmétique



Energie



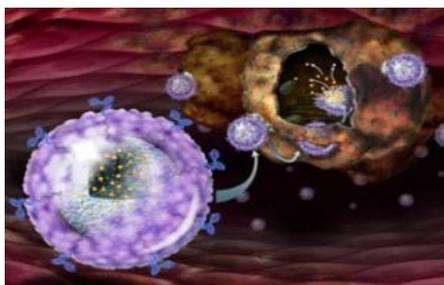
Informatique



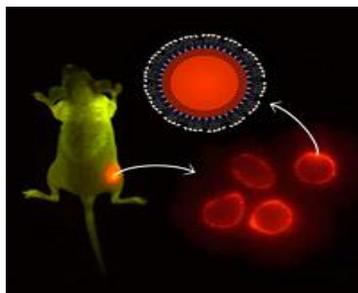
Textiles

Nanomédecine: la surveillance, la réparation, la construction et le contrôle de systèmes biologiques humains au niveau moléculaire en utilisant des systèmes nanométriques

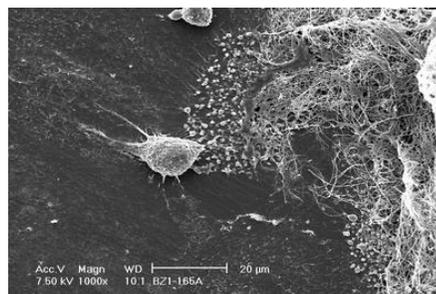
Applications



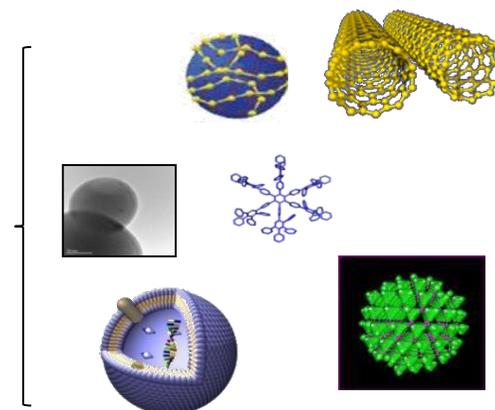
Vectorisation de principes actifs



Diagnostic



Réparation tissulaire



Problématique

Molécule thérapeutique idéale

- Molécule amphiphile pour être solubilisée et franchir membrane
- Localisée directement et spécifiquement au niveau de sa cible thérapeutique
- Excellente activité thérapeutique
- Peu ou pas d'effets secondaires

Problématique

Molécule thérapeutique le plus souvent...

- Trop hydrophobe (pas solubilisée dans fluide biologique) ou trop hydrophile (ne passe pas membrane)
- Mauvaise distribution => Faible accumulation au niveau de la cible
- Toxicité au niveau des tissus sains
- Métabolisation et/ou élimination rapide
- Faible stabilité à la conservation

Vectorisation

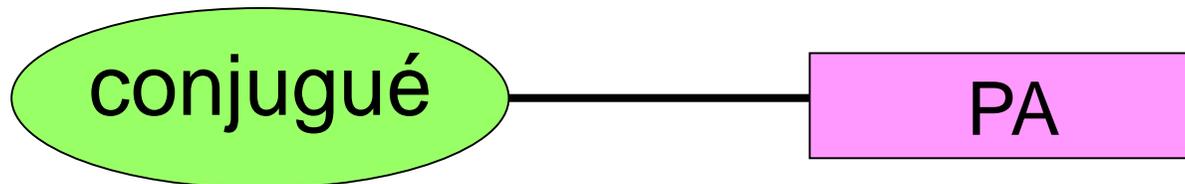
- **Définition** : La vectorisation est une opération qui consiste à **moduler** et si possible totalement **contrôler** la **distribution** d'un principe actif en l'associant à un vecteur.
- **Principes actifs concernés** :
 - $\frac{1}{2}$ vie plasmatique faible
 - Principe actif mal distribué
 - Principe actif toxique vis à vis de certains tissus
 - Faible pénétration intracellulaire
 - Mauvaise distribution subcellulaire

Deux types de vectorisation

- **Vectorisation moléculaire**

- Conception par la chimie

- => Fabrication de prodrogue avec conjugué = ligand de ciblage** (qui dirige vers cible thérapeutique, ex : anticorps)

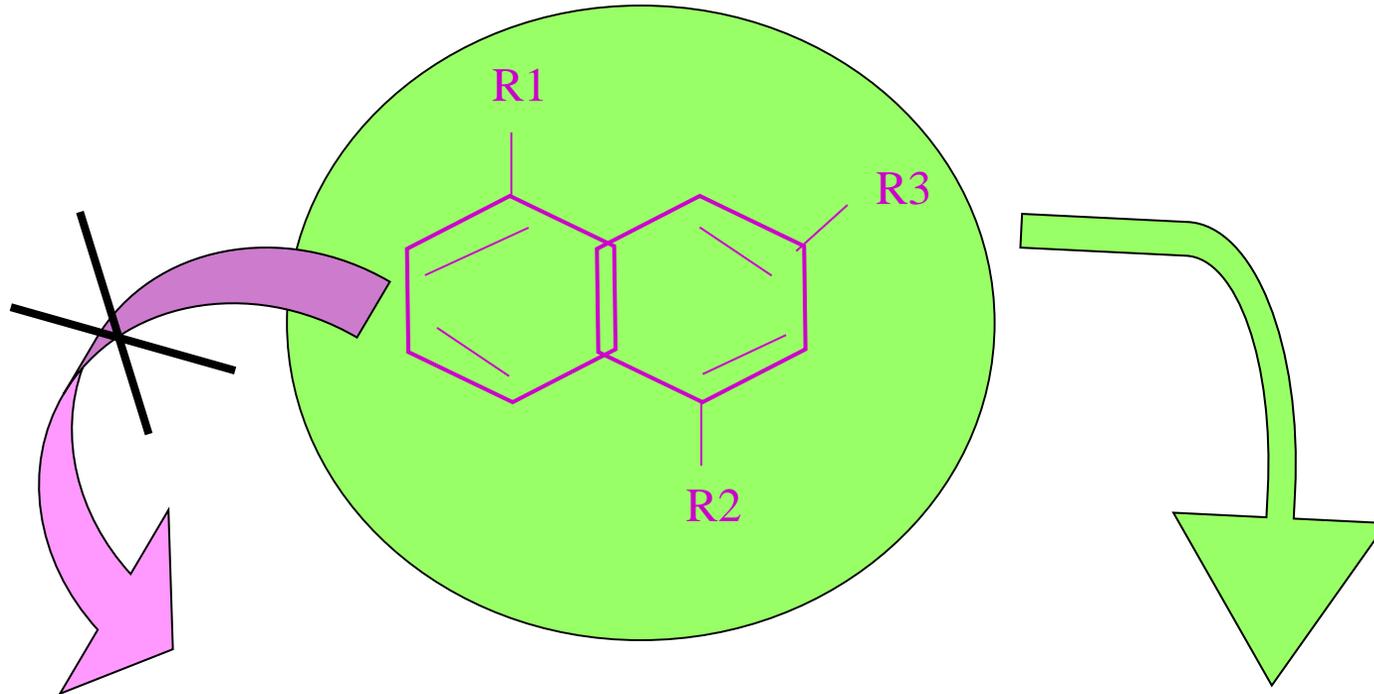


- **Vectorisation particulaire**

- Conception par la Pharmacie galénique

- => Encapsulation du PA dans une particule d'excipients = vecteur (véhicule de PA)**

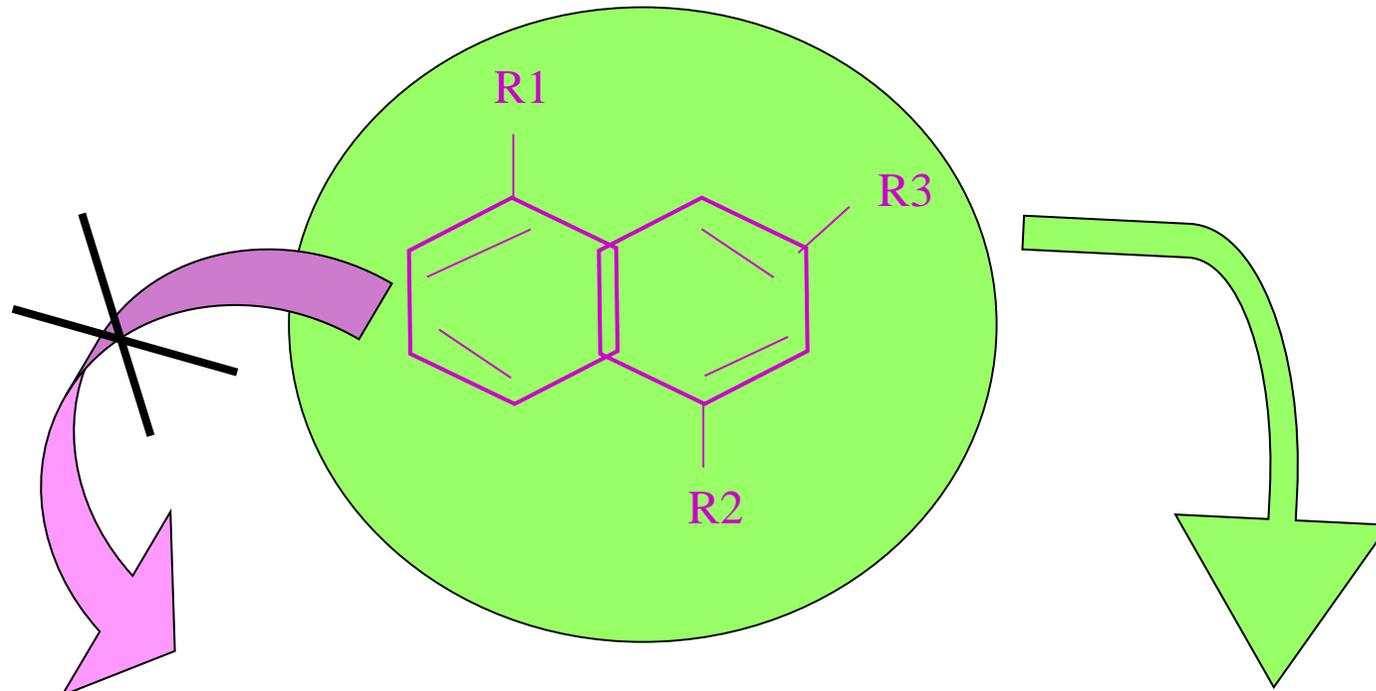
Principe de la vectorisation particulière



pKa
Lipophilie
Fixation aux protéines → **Distribution**
Elimination

Taille
Lipophilie
Charge → **Distribution**
Stabilité **Elimination**

Intérêt de la vectorisation particulière



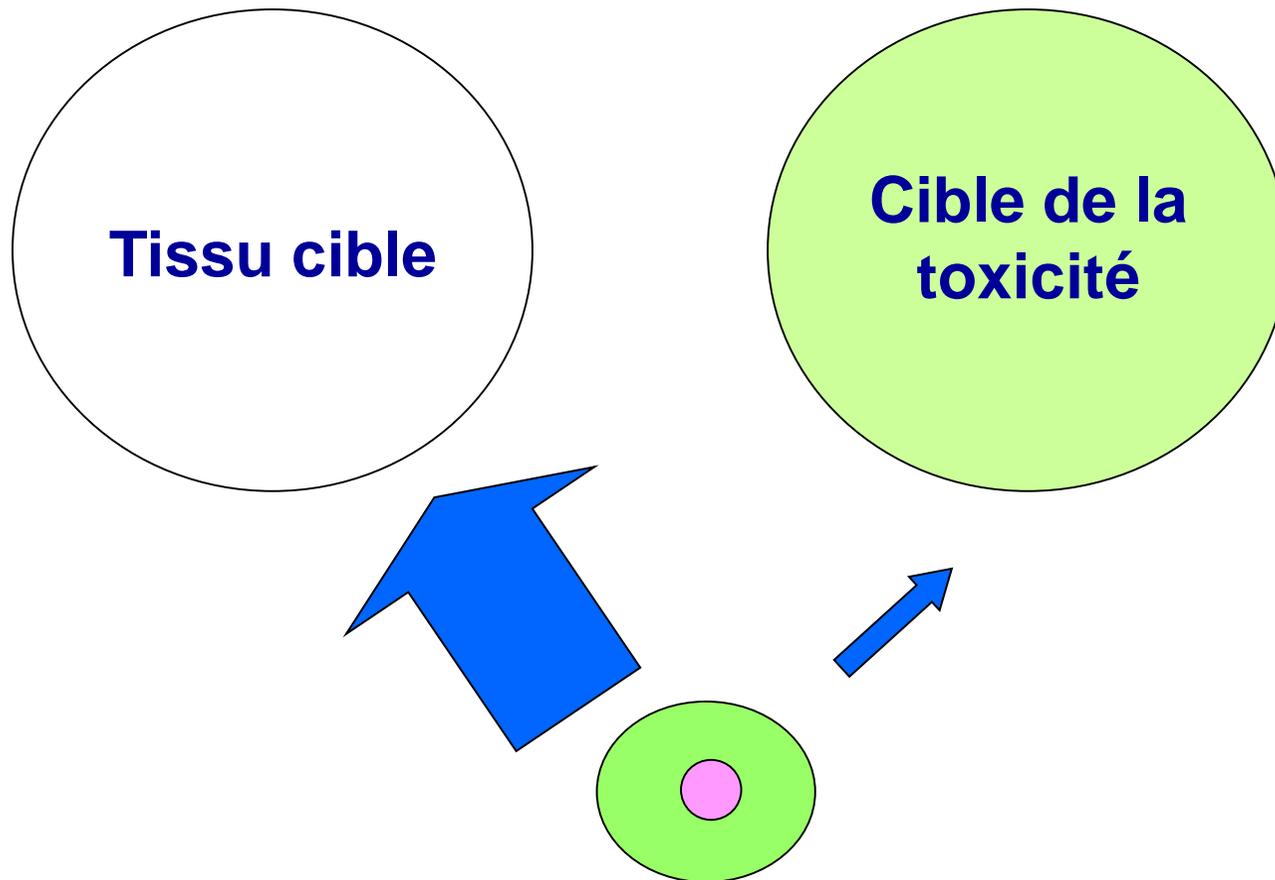
**Diminution des effets
secondaires**

**Augmentation de l'efficacité
au site d'action**

**Augmentation de l'index
thérapeutique (bénéfice/risque)**

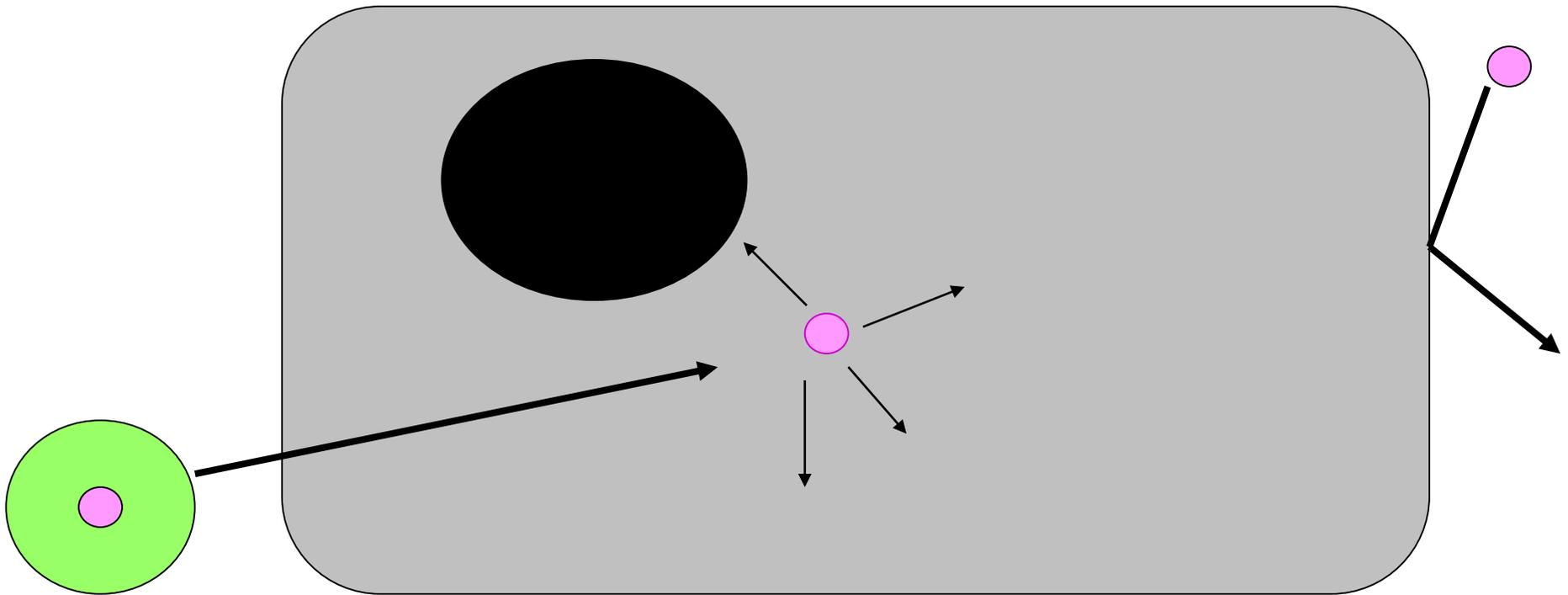
Effets de la vectorisation:

Ciblage et réduction des effets secondaires et de la toxicité



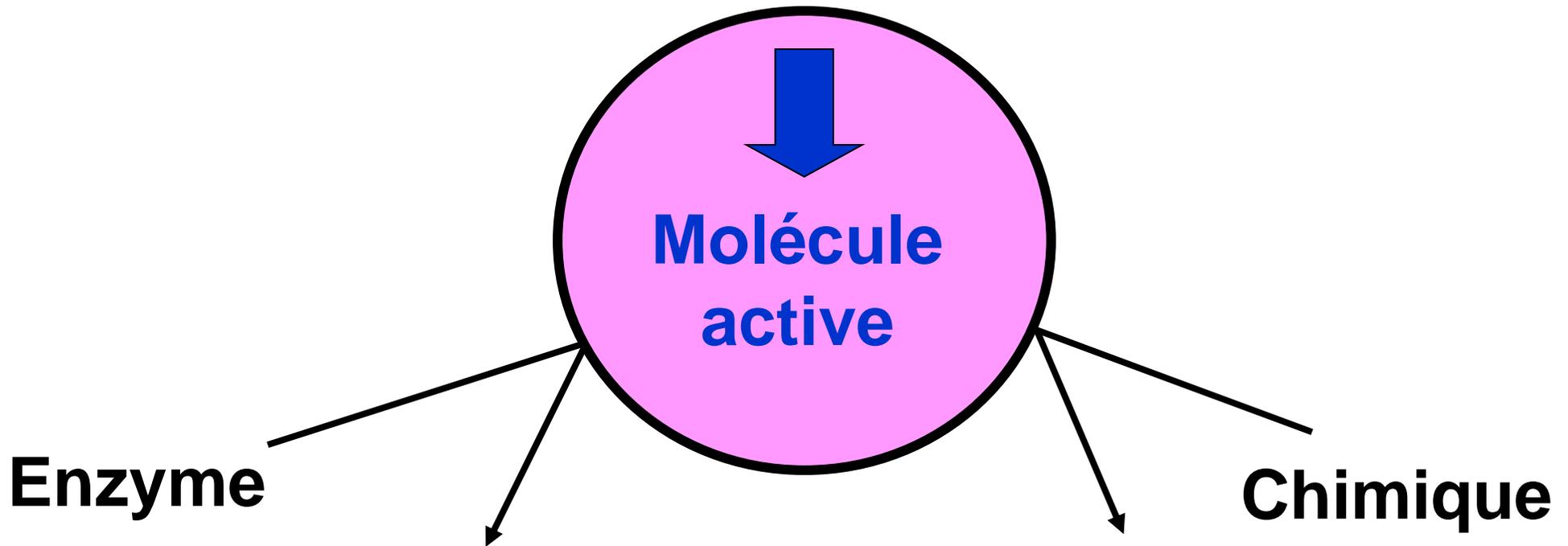
Effets de la vectorisation

Augmentation de la **pénétration cellulaire**
et ciblage subcellulaire
(cytoplasme, vacuole, noyau)



Effets de la vectorisation

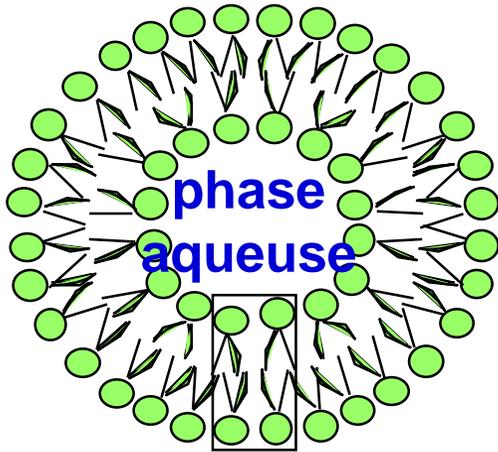
Protection contre la dégradation
enzymatique ou chimique



Vecteurs colloïdaux principaux

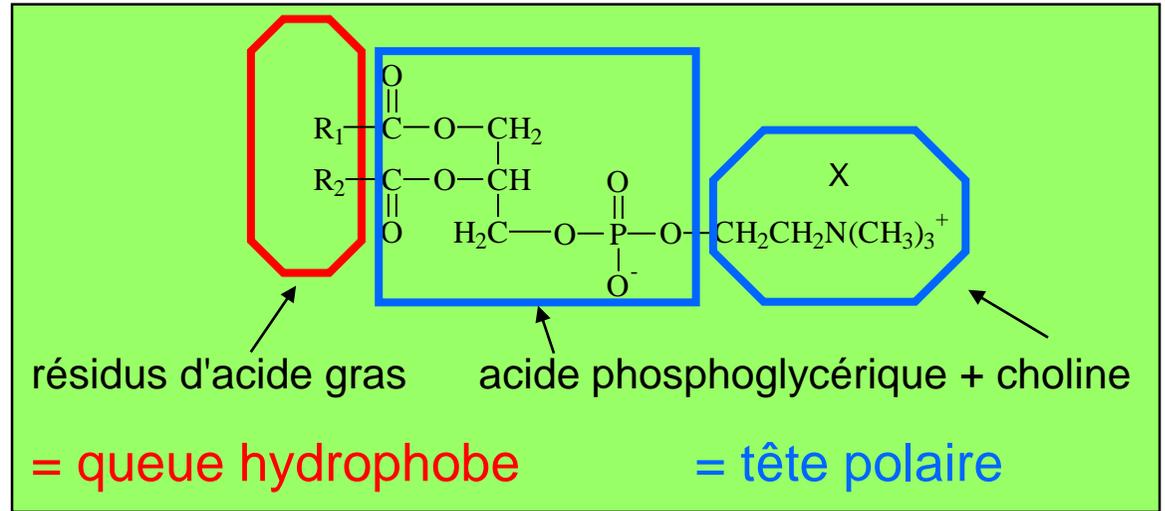
Constituant principal : PHOSPHOLIPIDE

Exemple : phosphatidylcholine



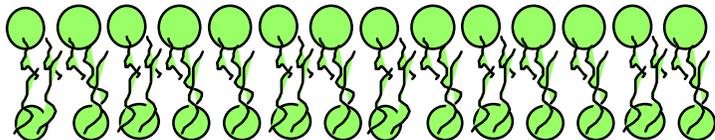
Phospholipides

Liposomes

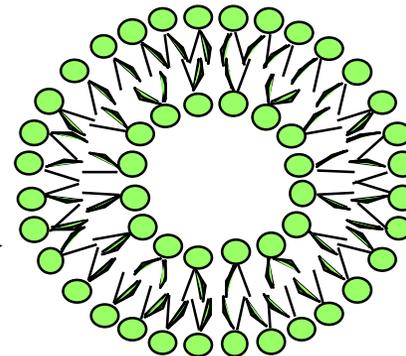


• Assemblage dans l'eau :

lamelles



Energie



liposomes ou
vésicules

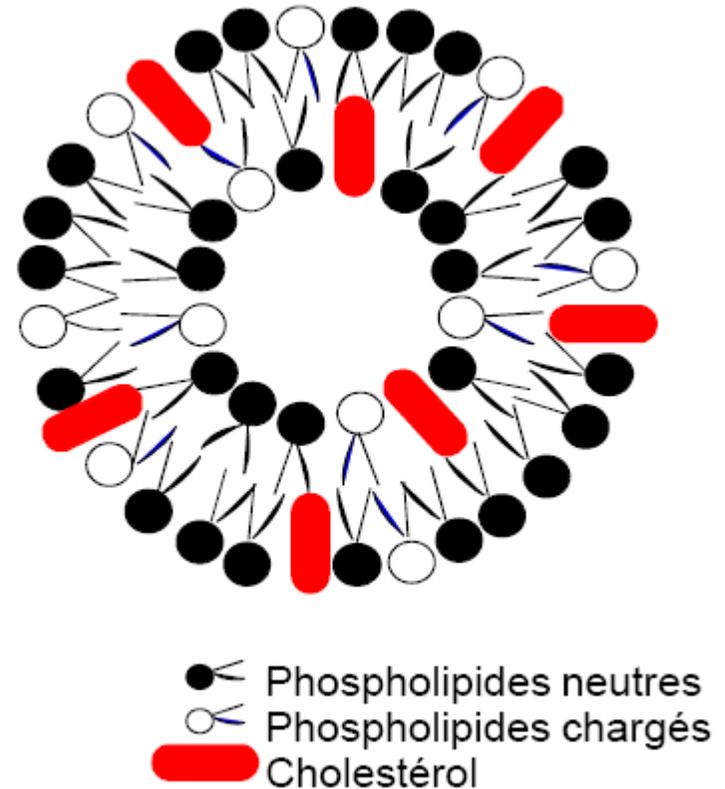
Liposomes

Amphiphiles formant des liposomes:

- Phospholipides (Toujours majoritaires)
- Sphingolipides
- Tensioactifs non ioniques de synthèse

Autres composés:

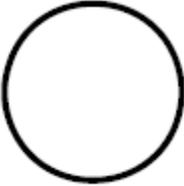
- Cholestérol
- Phospholipides chargés
- Alpha tocophérol



- **Rôle du cholestérol**
 - Diminue la fluidité membranaire
 - Diminue la perméabilité
- **Rôle du phospholipide chargé**
 - Répulsion électrostatique

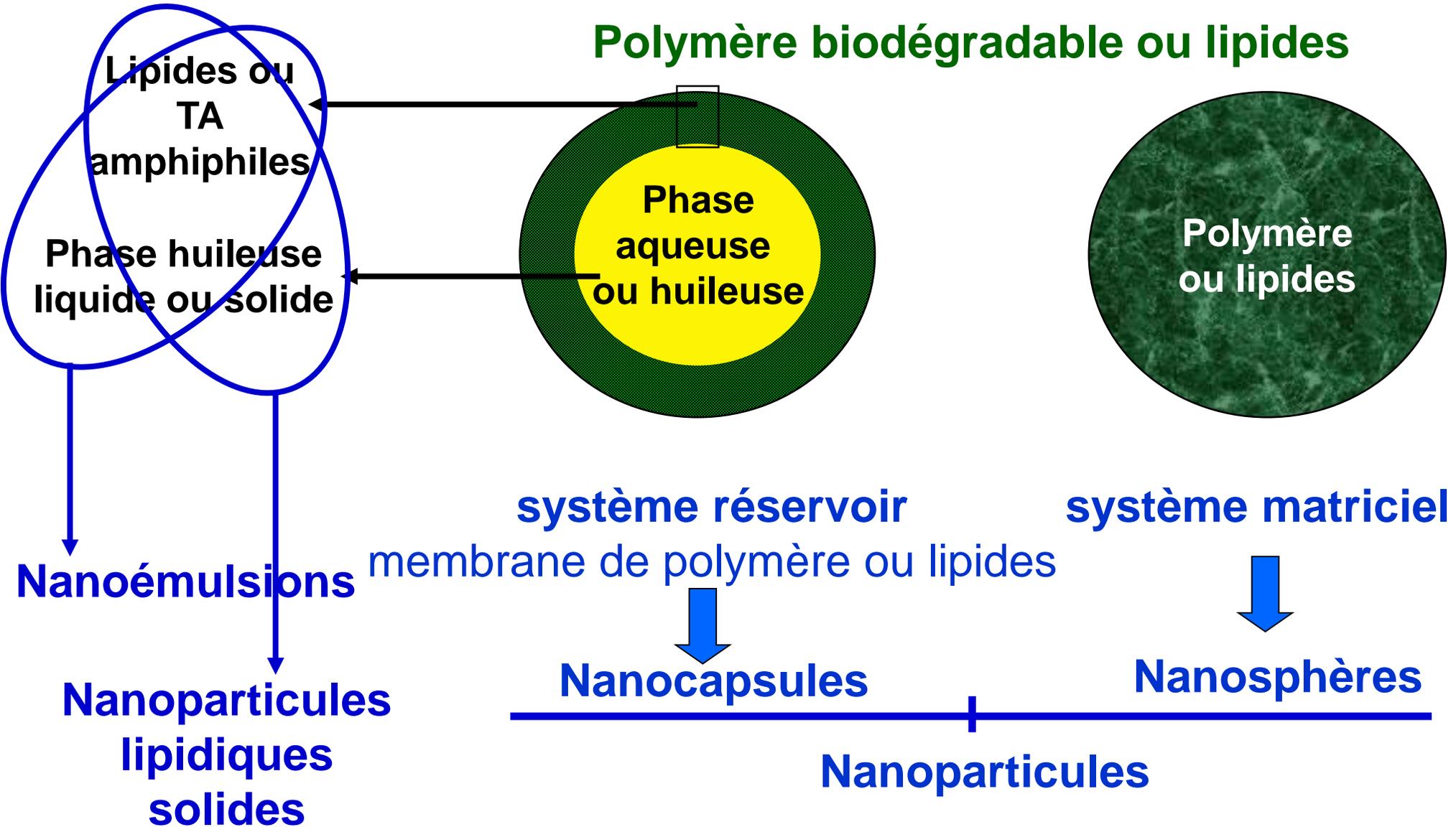
Liposomes

Différentes morphologies

			
Dénomination	Grands Liposomes unilamellaires LUV	Liposomes Multilamellaires MLV	Petits Liposomes unilamellaires SUV
Diamètre (nm)	200-1000	400-3500	20-50
Volume aqueux	Grand	Moyen	Faible

Encapsulation de PA : hydrophile hydrophobe hydrophile
Pénétration tissus : facile si petit difficile plus facile

Vecteurs colloïdaux principaux

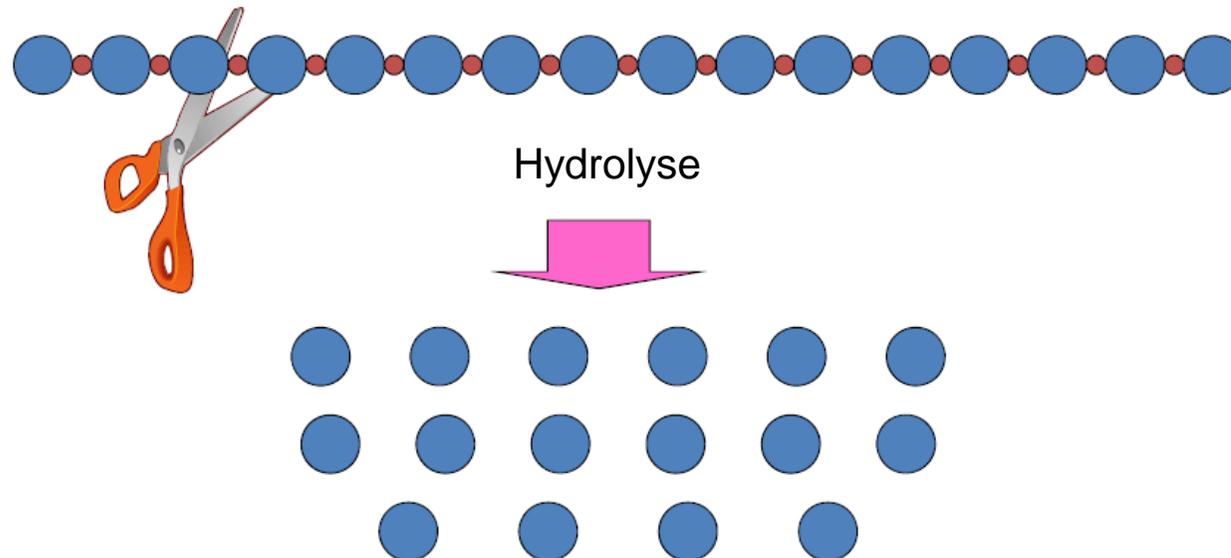


TOUS appelés nanoparticules (même liposomes)

Nanoparticules polymériques

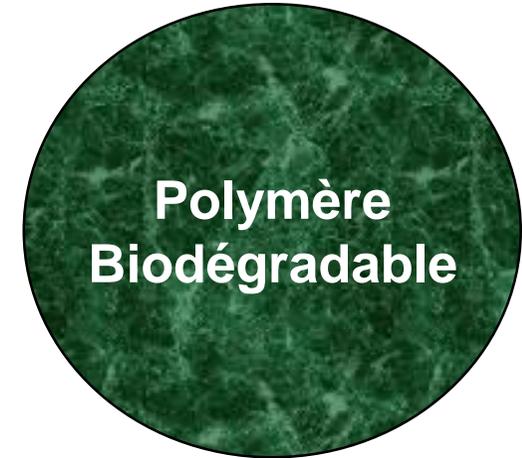
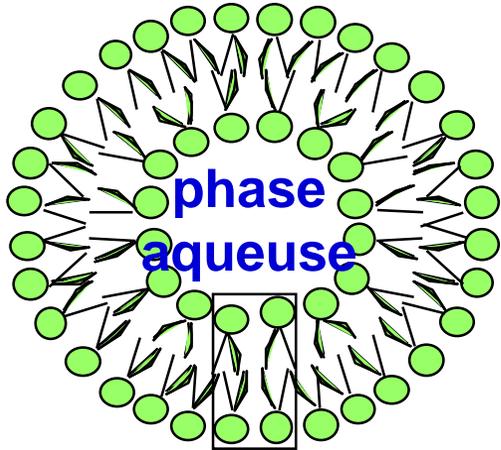
• Polymères biodégradables :

	Alginate	pH, enzymes, alginase
	Collagène	Collagénase
PLA →	Poly(acide lactique)	Hydrolyse
PLGA →	Poly(acide-lactique co-glycolique)	Hydrolyse
	Poly(caprolactones)	Hydrolyse
PACA →	Poly(alkylcanoacryate)	Estérases



Vecteurs colloïdaux principaux

Polymère biodégradable ou lipide



Phospholipides

Liposomes

Nanocapsules

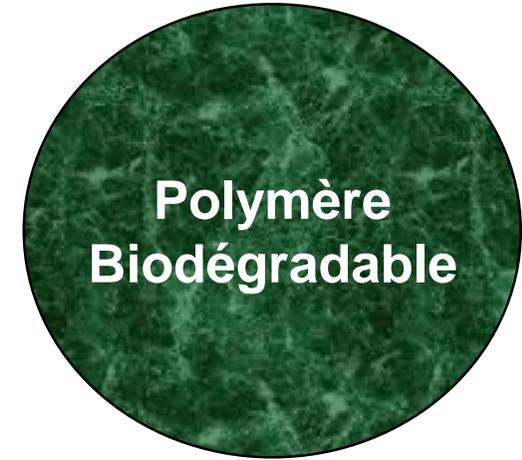
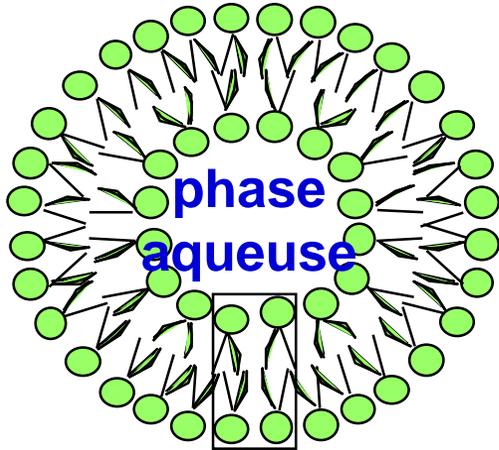
Nanosphères

Si $< 1\mu\text{m}$
Effet Tyndall :
Aspect bleuté



Vecteurs colloïdaux principaux

Polymère biodégradable ou lipide



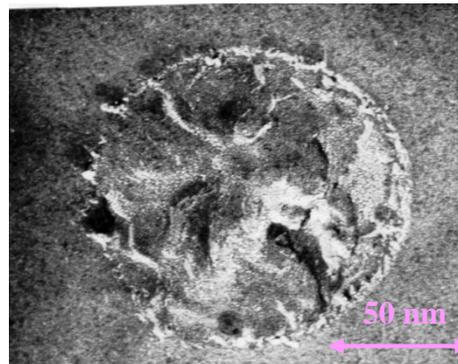
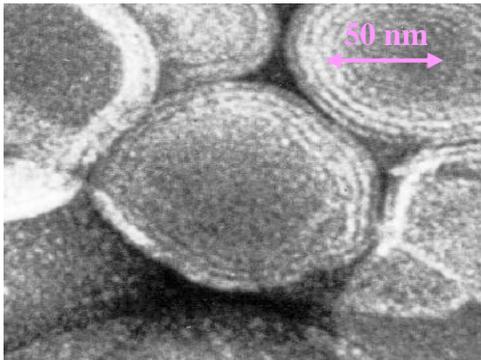
Phospholipides

Liposomes

Nanocapsules

Nanosphères

Caractérisation : Microscopie électronique



Applications

Voie intraveineuse

- Les vecteurs colloïdaux pour maîtriser la distribution tissulaire des PA
- Les vecteurs colloïdaux pour contrôler le ciblage cellulaire des PA

Voie orale

- Les vecteurs colloïdaux pour l'administration orale de PA :

Administration locale

- Les vecteurs colloïdaux pour l'administration locale de PA :

Applications

Voie intraveineuse

- Les vecteurs colloïdaux pour maîtriser la distribution tissulaire des PA:
=> Vecteurs de première et deuxième génération
- Les vecteurs colloïdaux pour contrôler le ciblage cellulaire des PA

Voie orale

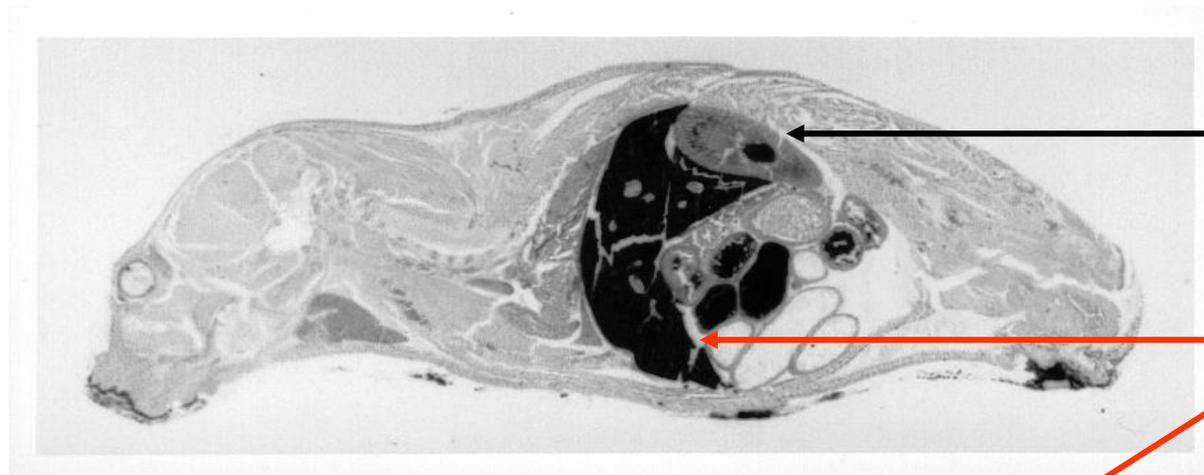
- Les vecteurs colloïdaux pour l'administration orale de PA

Administration locale

- Les vecteurs colloïdaux pour l'administration locale de PA

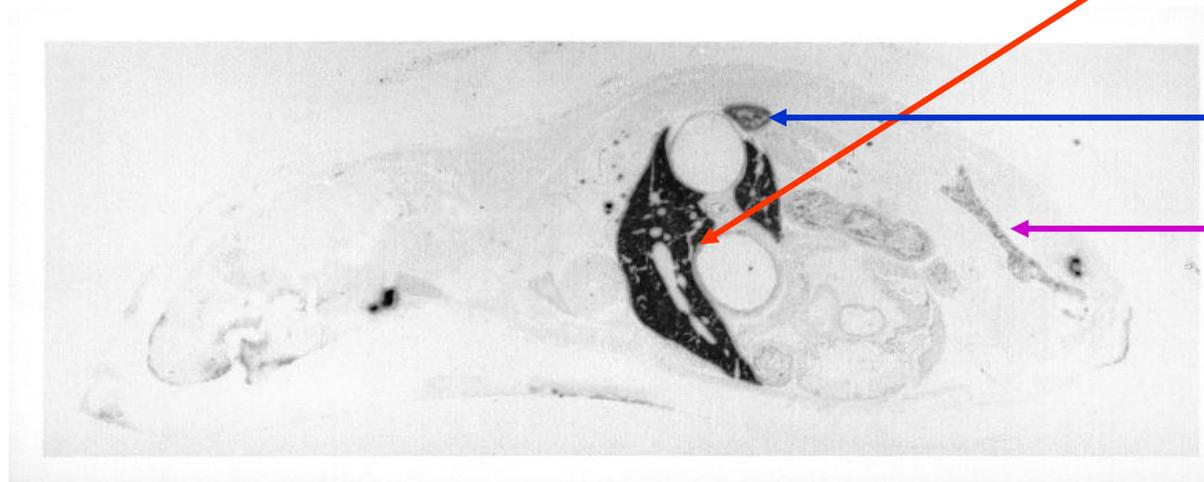
Vecteurs de première génération par voie IV : ciblage hépato-splénique

L. Grislain, P. Couvreur, V. Lenaerts, M. Roland, Int. J Pharm., 1983



Reins

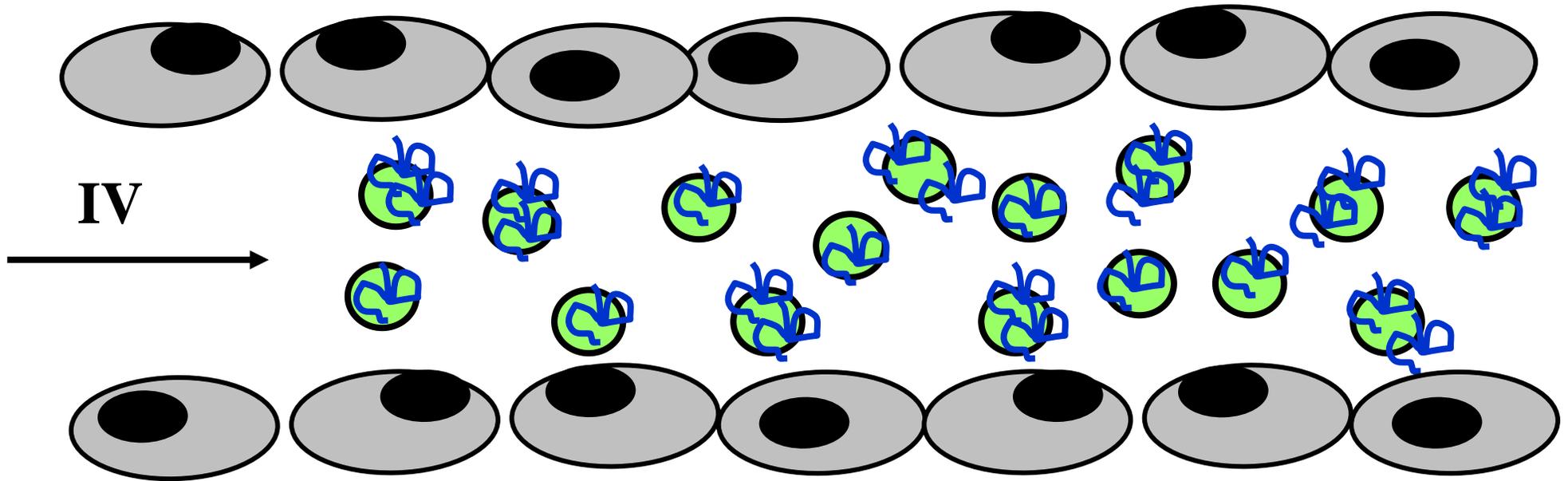
Foie



Rate

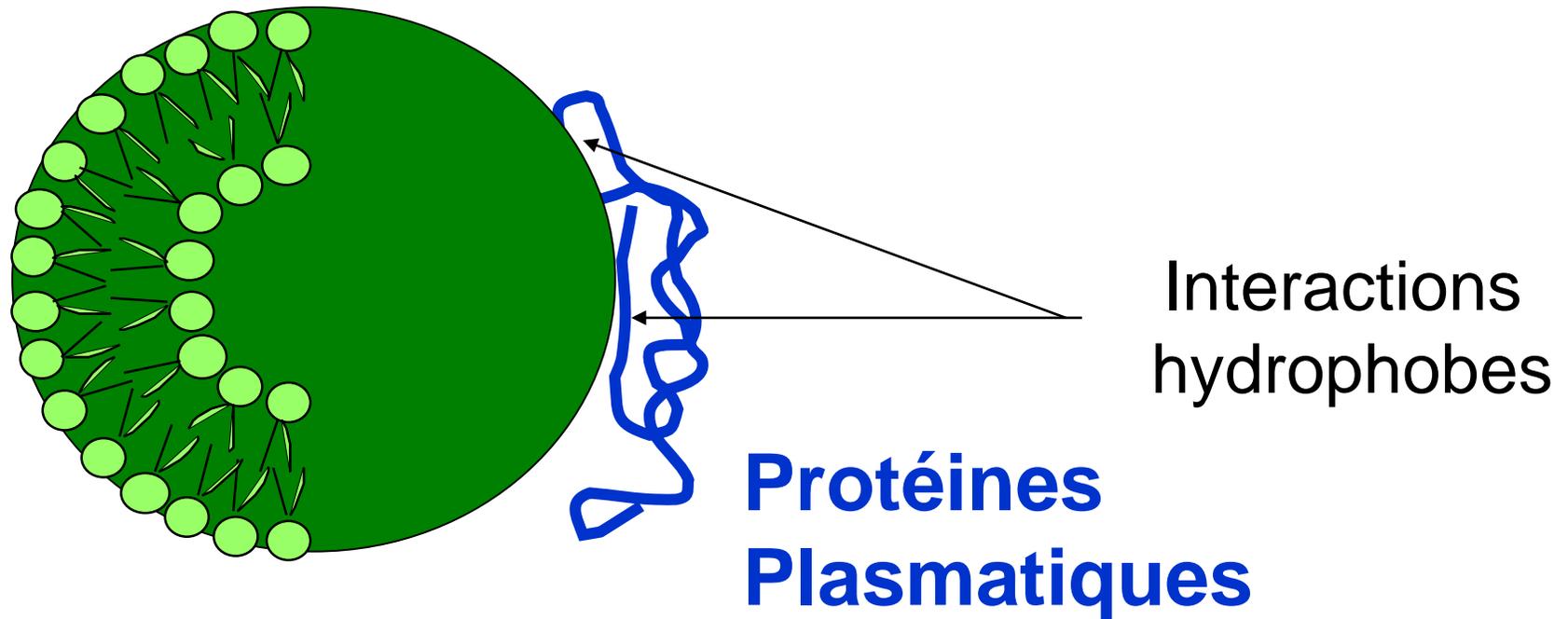
Moelle

Opsonisation des vecteurs de première génération après administration IV



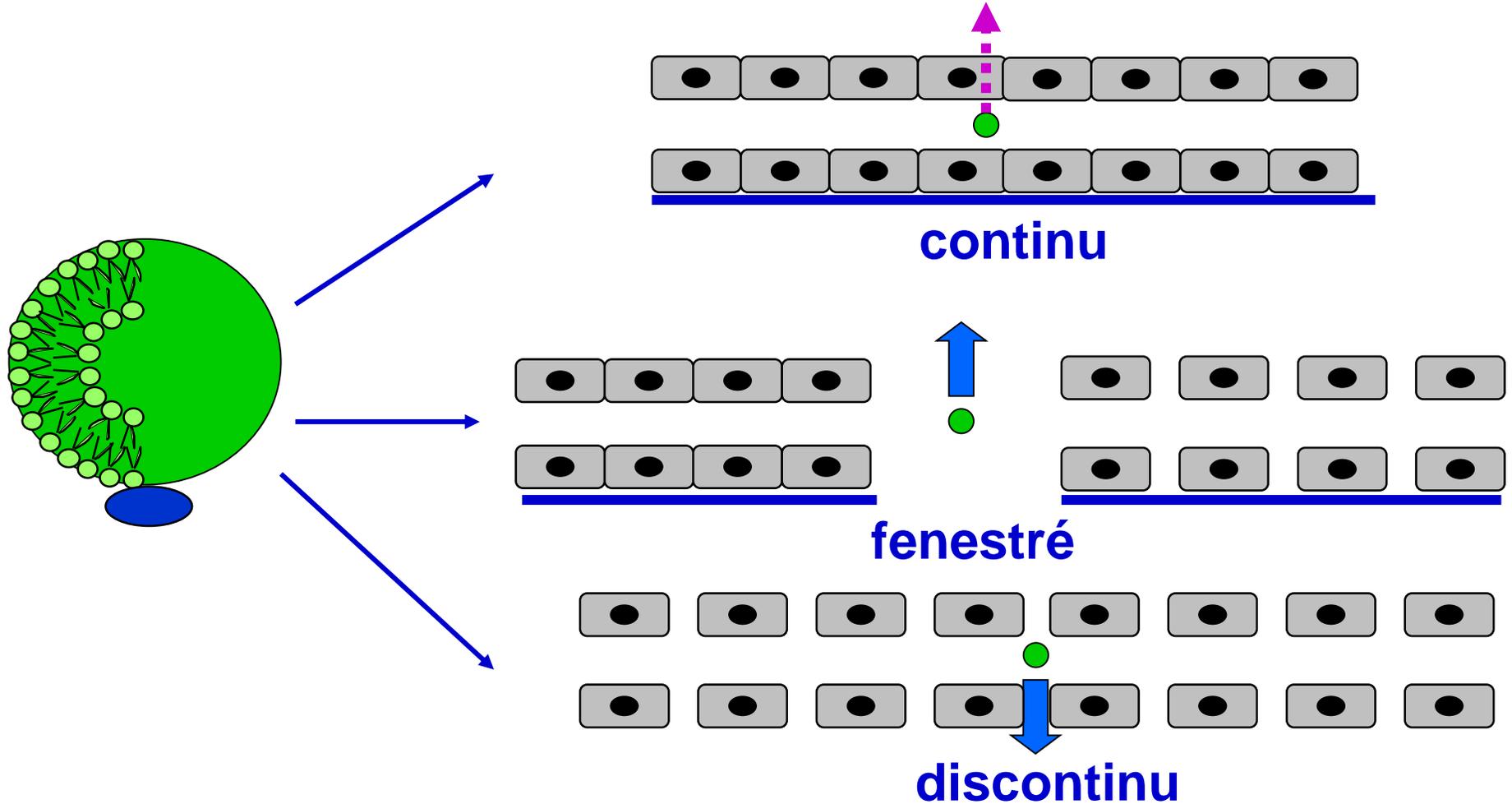
OPSONINES
Fragment Fc des IgG,
Fibronectine,
éléments du complément

Opsonisation par interactions hydrophobes après administration IV des vecteurs de 1ère génération



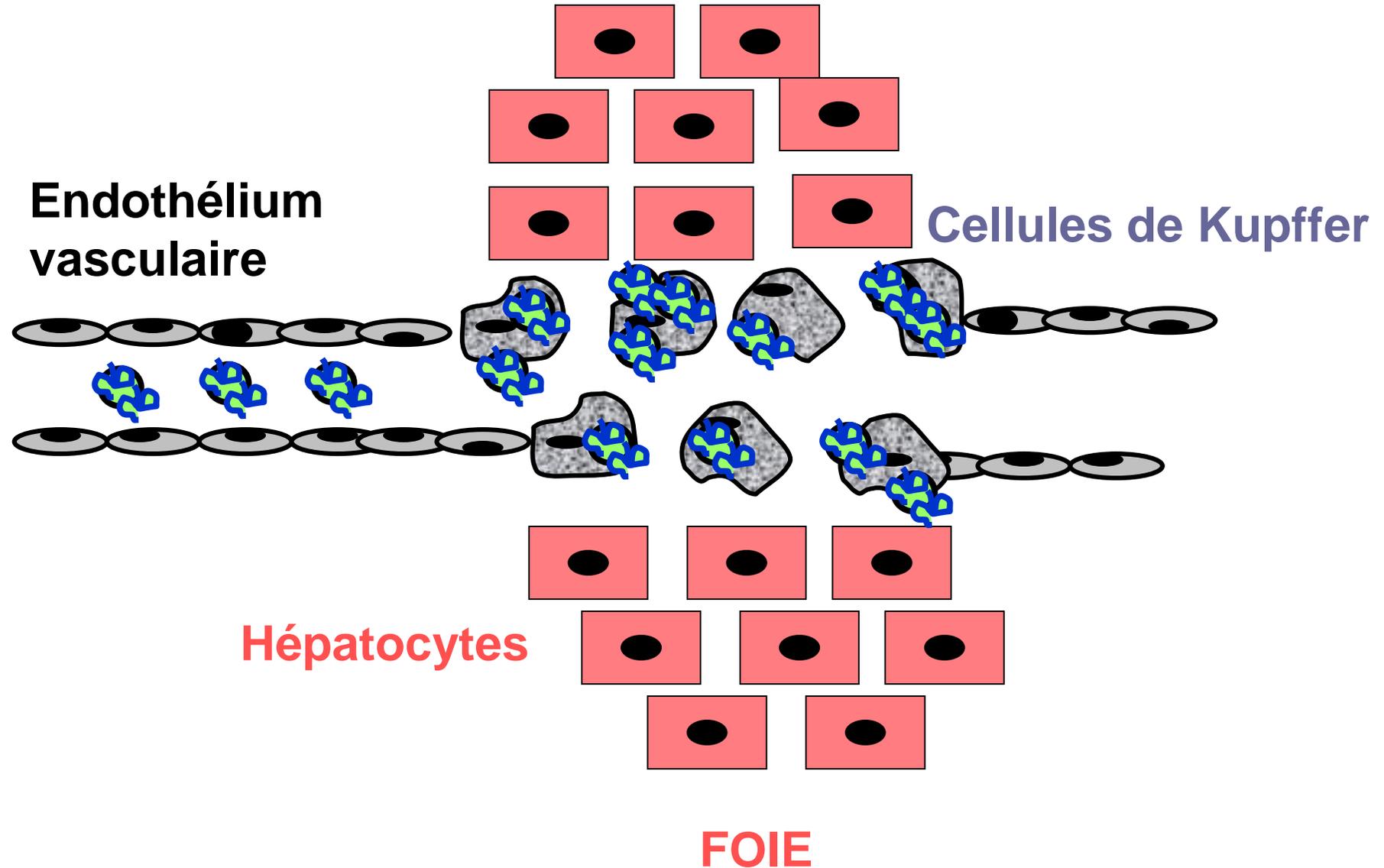
Transport au travers des endothéliums

Passage transcellulaire difficile, plus lent



*Passage paracellulaire favorisé au niveau de :
foie - rate, moelle osseuse - tumeurs - inflammation*

Capture hépatique des vecteurs de 1ère génération



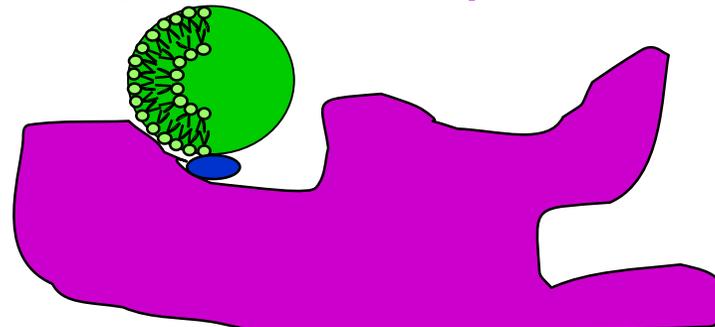
Reconnaissance par le système des phagocytes mononucléés des vecteurs de 1^{ère} génération



Endothélium

MACROPHAGES du MPS (foie, rate, moelle osseuse, poumons...)

compartiment vasculaire

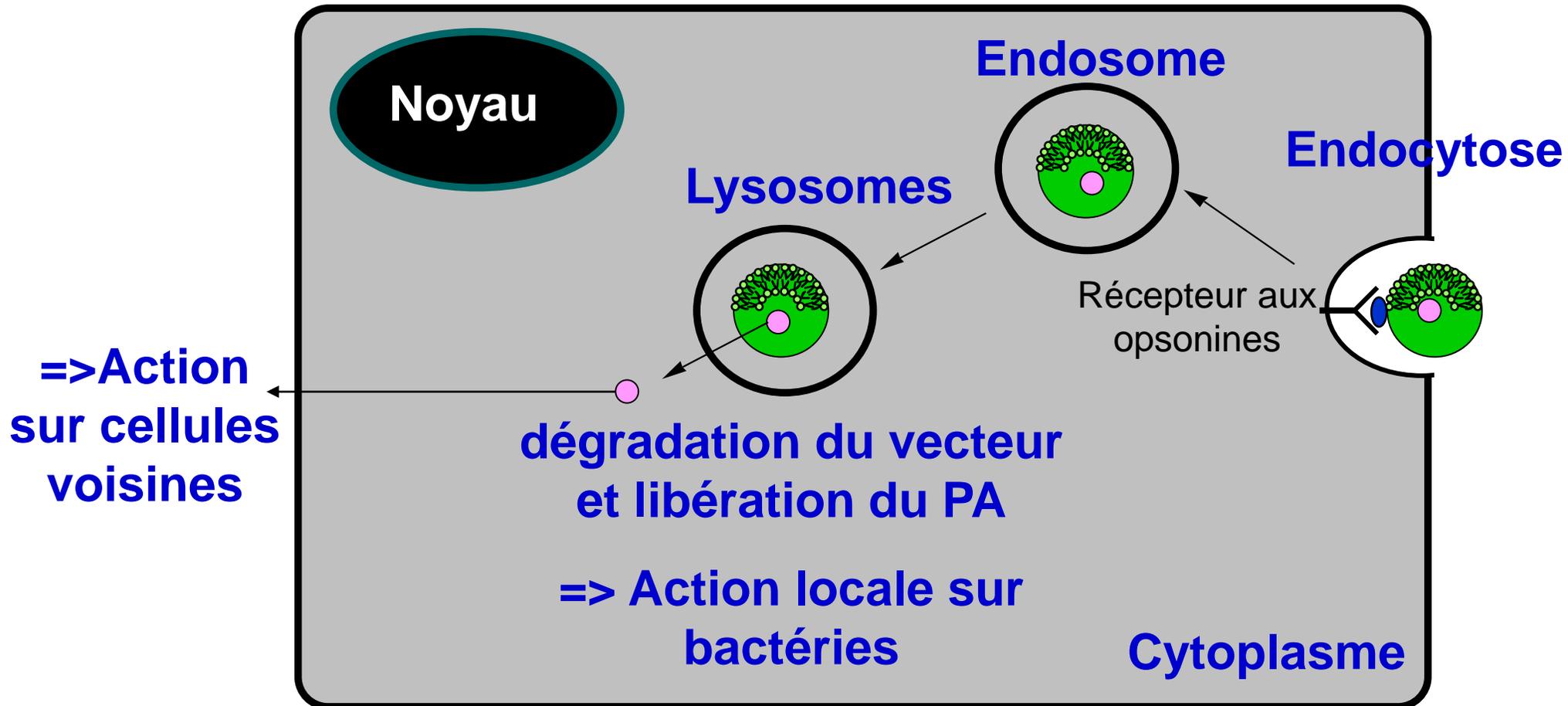


=> Phagocytose et dégradation du vecteur dans lysosome => libération du PA

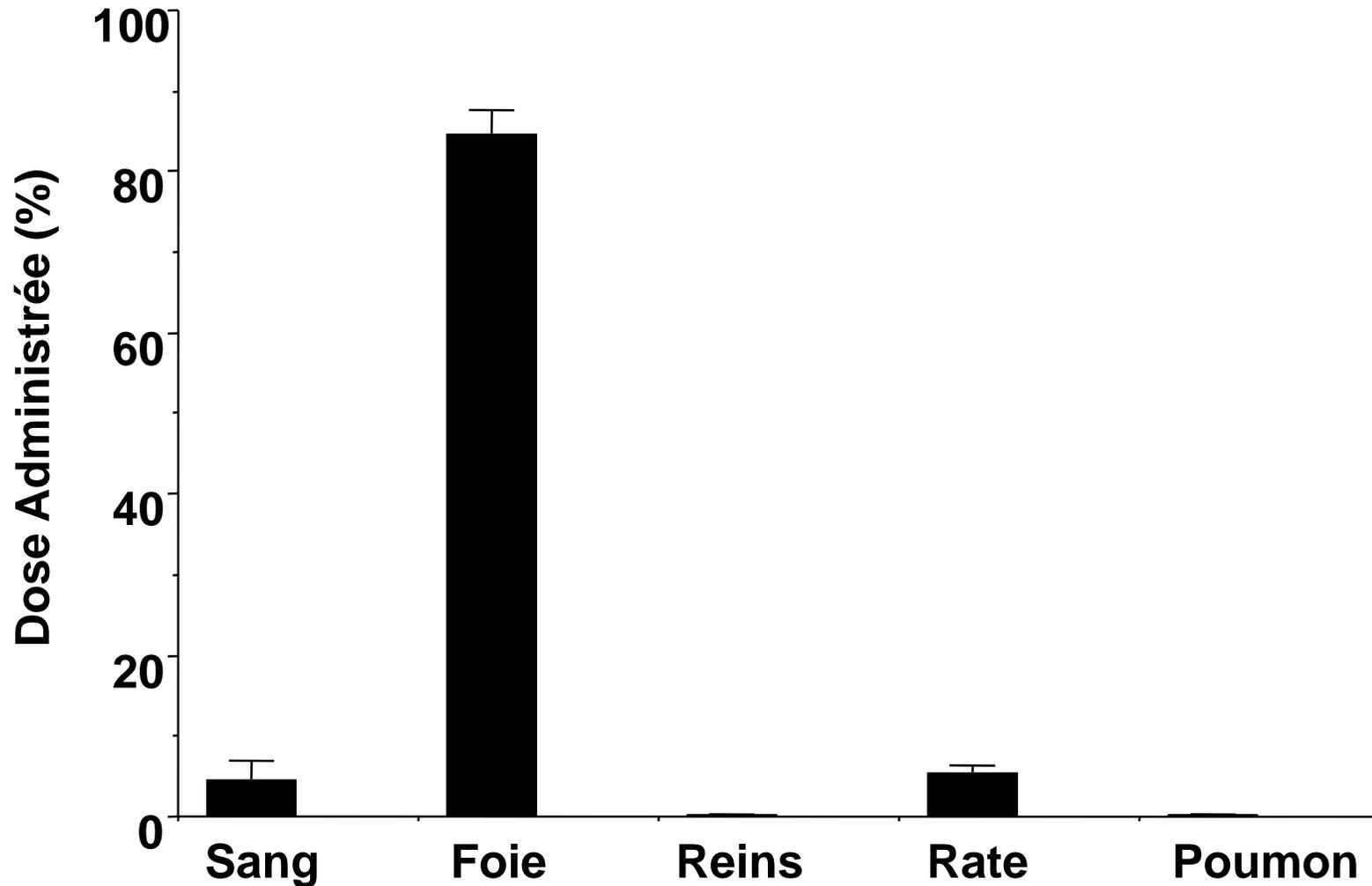
Application : traitement des infections bactériennes intramacrophagiques

Capture par le système des phagocytes mononucléés des vecteurs de 1^{ère} génération

Macrophages ont récepteurs aux opsonines



Biodistribution de liposomes 1^{ère} génération 1 h après administration IV (*Beaumier, 1982*)

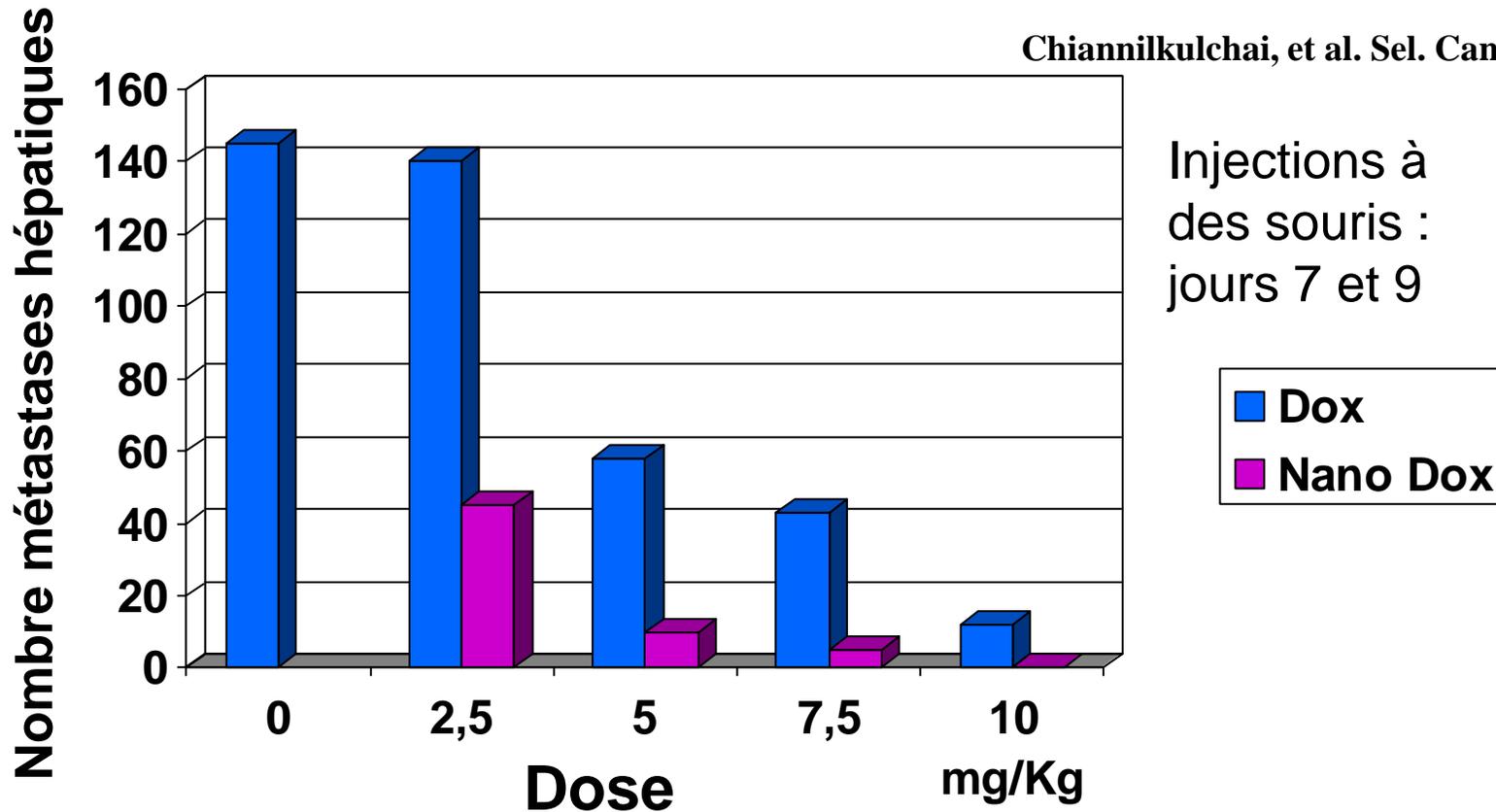


=>Distribution dans le foie et rate

Efficacité sur métastases hépatiques de la doxorubicine libre ou encapsulée

Nanoparticules de polymère PACA

Chiannikulchai, et al. Sel. Cancer Ther., 1989



Médicament en cours de phase clinique III
(Bioalliance®)

Formes vectorisées de première génération commercialisées

Principe actif	Vecteur	Nom commercial
Amphotericine B	Liposome	Ambisome
Daunorubicine	Liposomes	DaunoXome
Gentamicin	Nanoparticules	Zysolin
Vancomycin	Nanoparticules	Vansolin
Paclitaxel	Nanoparticules	Abraxane

=> Surtout anticancéreux et antiinfectieux

=> Pour améliorer efficacité et surtout diminuer toxicité

Forme vectorisée de 1^{ère} génération commerciale

Exemple : Ambisome

Amphotéricine B : antimycosique

•Cible : mycose systémique

=>infections chez patients immunodéprimés

•AmB : - tue les cellules de champignons (ergostérol)
- tue les cellules humaines (cholestérol)

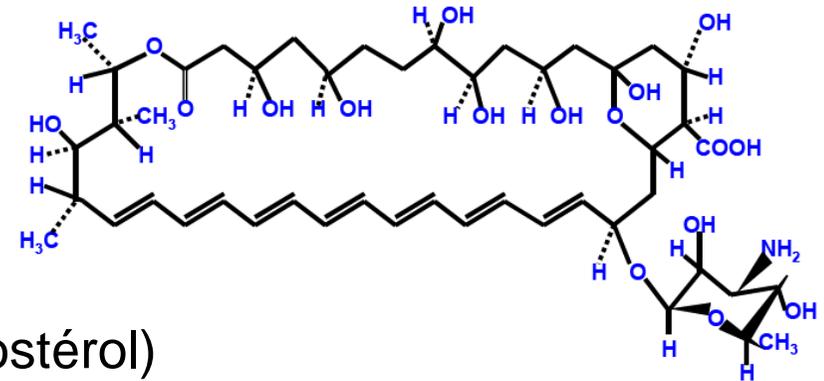
•Effets secondaires : toxicité rénale

•Formulations :

•Solutions micellaires (Fungizone®)

•Complexe lipidique (ABLIC, Abelcet ®)

•Liposomes (Ambisome®)



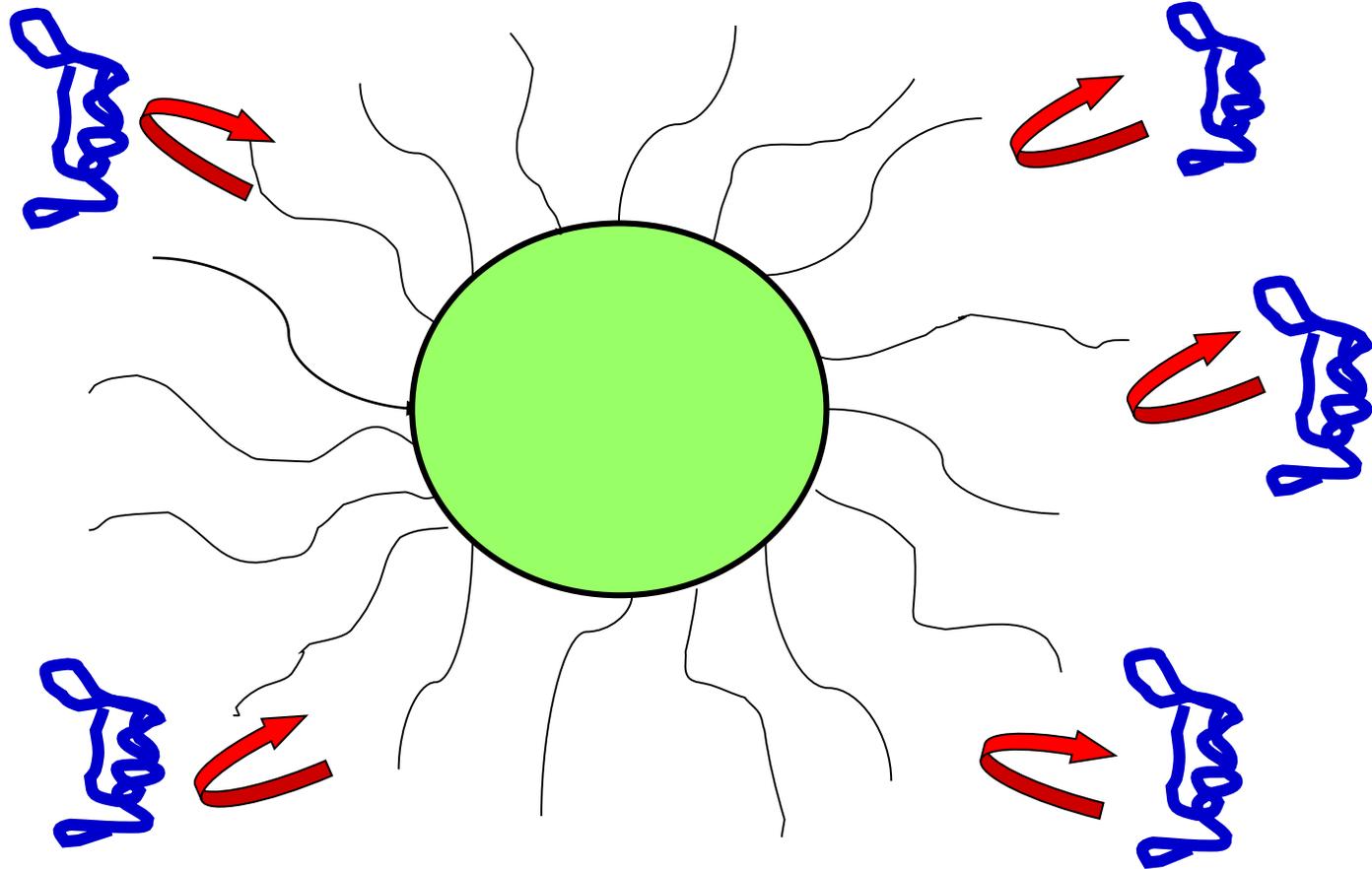
Toxicité (DL50 mg/Kg) chez la souris

AMB libre	1
Fungizone®	3,3 - 3,7
ABLIC	5 -18
Ambisome®	175

=> Diminution de la toxicité sur les cellules humaines

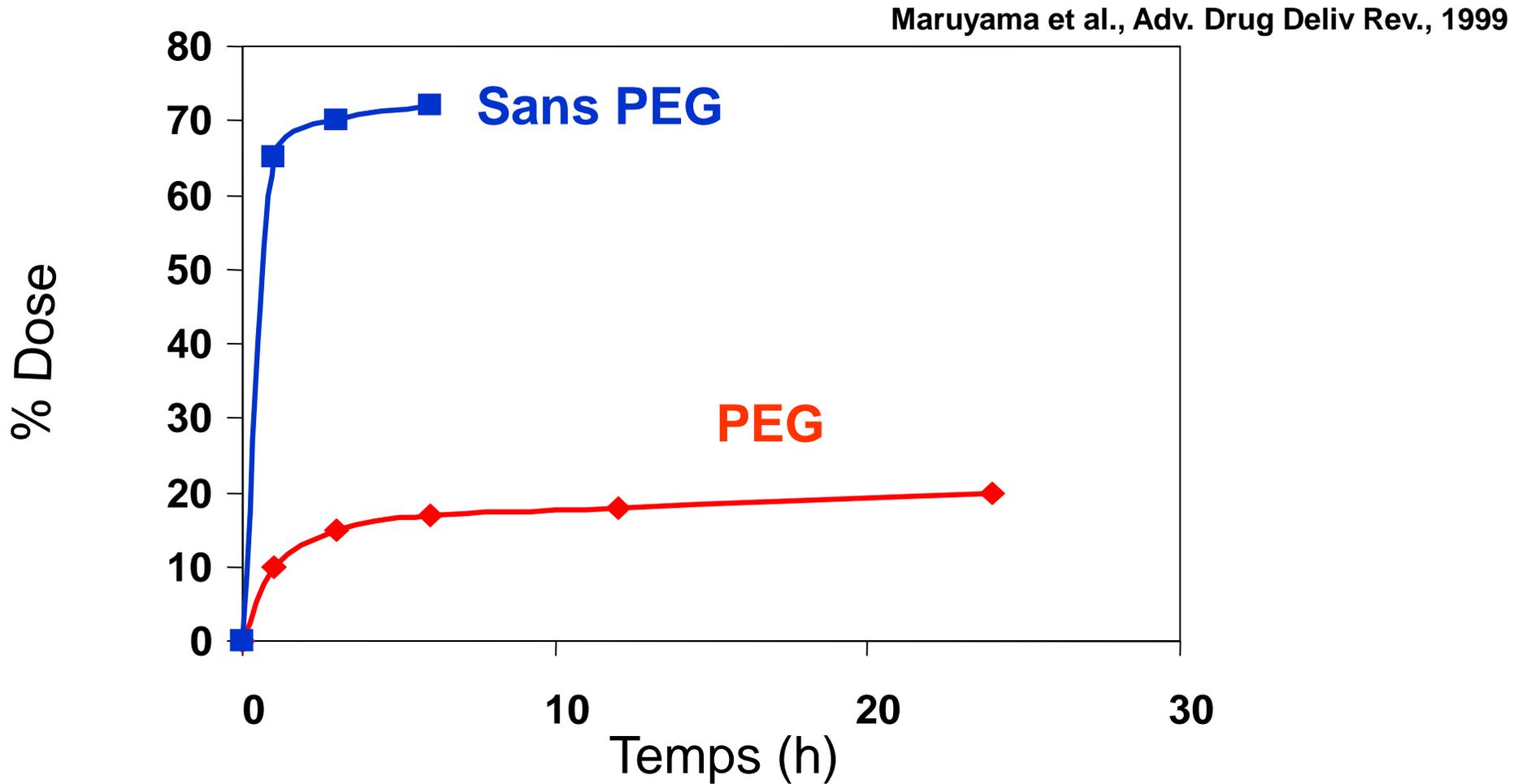
Forme vectorisée de 2^{ème} génération

Répulsion stérique et dysopsonisation



- Couplage de polyéthylène glycol en surface des vecteurs 1^{ère} génération
=>Effet stérique
=>Hydrophilie augmentée

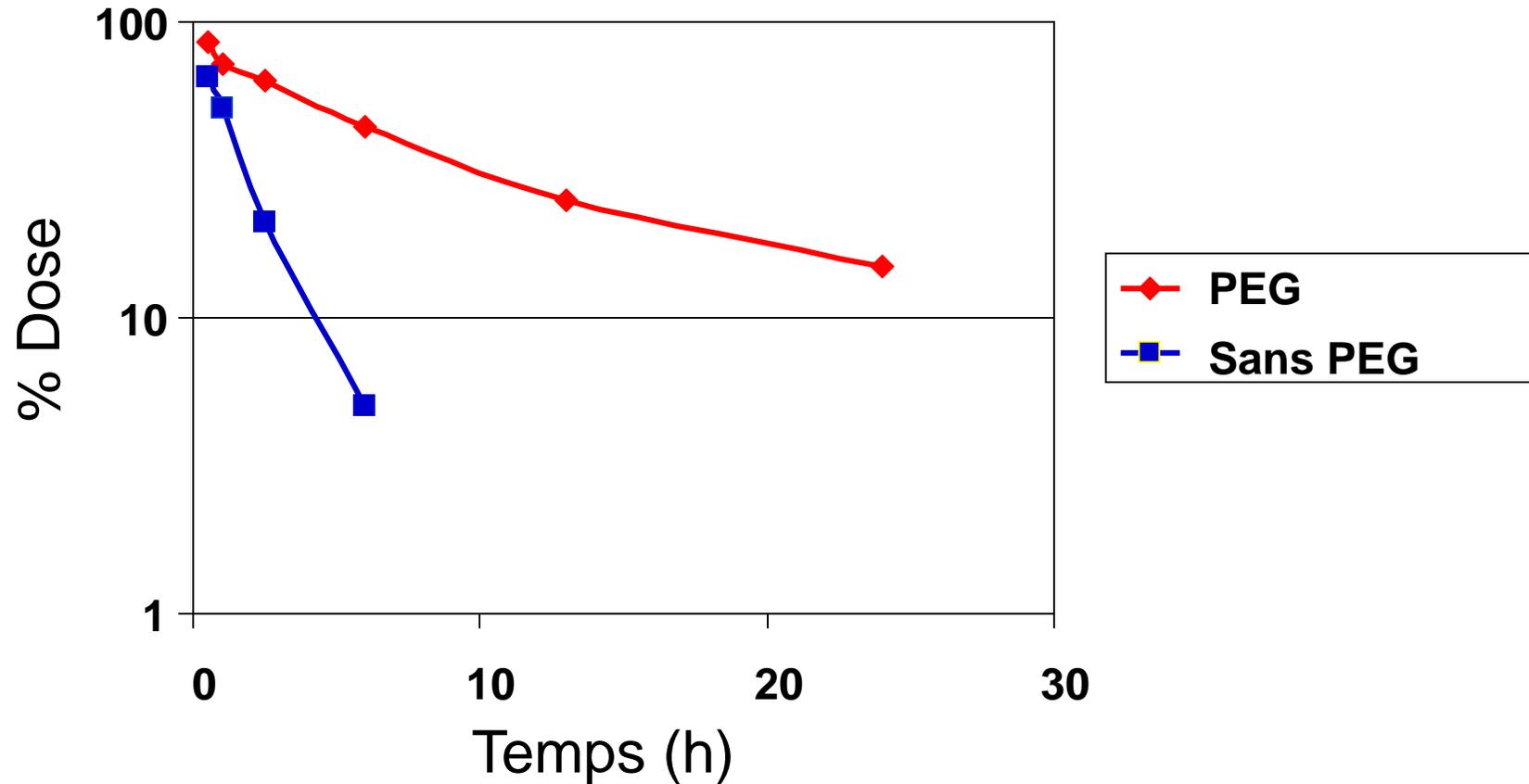
Capture hépatique des liposomes en fonction de leur recouvrement



=> Diminution de la capture hépatique des vecteurs de 2^{ème} génération

Concentration plasmatique des liposomes en fonction de leur recouvrement

Maruyama et al. Adv. Drug Deliv Rev., 1999

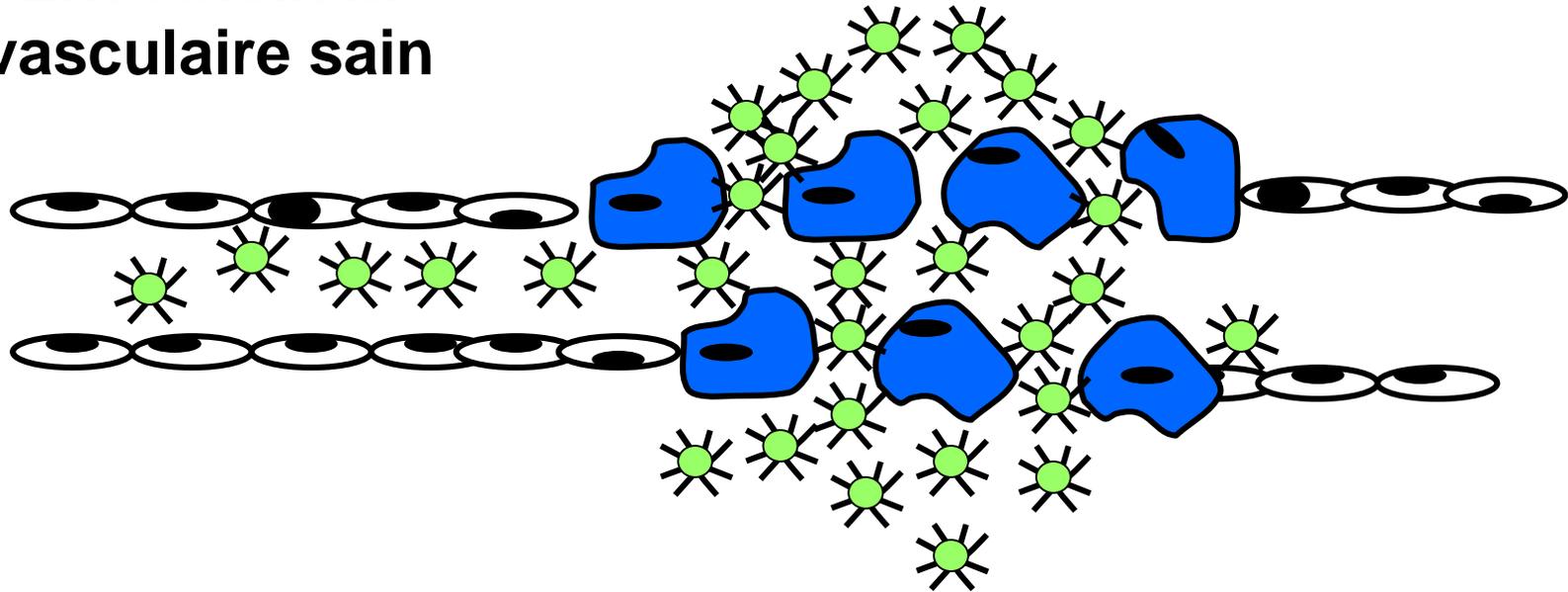


=> Augmentation de la demi-vie plasmatique des vecteurs de 2^{ème} génération

Forme vectorisée de 2^{ème} génération

Extravasation tumorale sélective

**Endothélium
vasculaire sain**



**Endothélium vasculaire tumoral
ou proche inflammation**

Applications: passage des nanoparticules au niveau
des endothéliums perméabilisés des tumeurs : ciblage passif

Forme vectorisée de 2^{ème} génération commerciale

Exemple : Doxil[®] ou Caelix[®] (Lipo-PEG de doxorubicine)

Doxorubicine

- Anémie, altération des veines et tissus au site d'injection
- Diminution du nombre de plaquettes
- Toxicité cardiaque

Formulation dans des liposomes-PEG

Indication : Cancer du sein, cancer ovarien et sarkome de kaposi (patients VIH)
dans les cas graves et quand toxicité cardiaque de doxorubicine

Avantages/ formulation classique :

- Maintient la doxorubicine dans le sang 50h/20 minutes
- Concentration dans lésions SK et tumeurs par extravasation sélective
- Diminution toxicité cardiaque

Forme vectorisée de 2^{ème} génération commerciale

Exemple : Doxil[®] ou Caelix[®] (Lipo-PEG de doxorubicine)

Données pharmacocinétiques

Parameter	Caelyx	Doxorubicin
C max µg/ml	15.1	0.007
Kel h ⁻¹	0.03	0.36
T _{1/2} (h)	27.0	1.9
AUC 0-∞ µg.hr/ml	605.3	0.02
MRT 0-∞ (h)	37.9	2.8
CL (ml/h)	0.4	10869
V _b (ml)	16.5	30193

<http://www.sch-plough.fr/>

Schering Plough

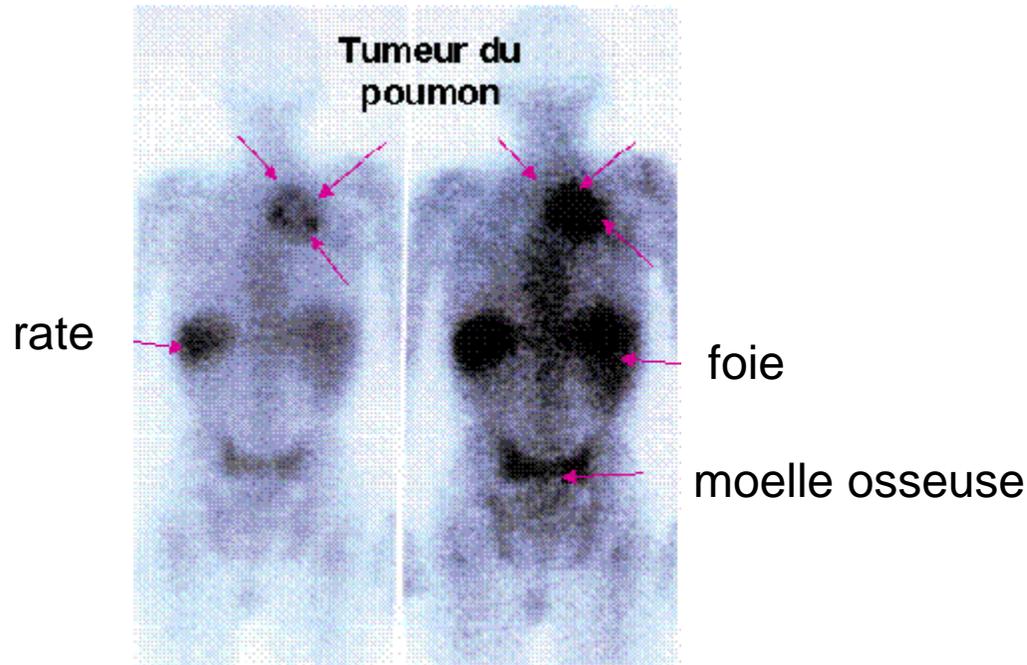
Les vecteurs modifient la pharmacocinétique du PA

Forme vectorisée de 2^{ème} génération commerciale

Exemple : Doxil[®] ou Caelix[®] (Lipo-PEG de doxorubicine)

Ciblage de la tumeur par Caelyx

γ scintigraphie à 48 et 96 heures après injection de Caelyx[®] marqué chez un patient atteint d'un cancer du poumon (vue postérieure)



Les vecteurs de 11^{ème} génération peuvent cibler des cancers (ciblage passif) sans éviter le foie et la rate.

Applications

Voie intraveineuse

- Les vecteurs colloïdaux pour maîtriser la distribution tissulaire des PA
- Les vecteurs colloïdaux pour contrôler le ciblage cellulaire des PA :
=> vecteurs de troisième génération en cours de recherche

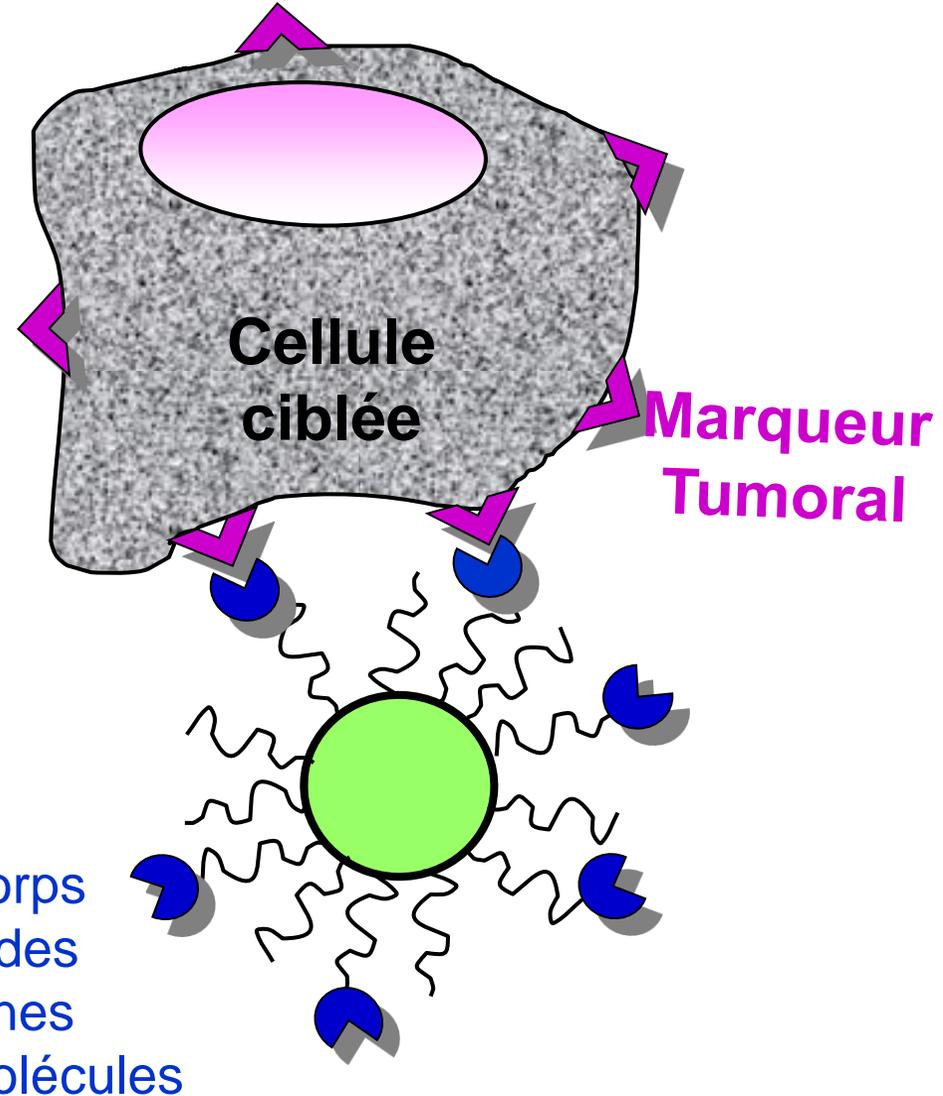
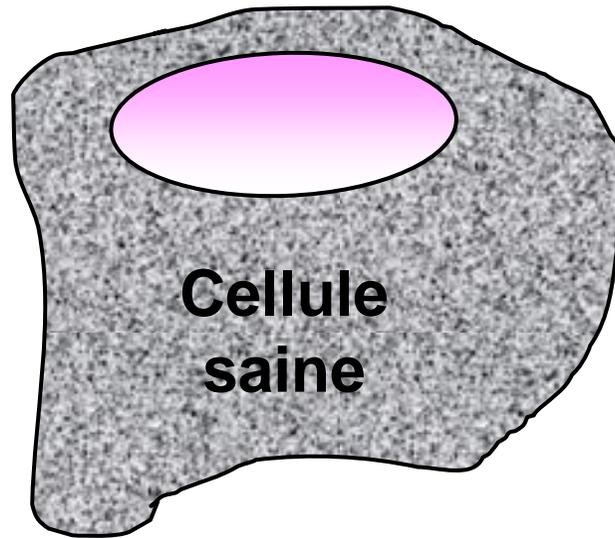
Voie orale

- Les vecteurs colloïdaux pour l'administration orale de PA

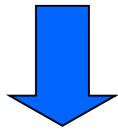
Administration locale

- Les vecteurs colloïdaux pour l'administration locale de PA

Formes vectorisées de 3^{ème} génération



ADRESSAGE MOLECULAIRE

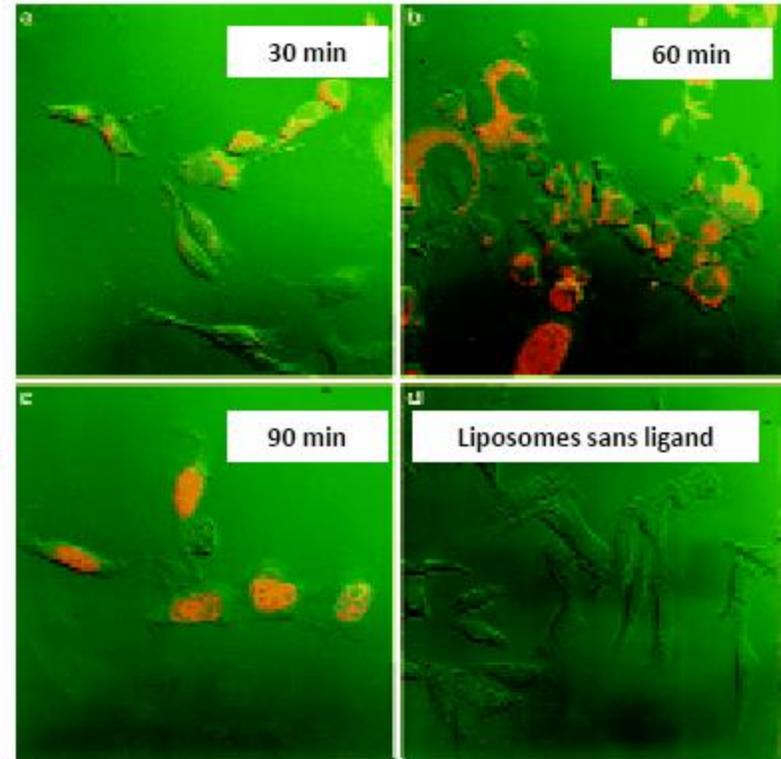
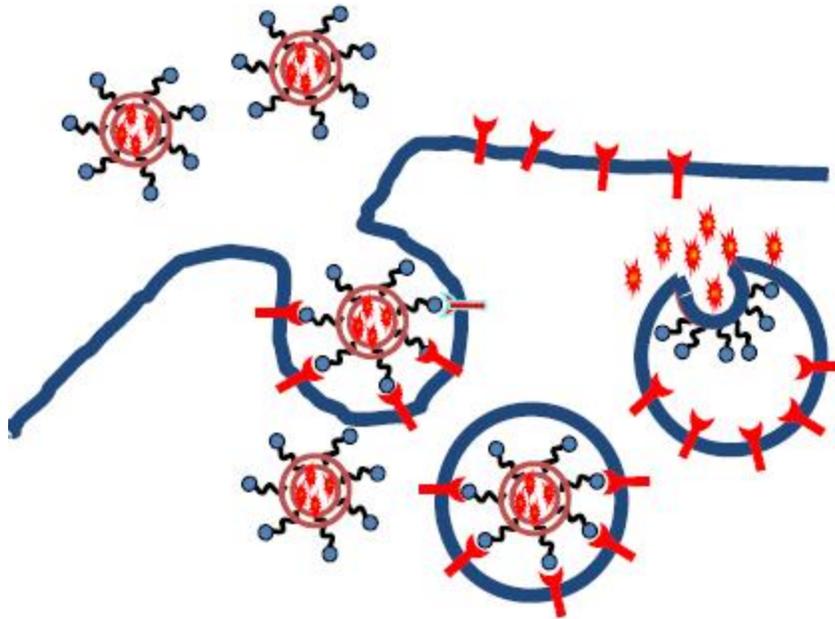


Ciblage actif

Applications: ciblage actif des tumeurs ou autres cellules

Formes vectorisées de 3^{ème} génération

Ciblage actif des tumeurs



=> Travaux de recherche en cours

Formes vectorisées de 3^{ème} génération

Exemples de récepteur cellulaire ciblé par vecteurs

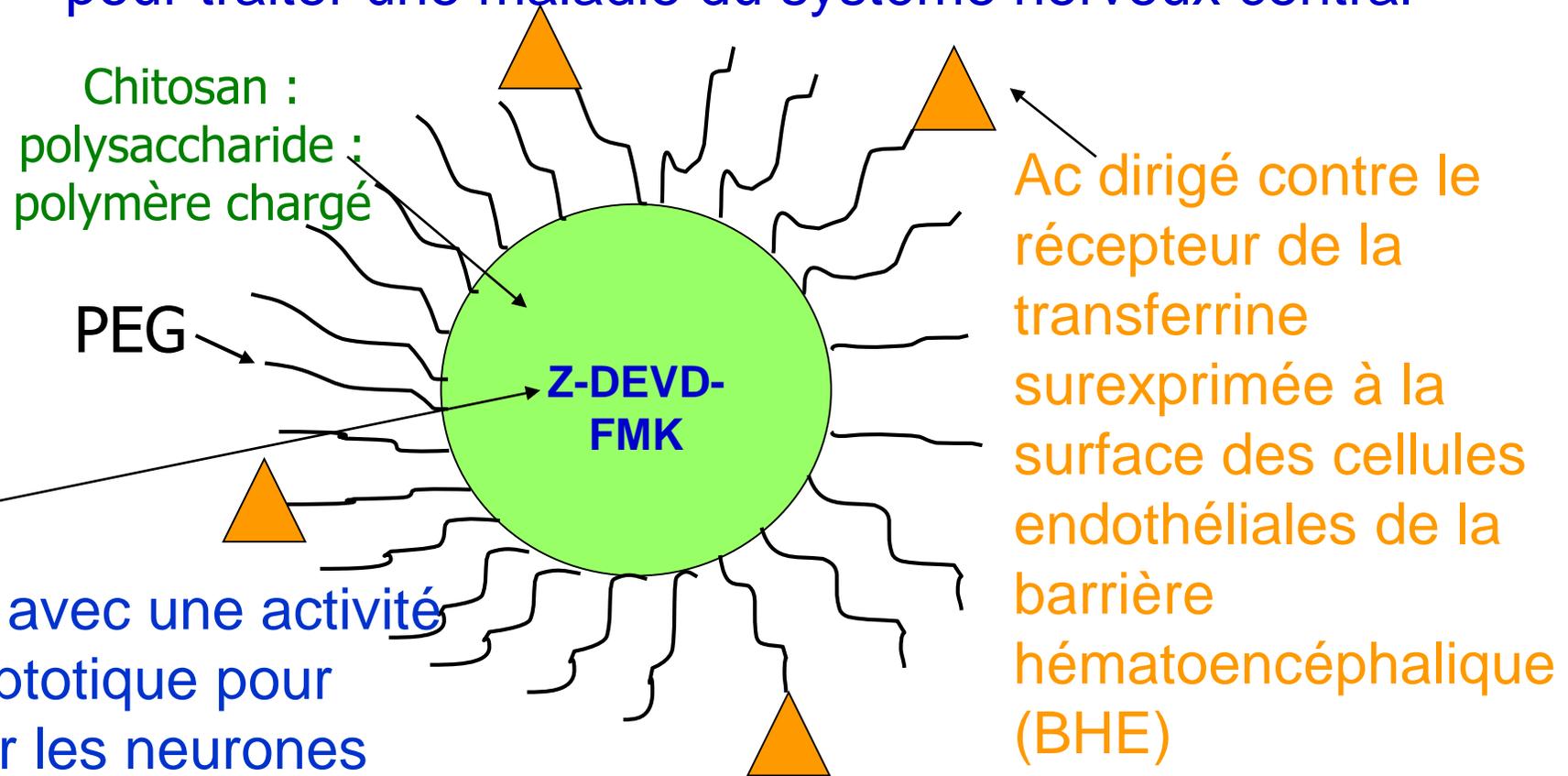
Ligand	Type of Receptor	Cells	Disease
<i>antibody</i> Herceptin®	Antigen HER2 receptor	Breast cancer cells	Cancer
Folate	Folate receptor	Cancer cells	Cancer
Transferrin or antibody	Transferrin receptor	Infected cells or BBB	Infection or CNS diseases
Galactose	Asialoglycoprotein receptor	Hepatocyte cells	Liver disease
<i>hormone</i> EGF	EGF receptor	Cancer cells	Cancer
tuftsin	Tuftsin receptor	Macrophages of MPS	Infectious disease

=> Cibler récepteur « spécifique » ou plutôt surexprimé par cellules cibles pour entrer ou traverser cellules

Formes vectorisées de 3^{ème} génération

Exemple de recherche :

Nanoparticules de chitosan-PEG-Anticorps anti récepteur transferrine pour traiter une maladie du système nerveux central



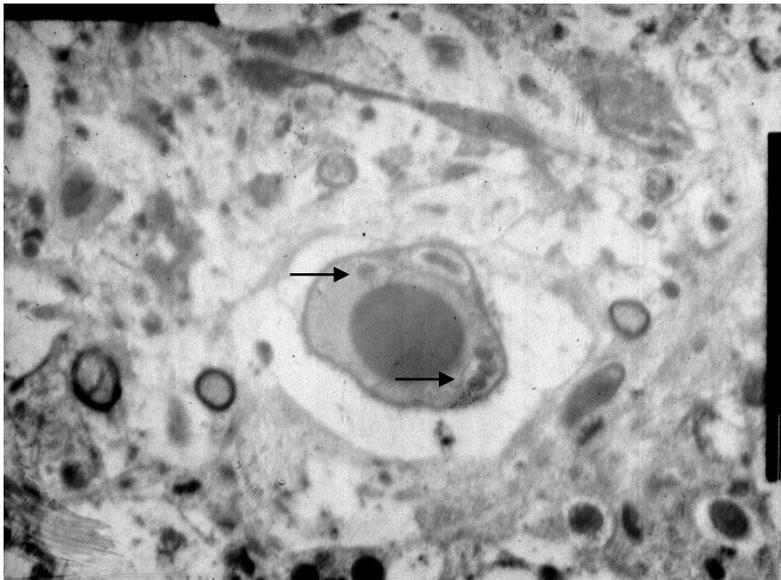
Formes vectorisées de 3^{ème} génération

Ciblage du cerveau

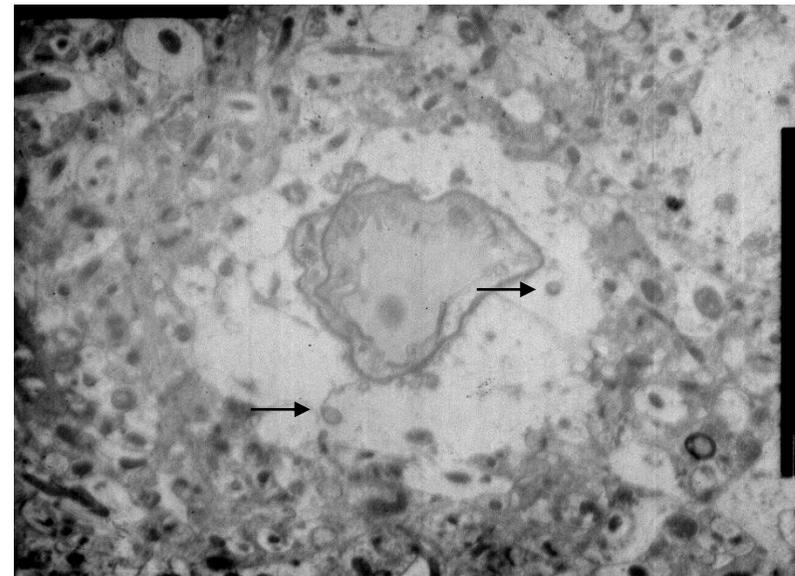
Aktas, et al. Bioconj. Chem. (2005).

Microscopie électronique à transmission

Cerveaux souris après injection IV des nanoparticules



NPs (flèches) dans l'endothelium des vaisseaux cérébraux (échelle x7,500)



NPs(flèches) dans l'interstitium cérébral (échelle x5,000)

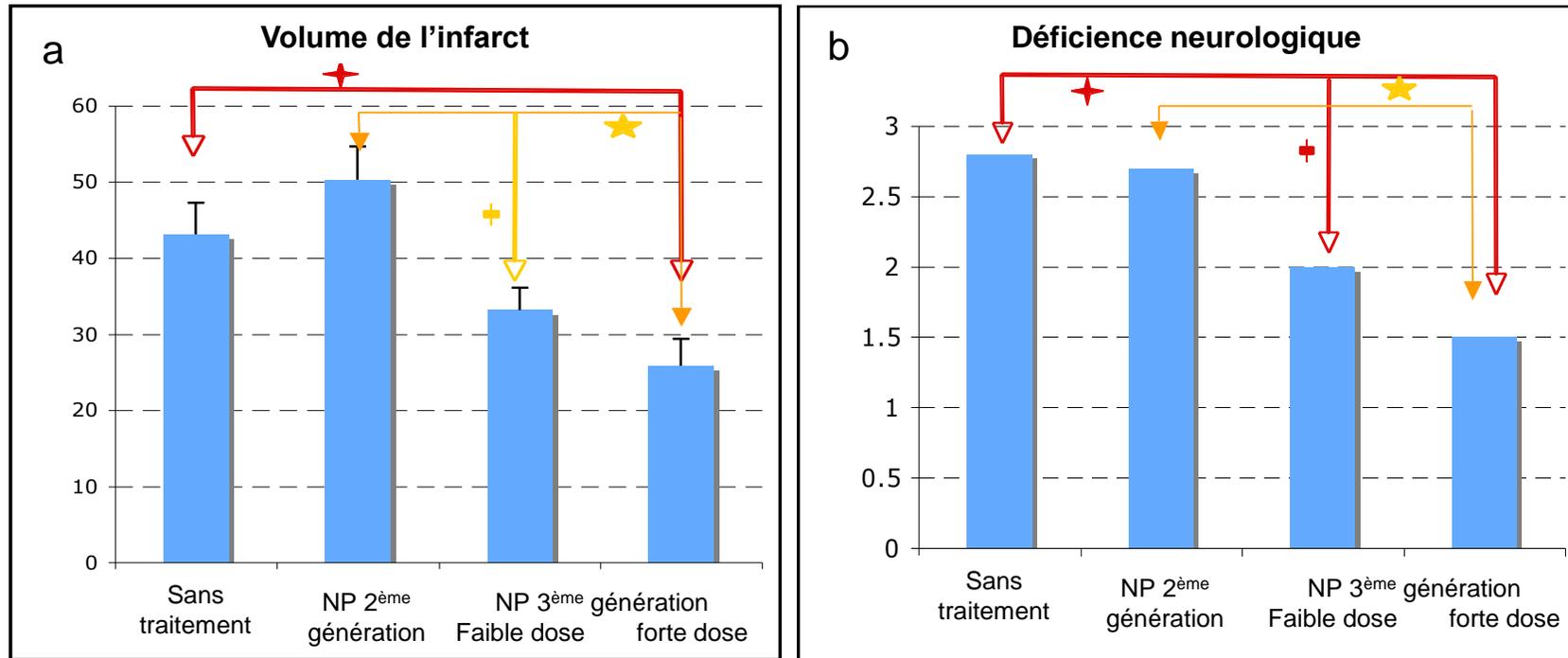
=> Ciblage actif des cellules de la BHE et passage dans cerveau

Formes vectorisées de 3^{ème} génération

Efficacité sur un modèle animal d'AVC

Souris soumise à un AVC. Injection IV des nanoparticules

Karatas et al. J. Neurosci., (2009)



Seules les NPs de 3^{ème} génération réduisent le volume de l'infarct et la déficiencia neurologique. Effet dose dépendant.

Applications

Voie intraveineuse

- Les vecteurs colloïdaux pour maîtriser la distribution tissulaire des PA
- Les vecteurs colloïdaux pour contrôler le ciblage cellulaire des PA

Voie orale

- Les vecteurs colloïdaux pour l'administration orale de PA :
 - => formes bioadhésives
 - => meilleure absorption

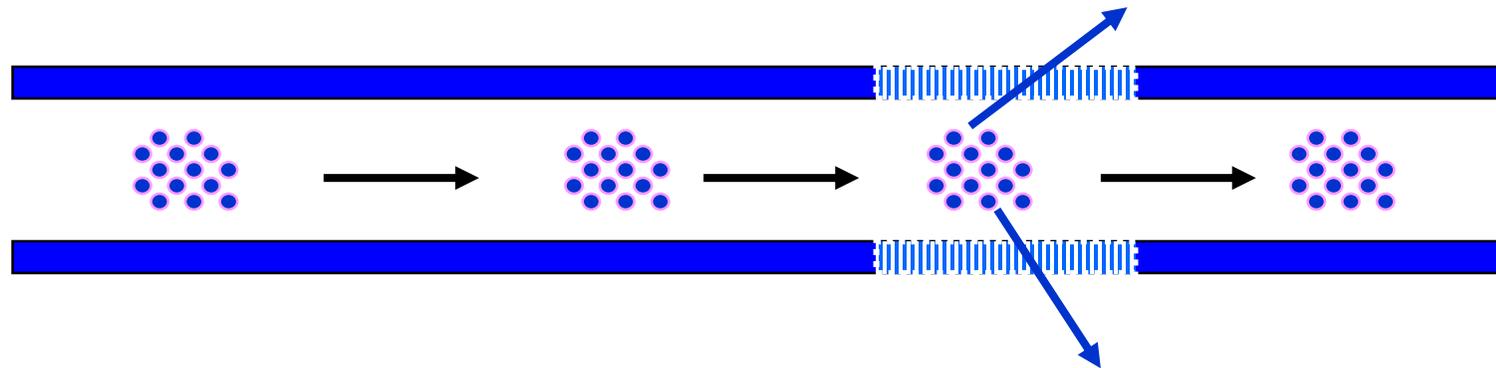
Administration locale

- Les vecteurs colloïdaux pour l'administration locale de PA

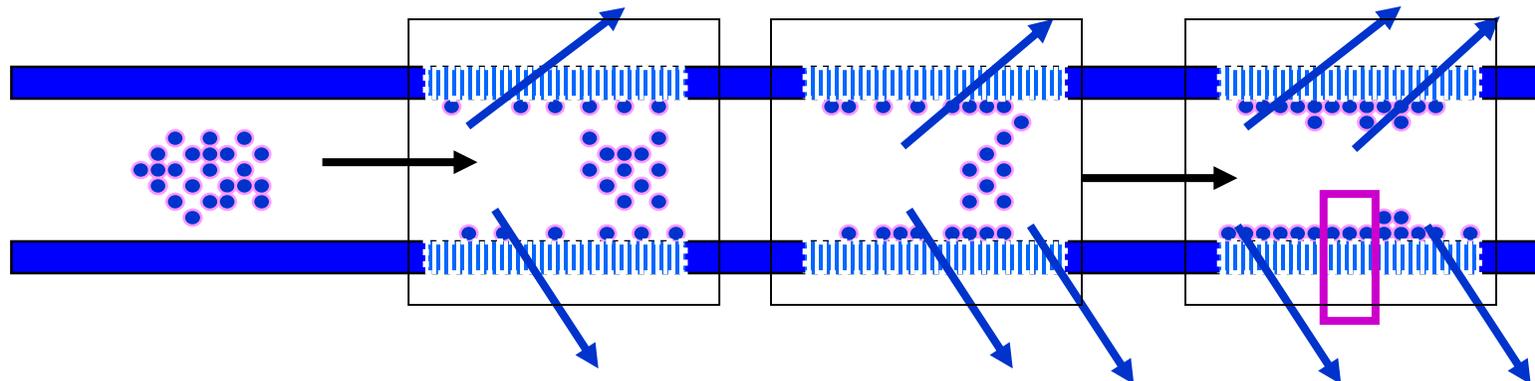
BIOADHESION ET VOIE ORALE

Ponchel et al., Adv. Drug Deliv. Rev., 1998

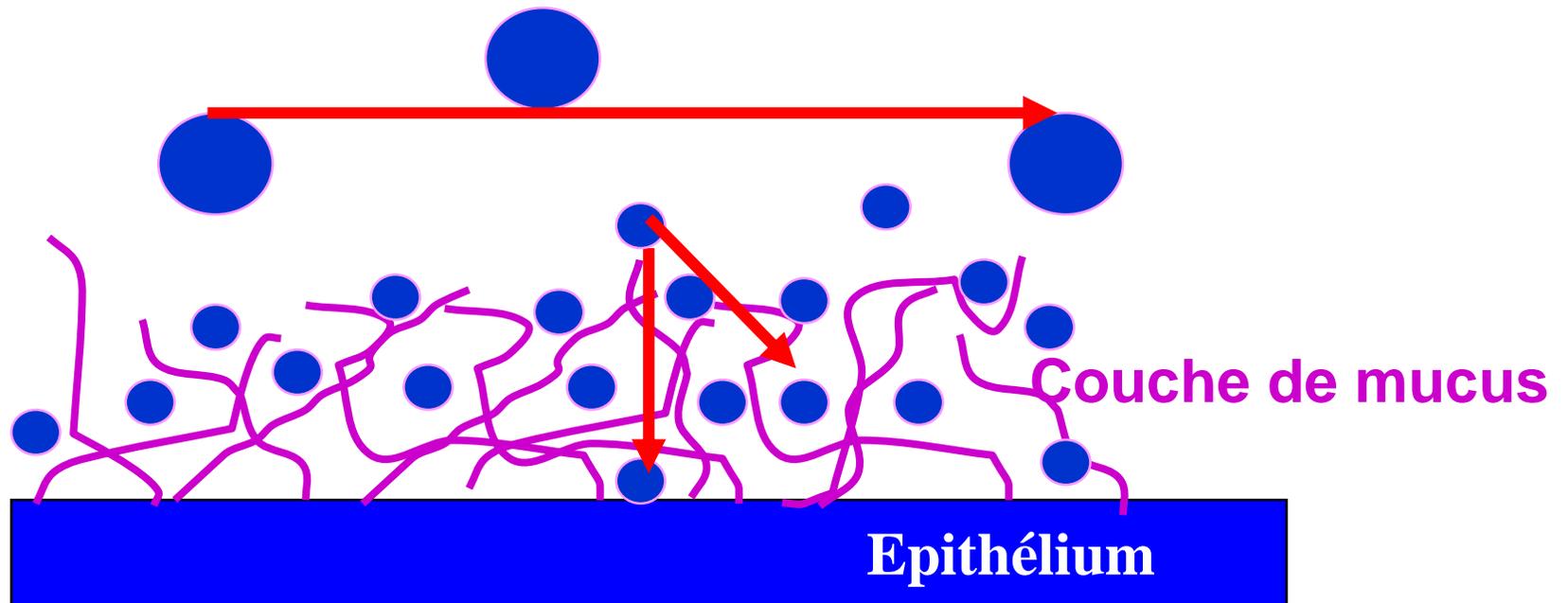
1. TRANSIT INTESTINAL NORMAL



2. PRINCIPE DE LA BIOADHESION: RALENTIR LE TRANSIT

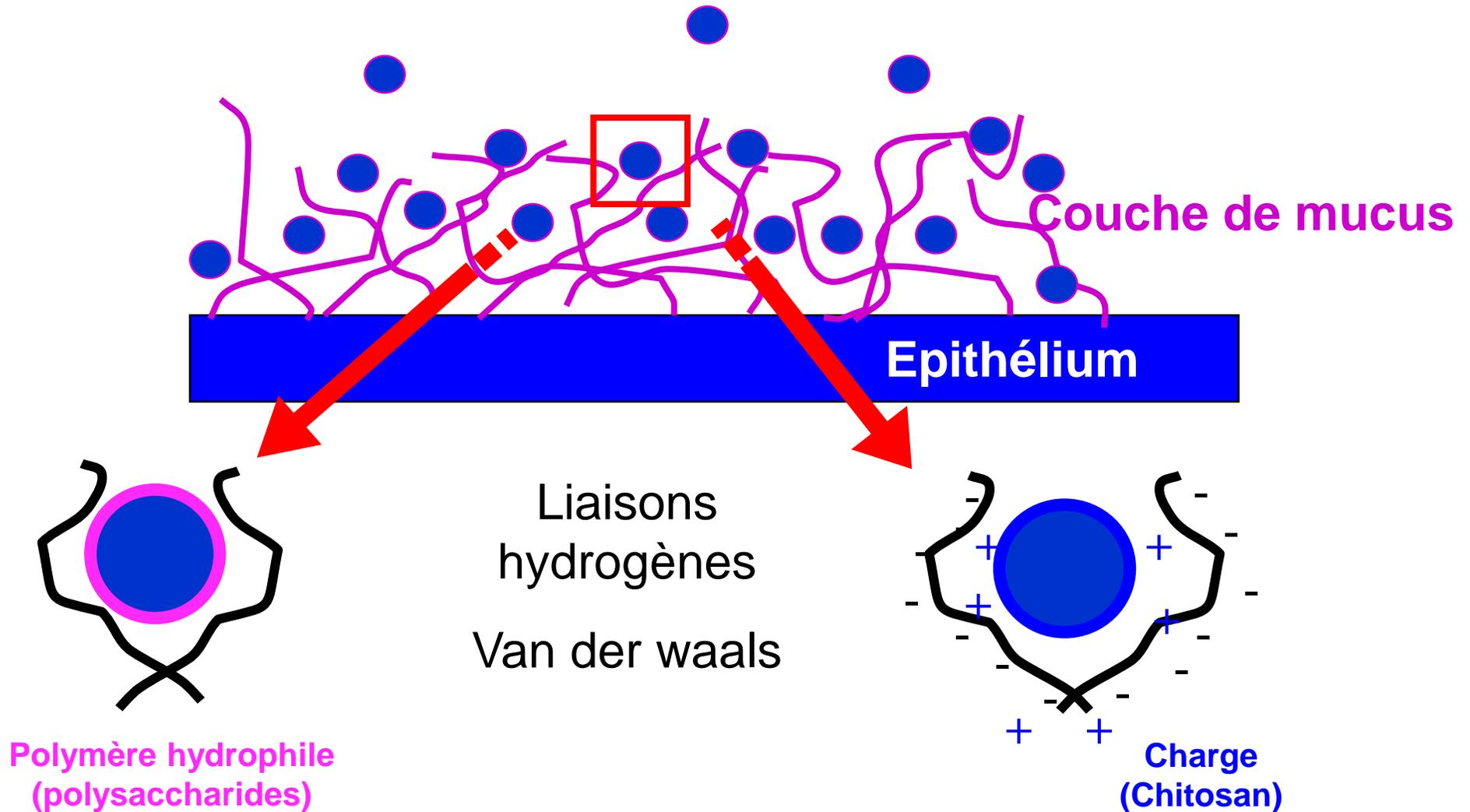


MUCOADHESION DES NANOPARTICULES

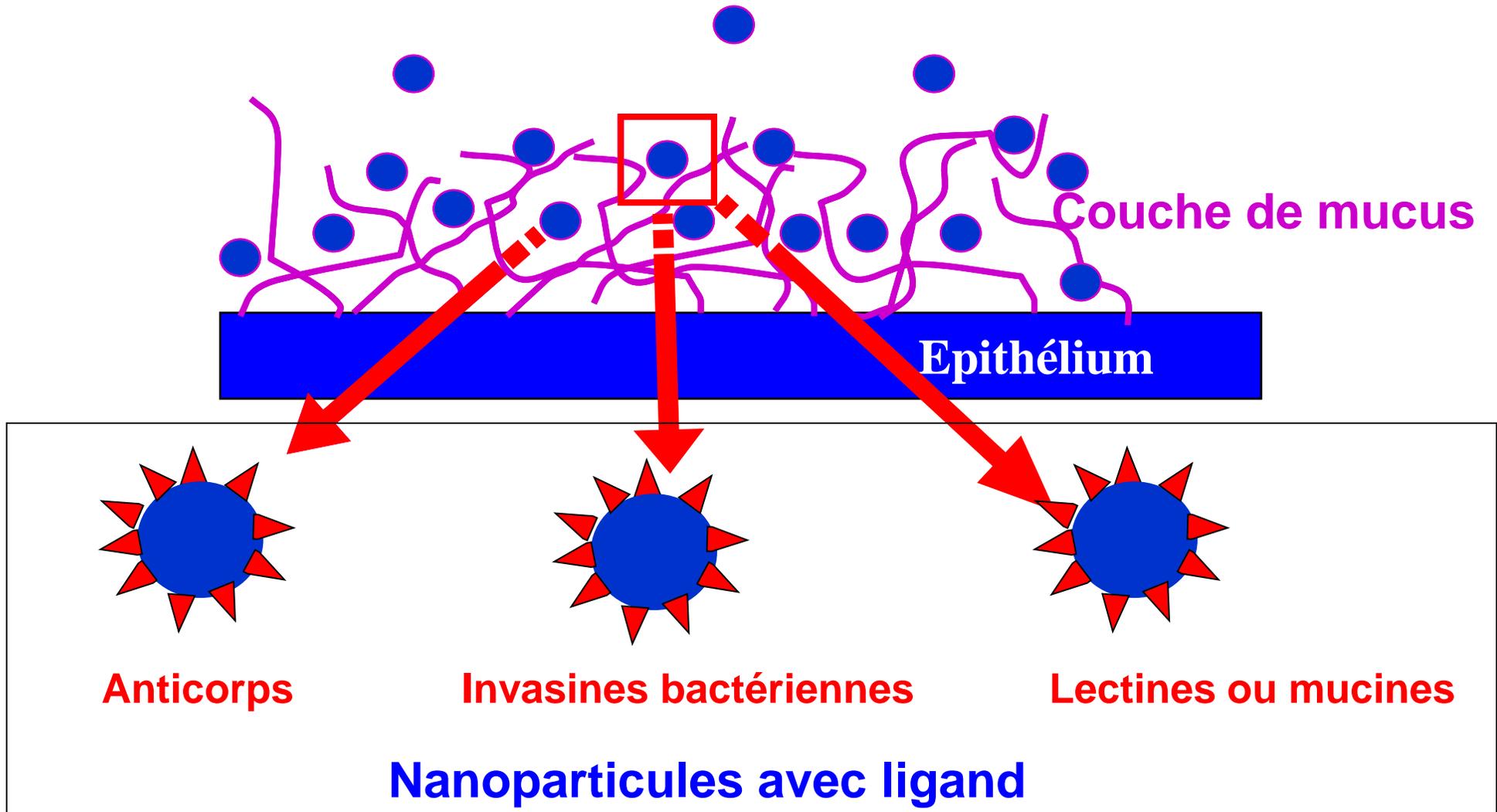


Seules les nanoparticules de taille $< 1 \mu\text{m}$ peuvent pénétrer le mucus et adhérer à la paroi intestinale

MUCOADHESION non spécifique



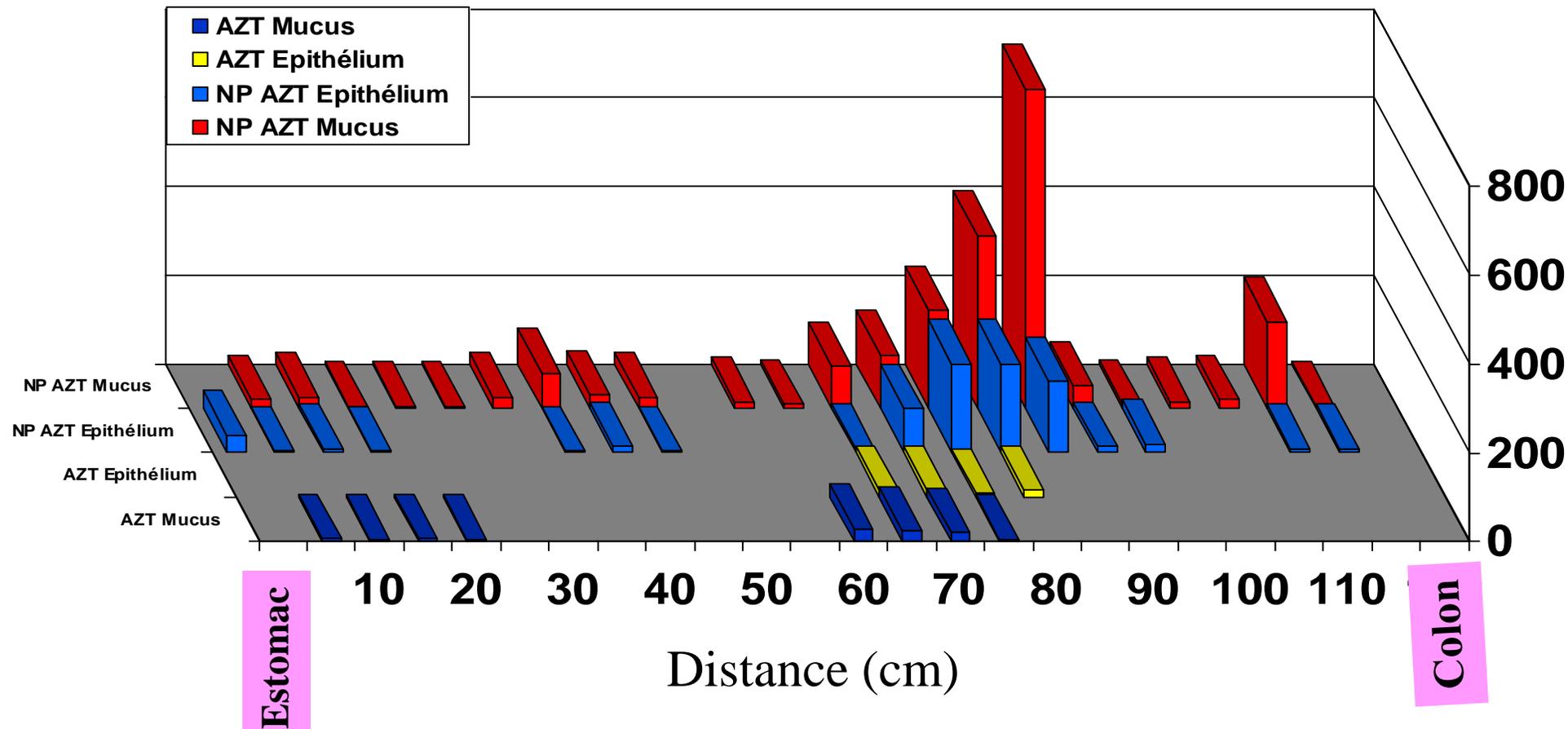
MUCOADHESION spécifique



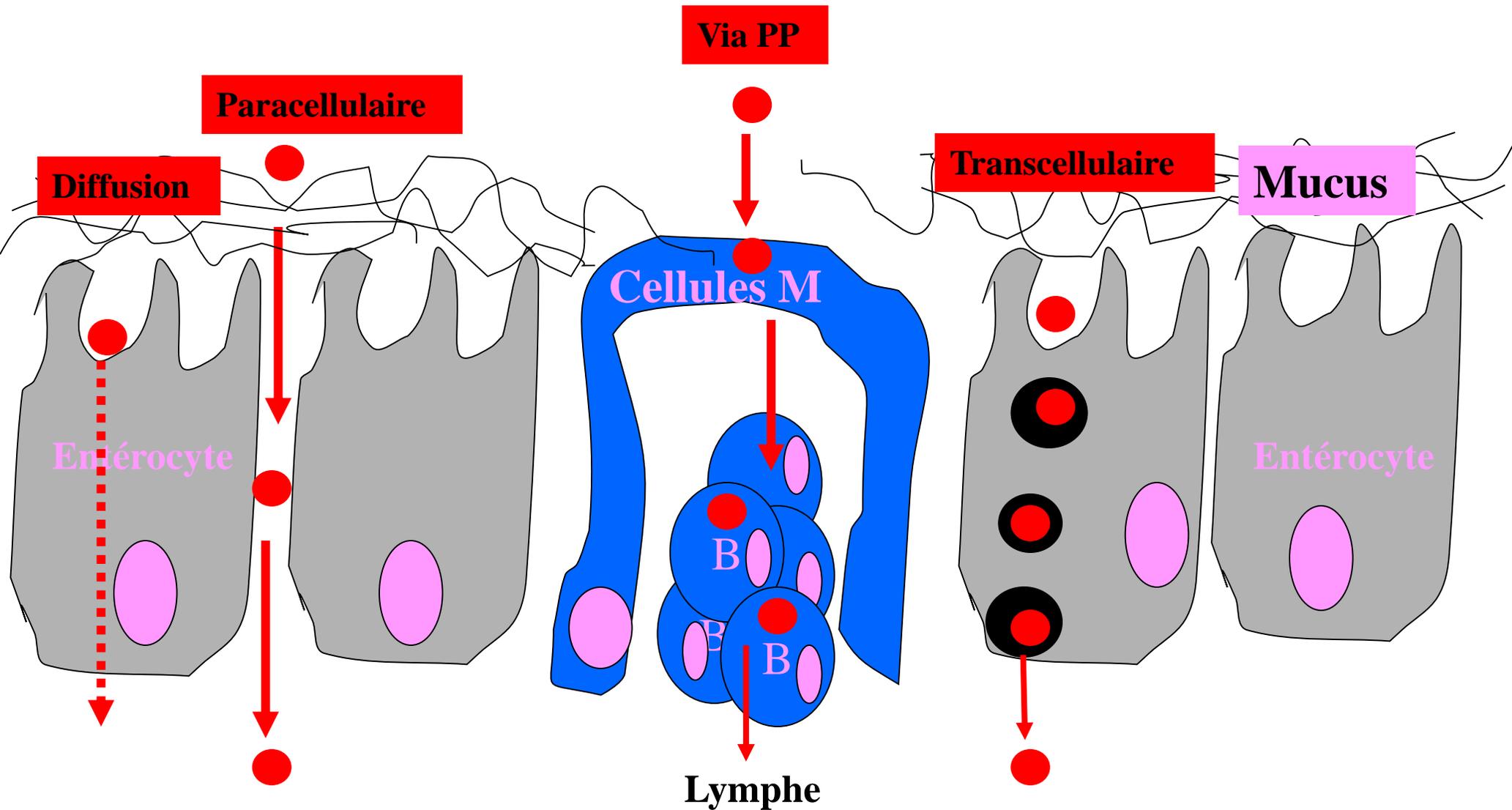
DISTRIBUTION SPATIALE DE L'AZT LIBRE OU SOUS FORME DE NANOPARTICULES LE LONG DU TUBE DIGESTIF (90 min.)

Nanoparticules de 250 nm biodégradables => adhésion à la muqueuse

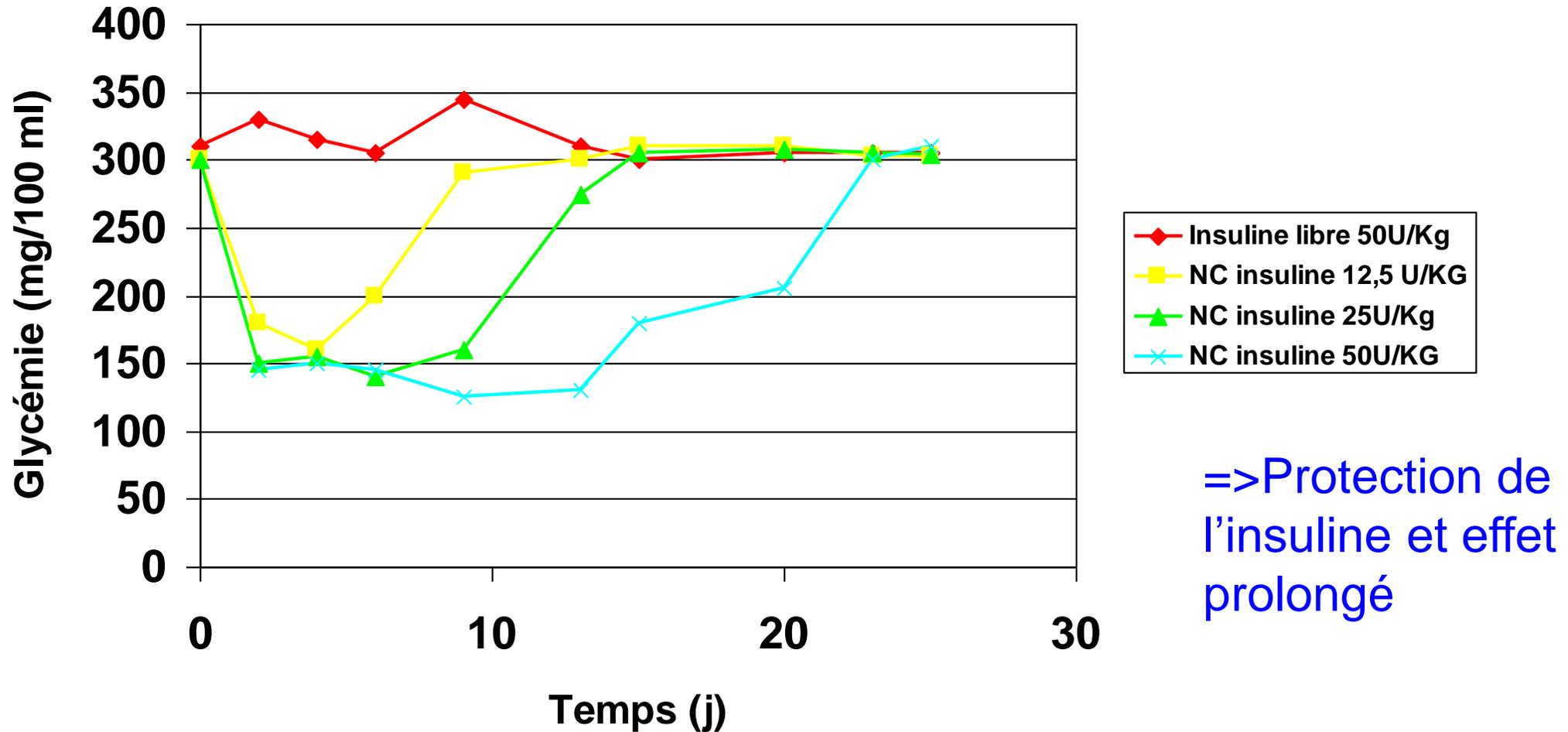
A. Dembri, M-J Montisci, JC Ganthier, H. Chacun, G. Ponchel, Pharm. Res., 2001



VOIES DE TRANSLOCATION DES NANOPARTICULES



NANOPARTICULES (220 nm) D'INSULINE ADMINISTREES PAR VOIE ORALE (rat diabétique)



Applications

Voie intraveineuse

- Les vecteurs colloïdaux pour maîtriser la distribution tissulaire des PA
- Les vecteurs colloïdaux pour contrôler le ciblage cellulaire des PA

Voie orale

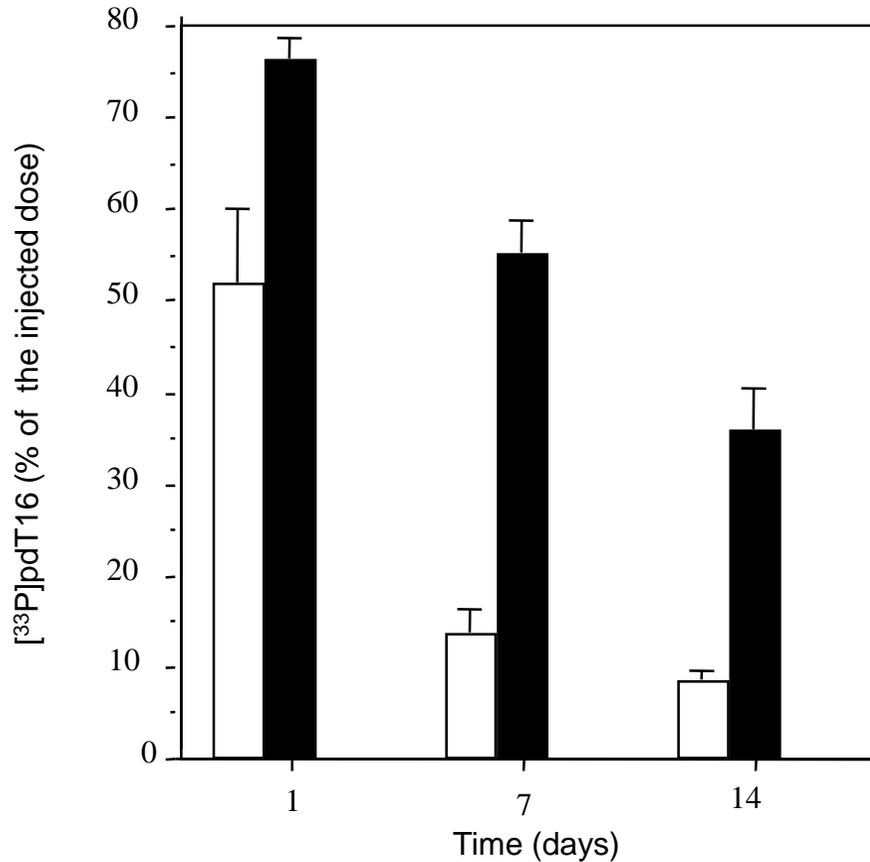
- Les vecteurs colloïdaux pour l'administration orale de PA :

Administration locale

- Les vecteurs colloïdaux pour l'administration locale de PA :
 - => formes à libération prolongée et/ ou bioadhésives
 - => travaux de recherche en cours

ADMINISTRATION INTRAVITREALE DE COURTS FRAGMENTS D'ACIDE NUCLEIQUES (ODN modèle radiomarqué dans liposomes IIème génération)

Distribution de l'ON dans l'œil
sous forme de solution □ ou de liposomes ■



Analyse de l'ON intact dans le vitré par
Hybridation Compétitive

Formulation	pdT16 intact (% of the injected dose)	
	1 day	14 days
Solution	0.76 ± 0.02	0.47 ± 0.1
Liposomes	52.2 ± 7.5	37.25 ± 9

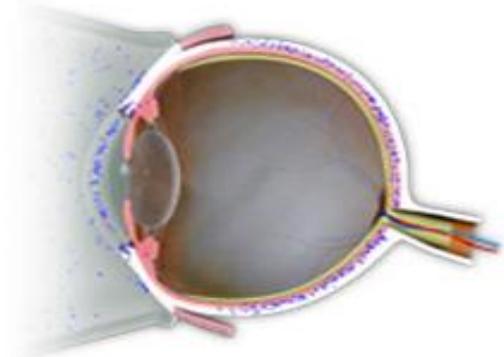
A. Bochot, et al., IOVS, 2002

Les liposomes permettent de protéger l'oligonucléotide dans l'œil et de le libérer de façon prolongée.

Formes vectorisées pour action locale

Systèmes à base d'ultrasons : SonoEye® Société Seagull technologies

- Gels libérant des nanoparticules de PA sous l'effet des ultrasons
- **Application** non invasive au niveau de l'œil pour atteindre le fond de l'œil et la rétine
- **Indication** : Traitement de la dégénérescence maculaire liée à l'âge
- Alternative aux injections intravitréennes (traumatisantes) toutes les 4 semaines



CONCLUSION

Les vecteurs colloïdaux permettent une protection, une libération prolongée et une modification de la biodistribution des principes actifs et peuvent cibler certains tissus ou cellules et ainsi améliorer l'index thérapeutique.