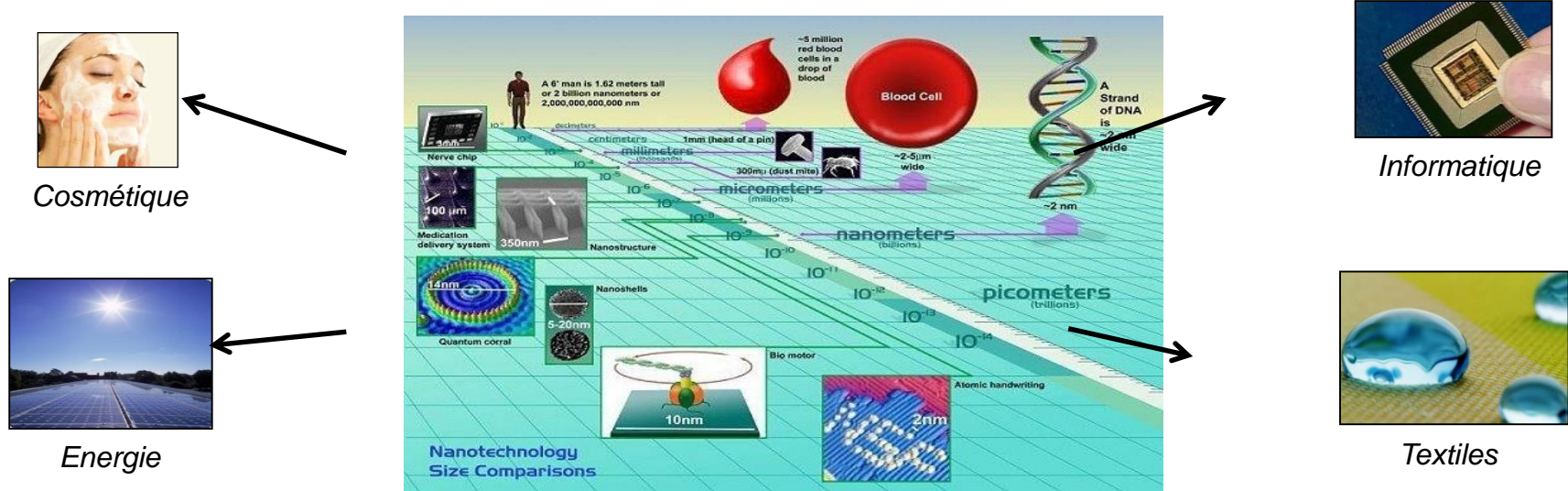


# Nanotechnologies et santé

Karine Andrieux

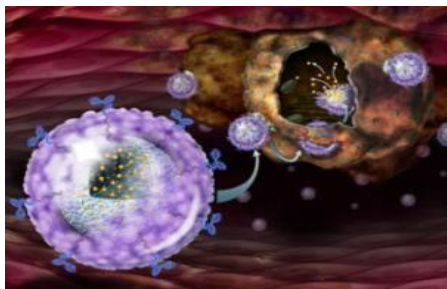
Université Paris Descartes, France  
karine.andrieux@parisdescartes.fr

# Applications des Nanoparticules

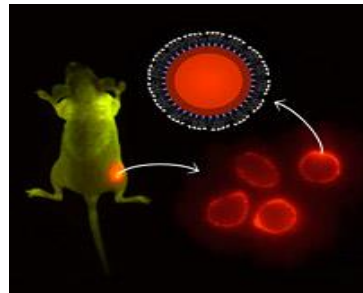


**Nanomédecine:** la surveillance, la réparation, la construction et le contrôle de systèmes biologiques humains au niveau moléculaire en utilisant des systèmes nanométriques

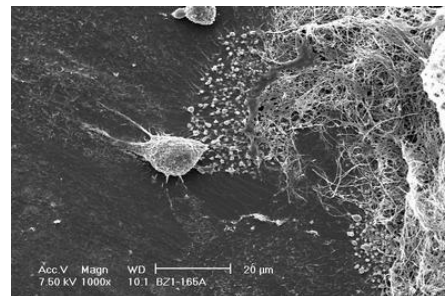
## Applications



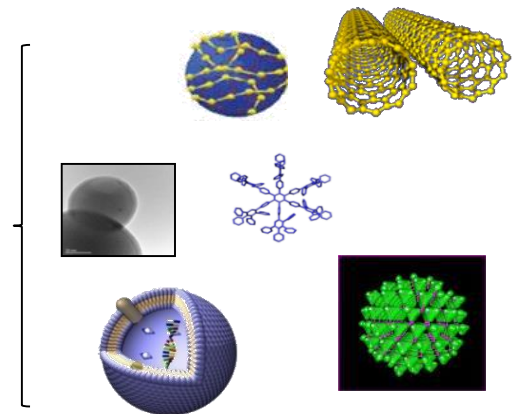
Vectorisation de principes actifs



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

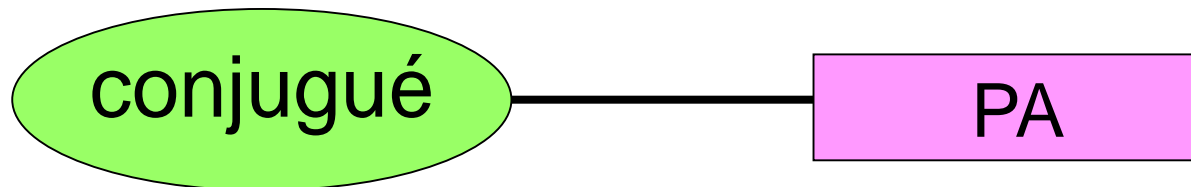
- **Définition** : La vectorisation est une opération qui consiste à **moduler** et si possible totalement **contrôler** la **distribution** d'un principe actif en l'associant à un vecteur.
- **Principes actifs concernés** :
  - $\frac{1}{2}$  vie plasmatique faible
  - Principe actif mal distribué
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

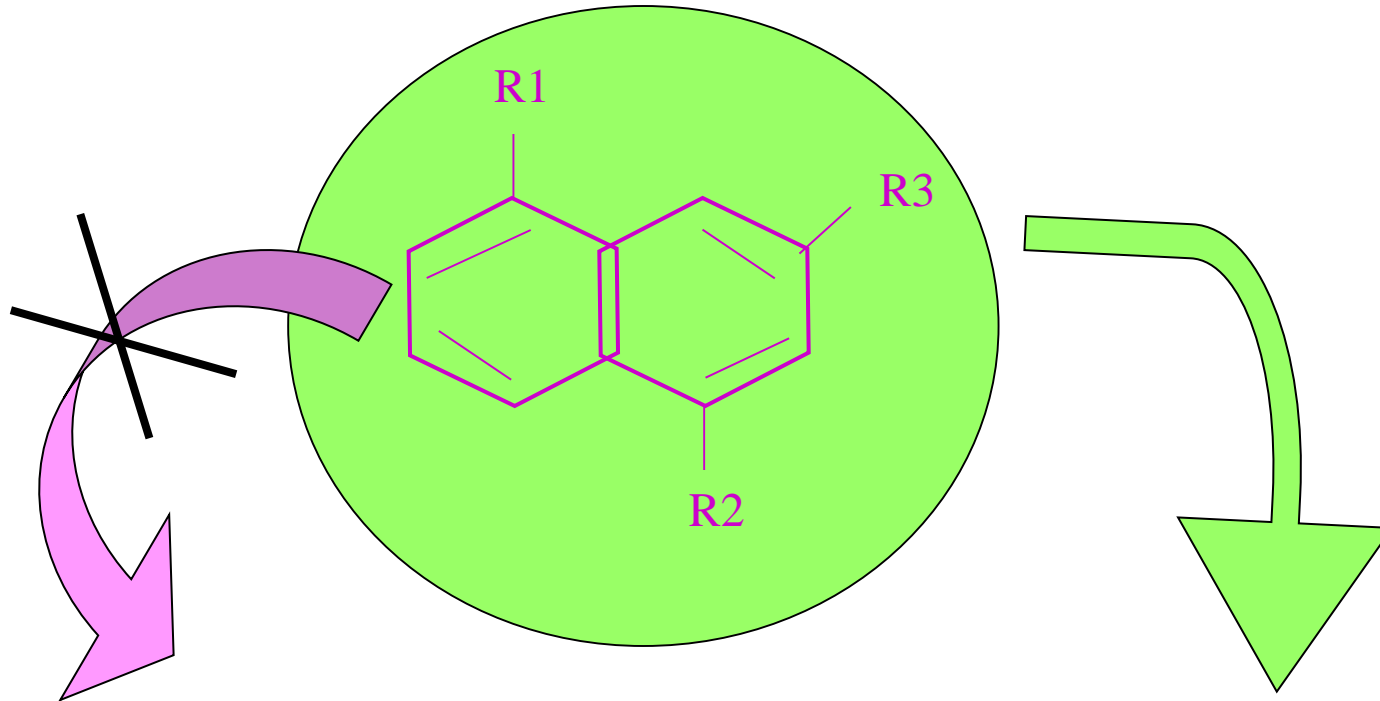


- **Vectorisation particulaire**

- Conception par la Pharmacie galénique

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

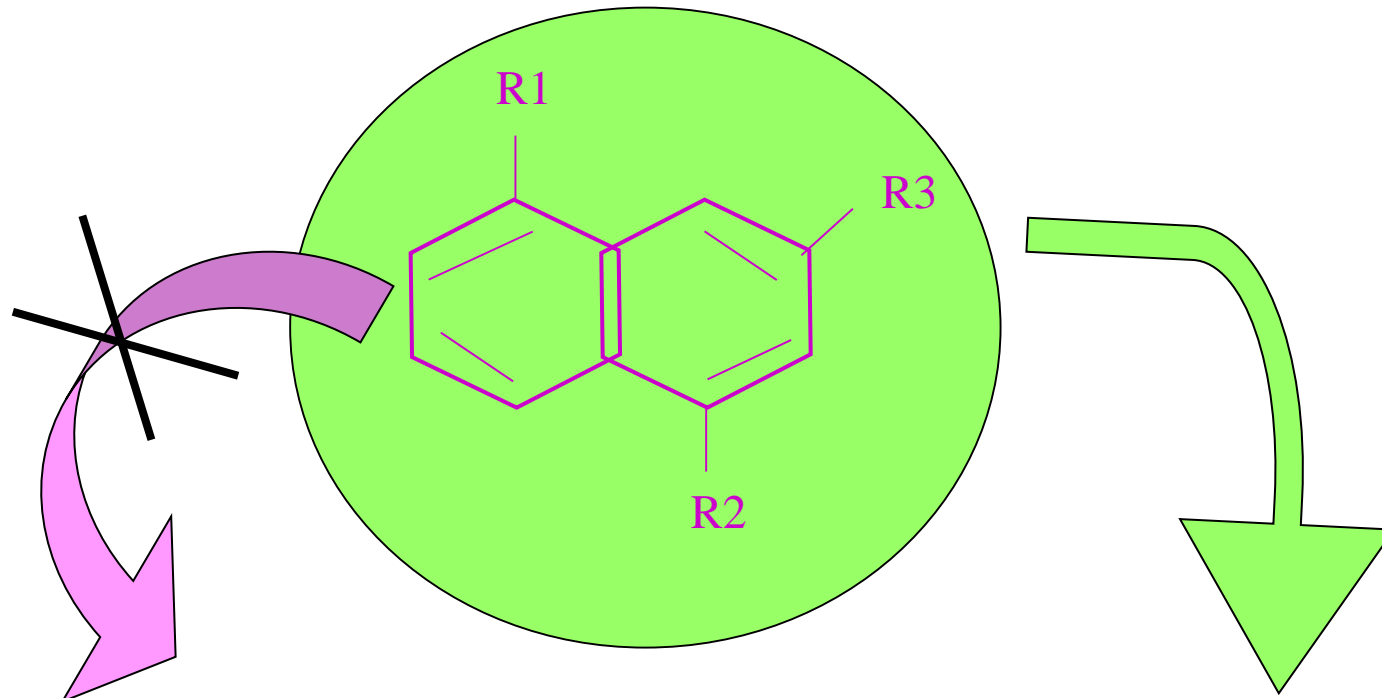
# Principe de la vectorisation particulière



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

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

# Intérêt de la vectorisation particulière



**Diminution des effets  
secondaires**

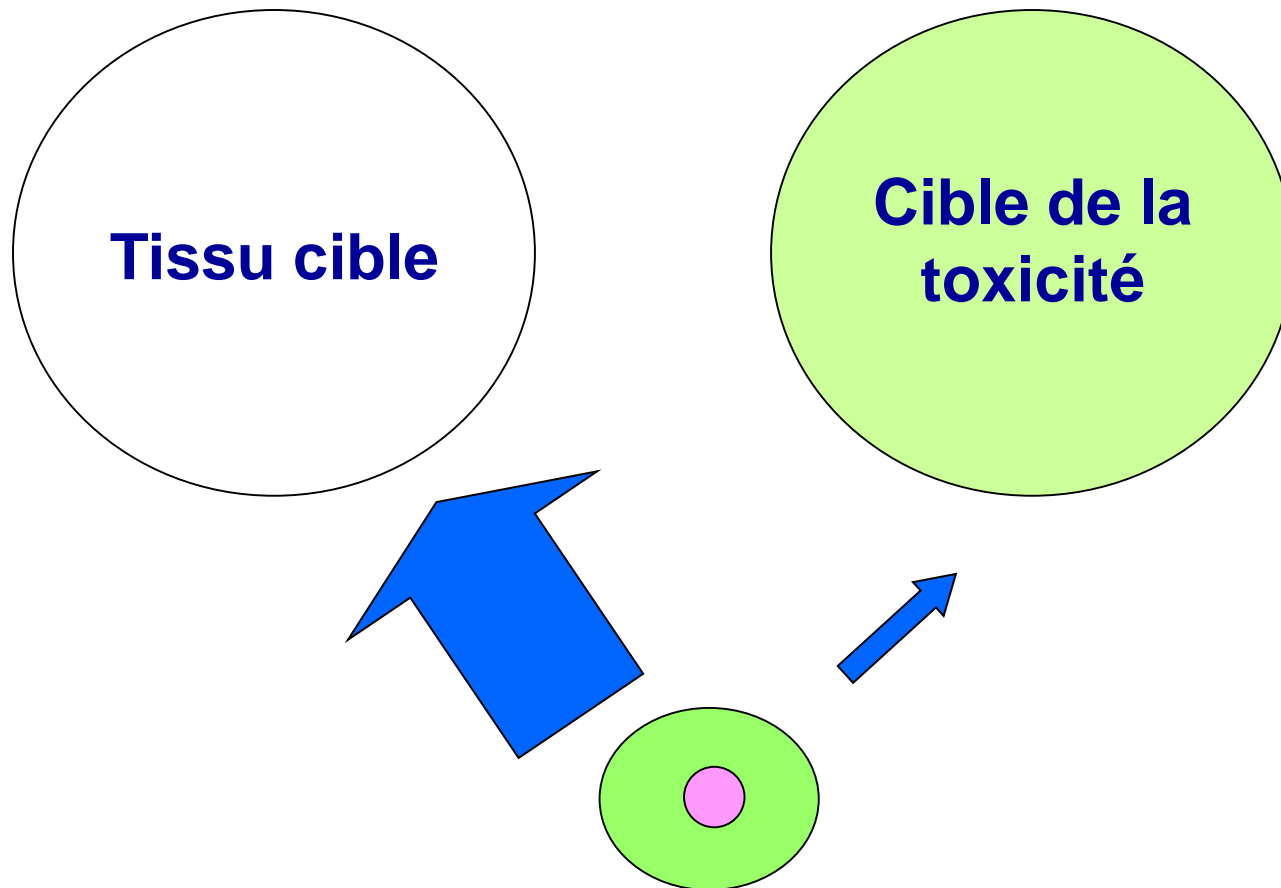
**Augmentation de l'efficacité  
au site d'action**

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



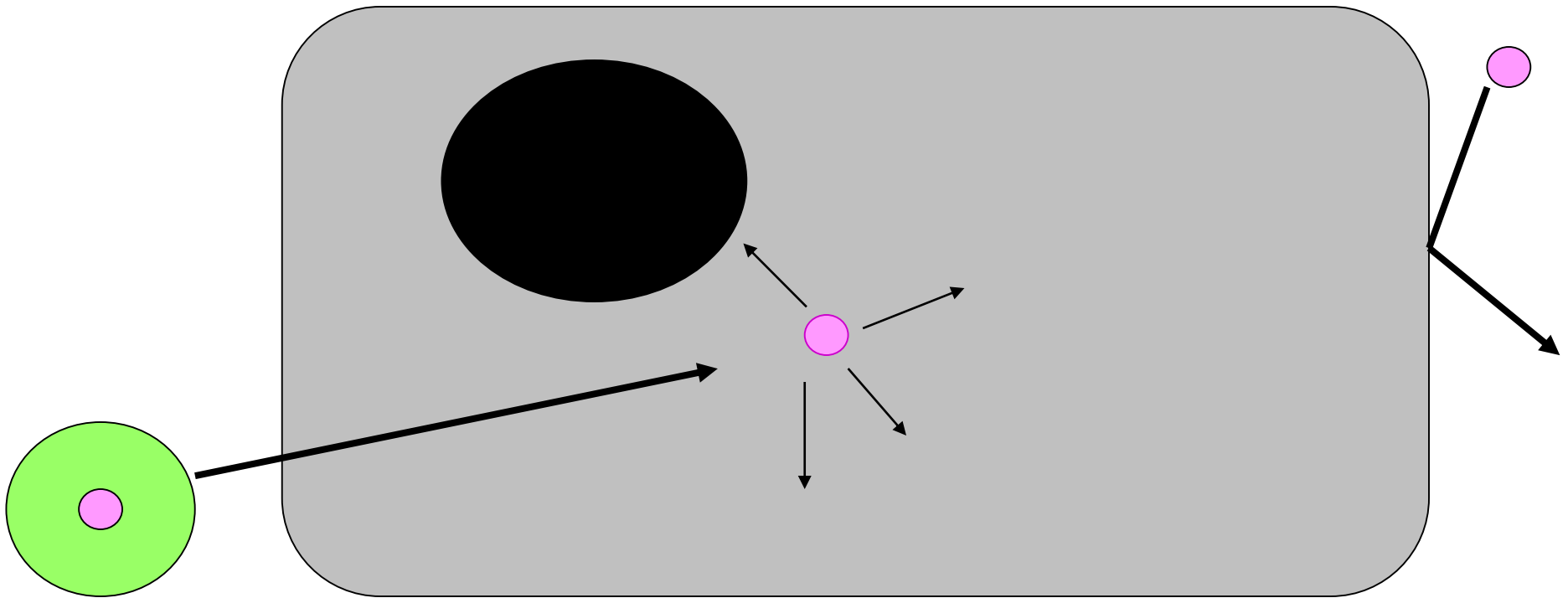
# Effets de la vectorisation:

Ciblage et réduction des effets secondaires et de la toxicité



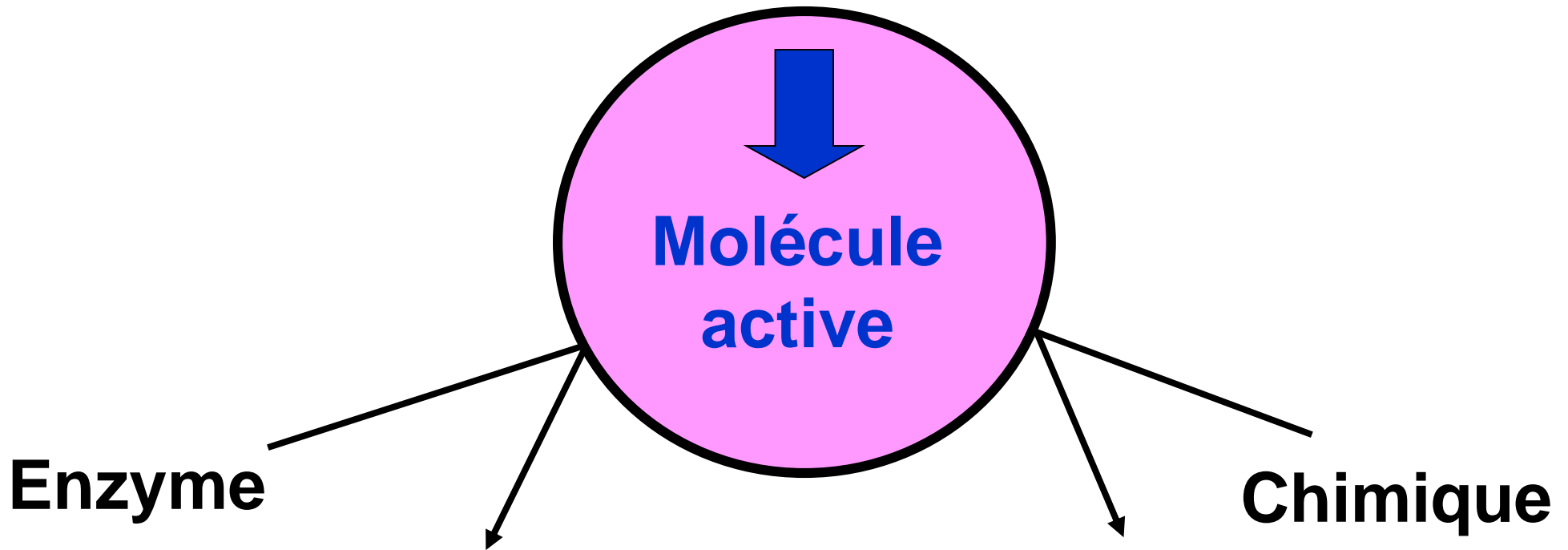
# Effets de la vectorisation

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



# Effets de la vectorisation

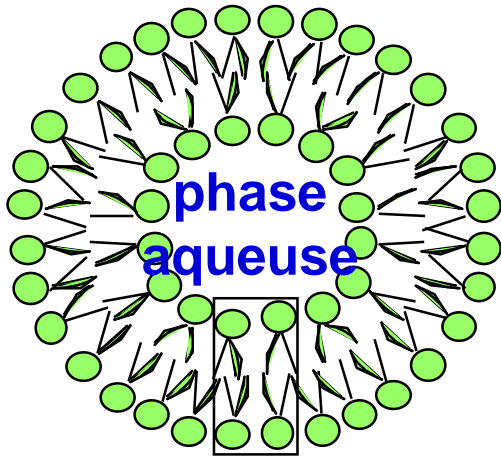
Protection contre la dégradation  
enzymatique ou chimique



# Vecteurs colloïdaux principaux

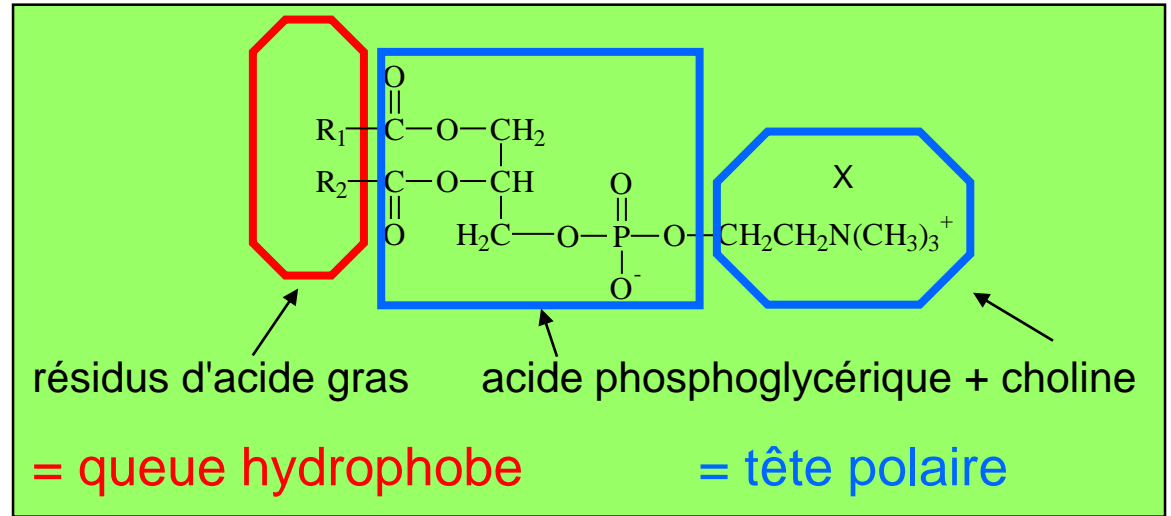
Constituant principal : PHOSPHOLIPIDE

Exemple : phosphatidylcholine



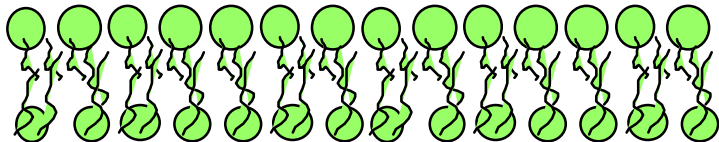
Phospholipides

Liposomes

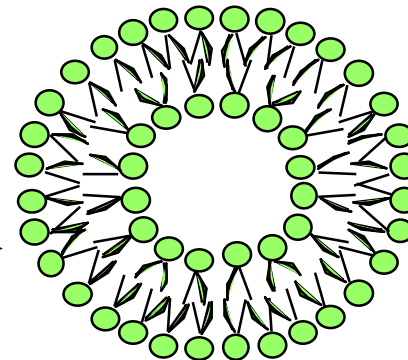


• Assemblage dans l'eau :

lamelles



Energie



liposomes ou  
vésicules

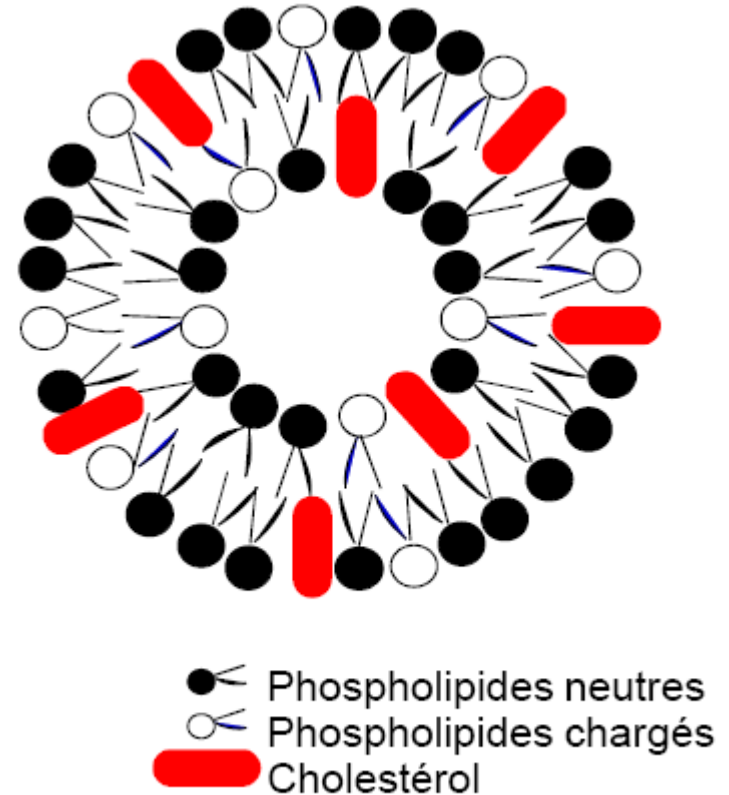
# Liposomes

## Amphiphiles formant des liposomes:

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

## Autres composés:


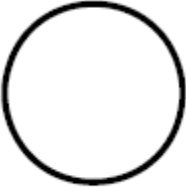


- Cholestérol
- Phospholipides chargés
- Alpha tocophérol



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

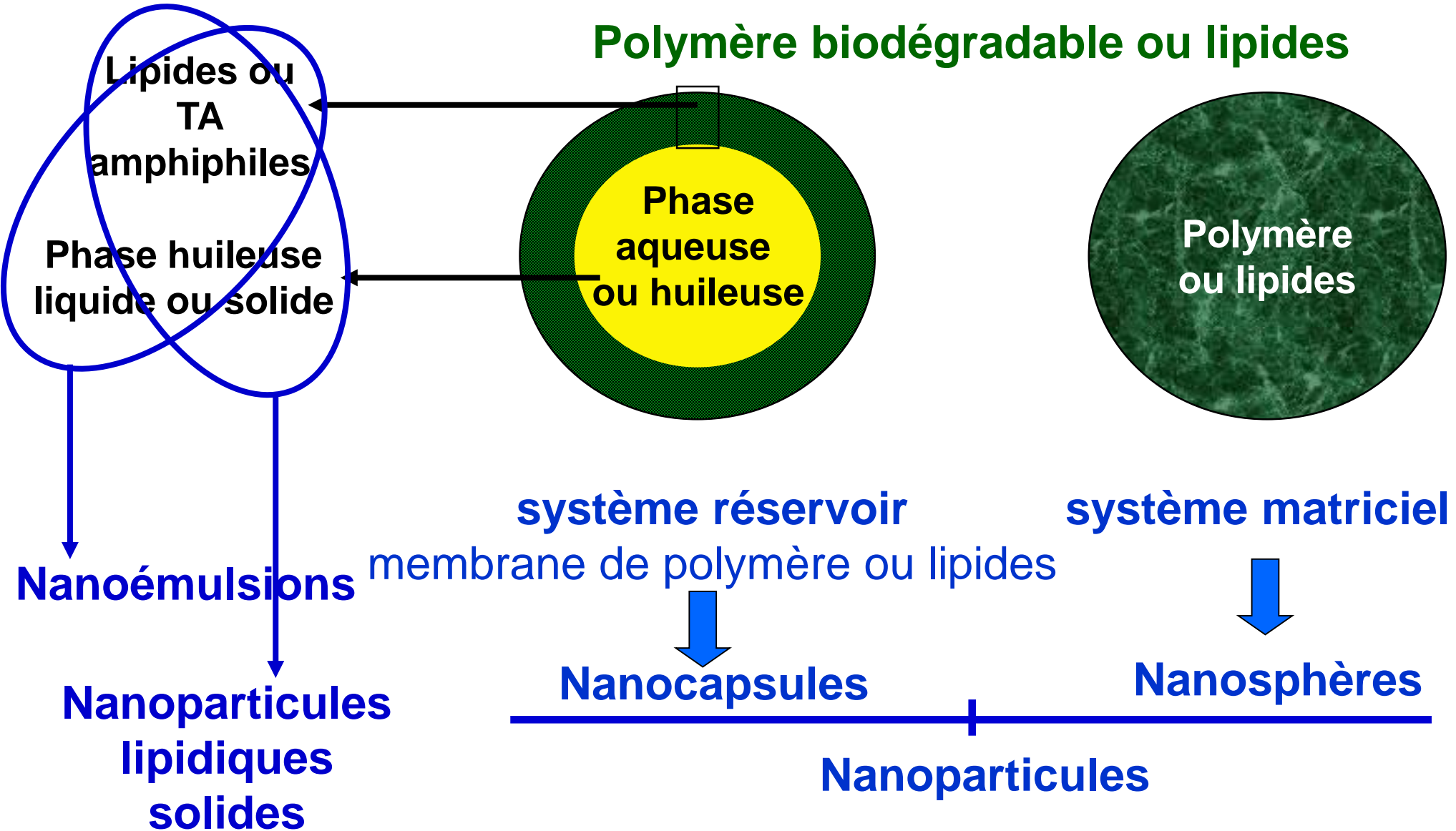
# Liposomes

## Différentes morphologies

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

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

# Vecteurs colloïdaux principaux

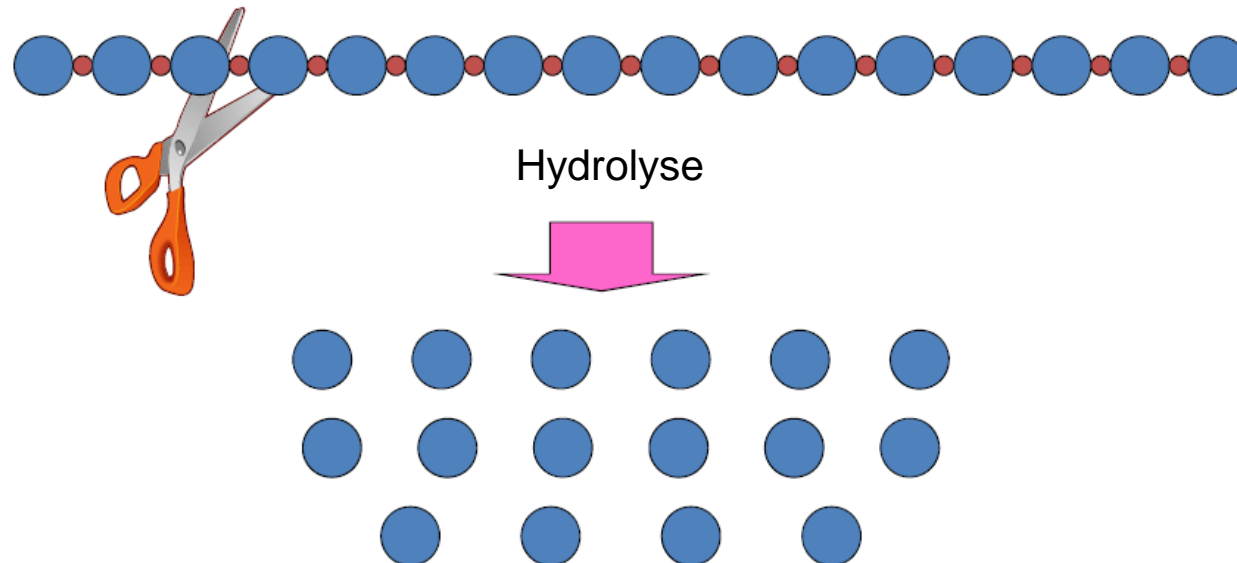


TOUS appelés nanoparticules (même liposomes)

# Nanoparticules polymériques

## • Polymères biodégradables :

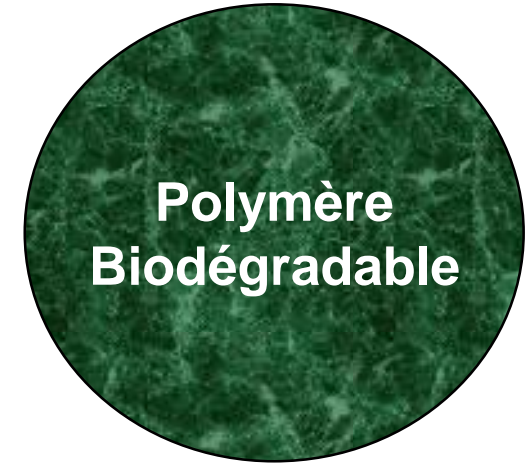
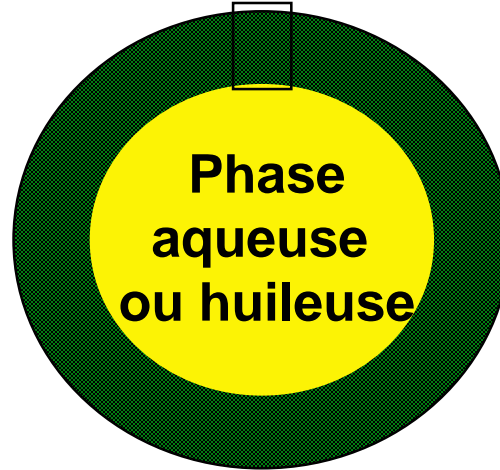
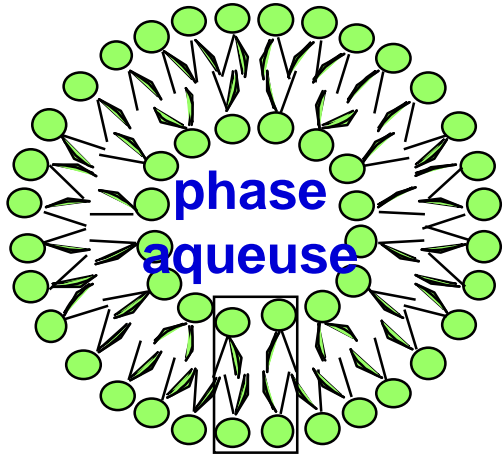
|               |   |                              |
|---------------|---|------------------------------|
|               | <b>Alginate</b>                           | <b>pH, enzymes, alginase</b> |
|               | <b>Collagène</b>                          | <b>Collagénase</b>           |
| <b>PLA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





# Vecteurs colloïdaux principaux

Polymère biodégradable ou lipide



Phospholipides

Liposomes

Nanocapsules

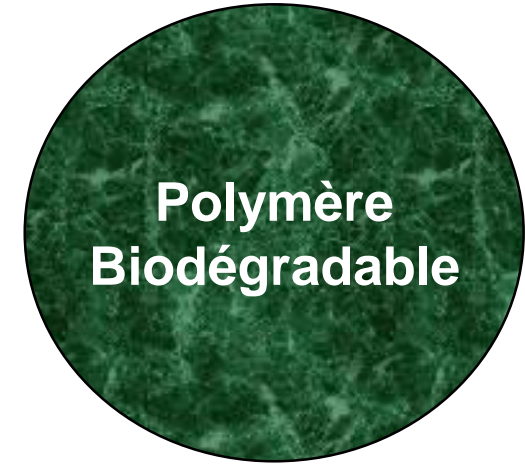
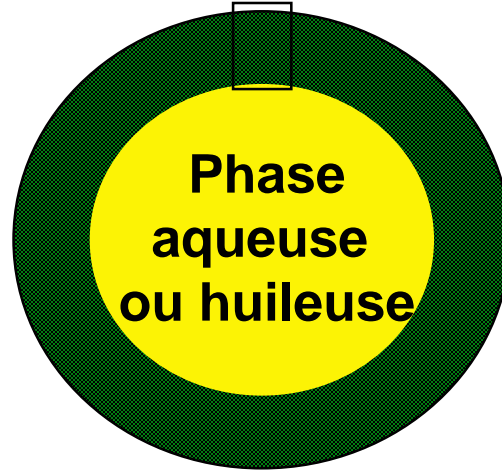
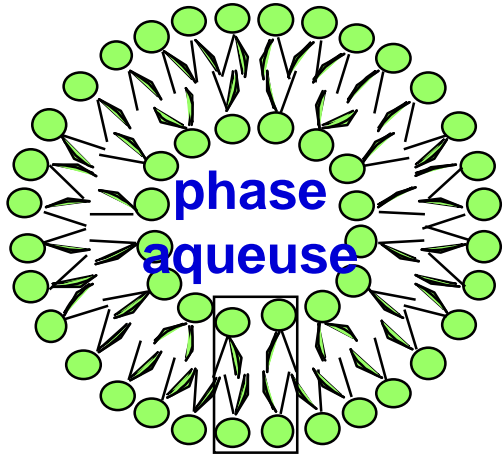
Nanosphères

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



# Vecteurs colloïdaux principaux

Polymère biodégradable ou lipide



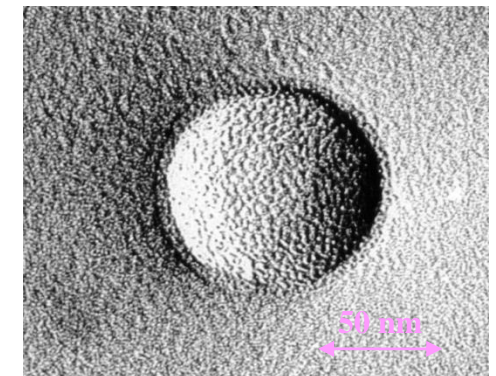
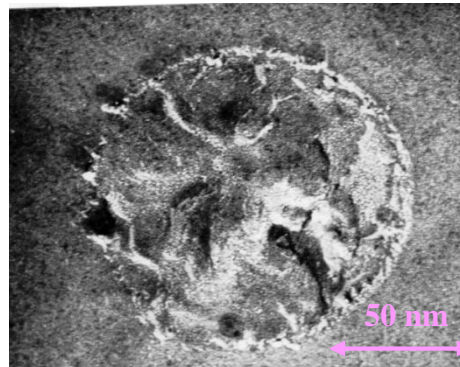
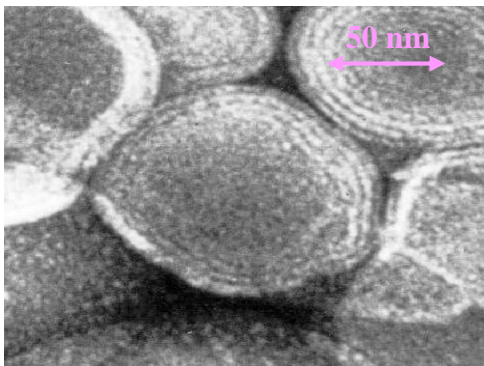
Phospholipides

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

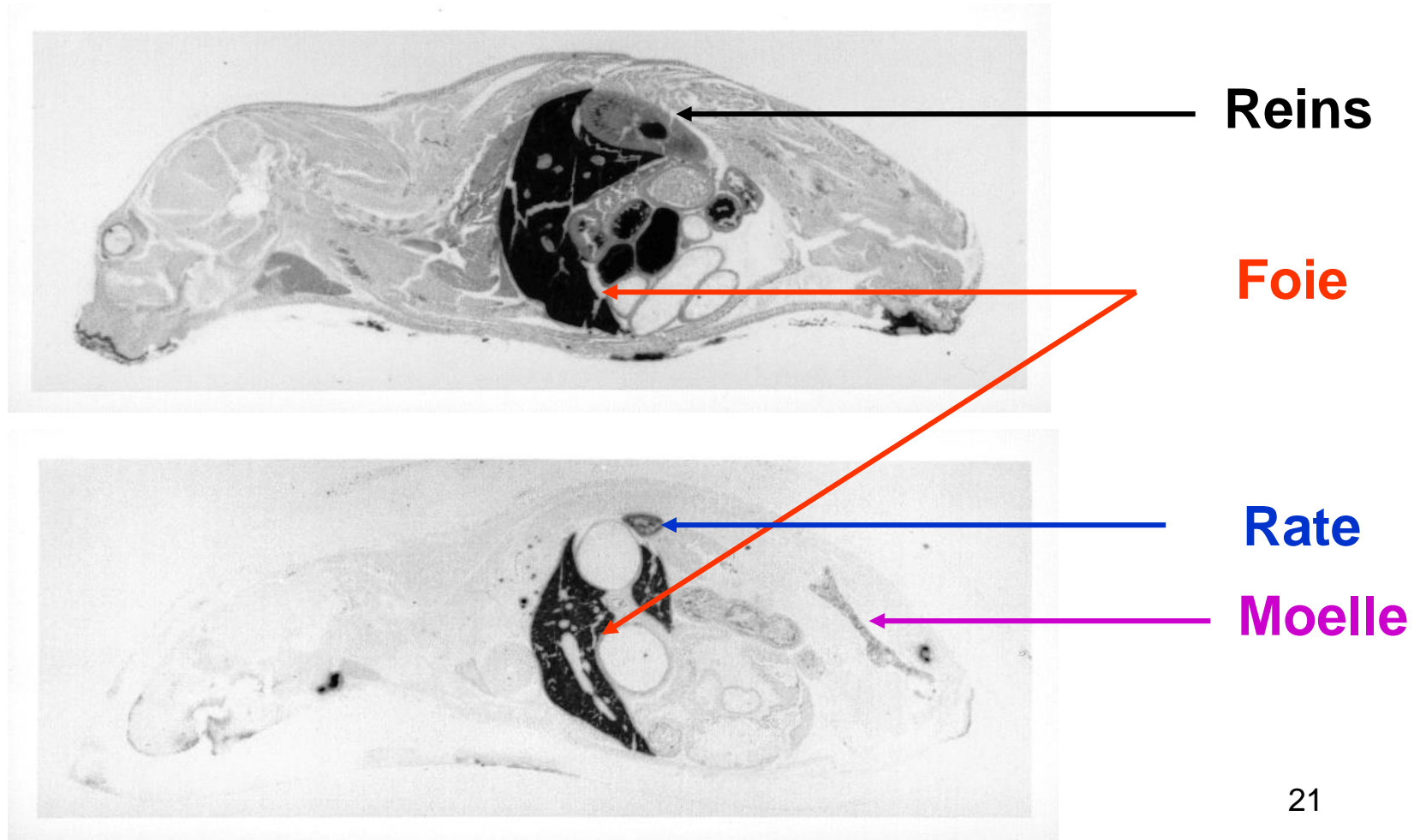
- Les vecteurs colloïdaux pour l'administration orale de PA

## Administration locale

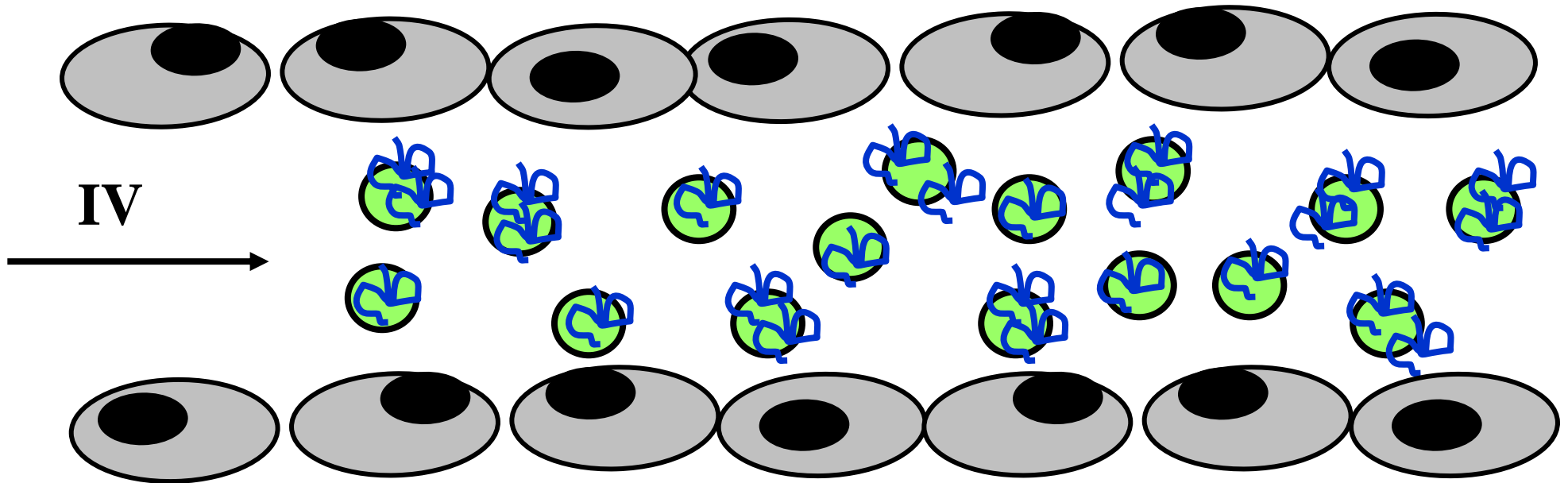
- Les vecteurs colloïdaux pour l'administration locale de PA

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

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

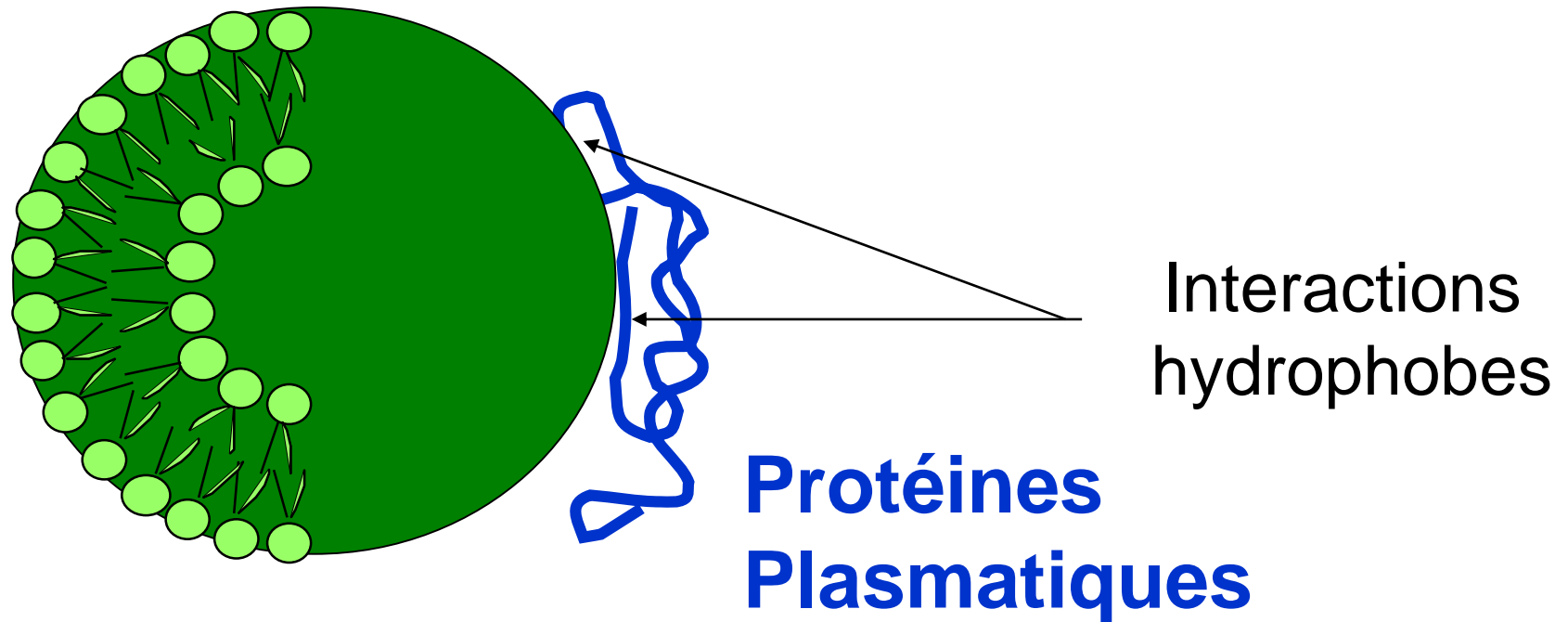


# Opsonisation des vecteurs de première génération après administration IV



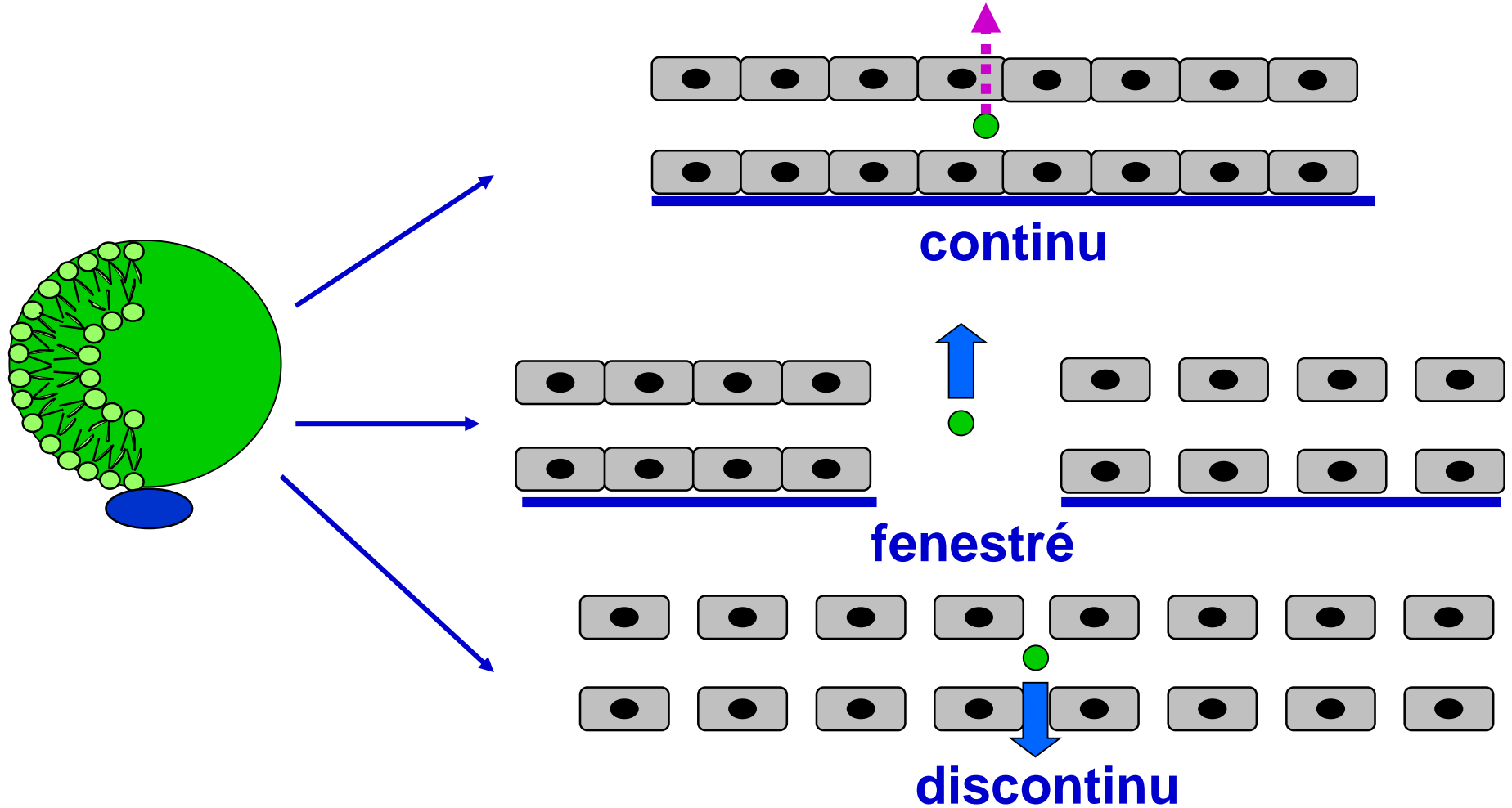
**OPSONINES**  
Fragment Fc des IgG,  
Fibronectine,  
éléments du complément

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



# Transport au travers des endothéliums

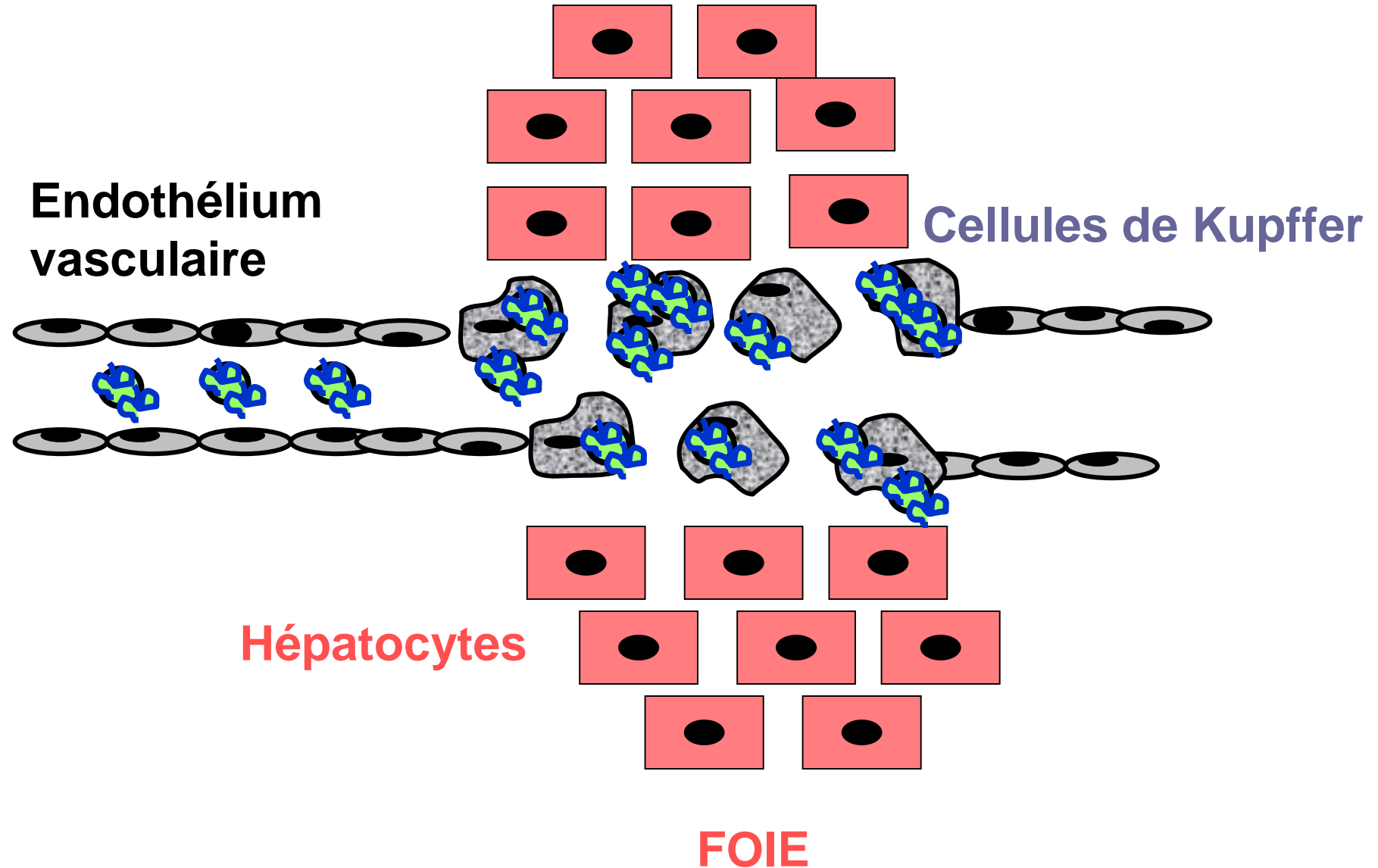
*Passage transcellulaire difficile, plus lent*



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



# Capture hépatique des vecteurs de 1ère génération



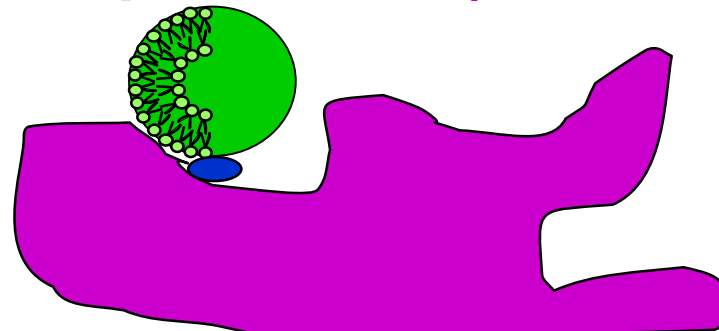
# Reconnaissance par le système des phagocytes mononucléés des vecteurs de 1<sup>ère</sup> génération



**Endothélium**

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

**compartiment vasculaire**

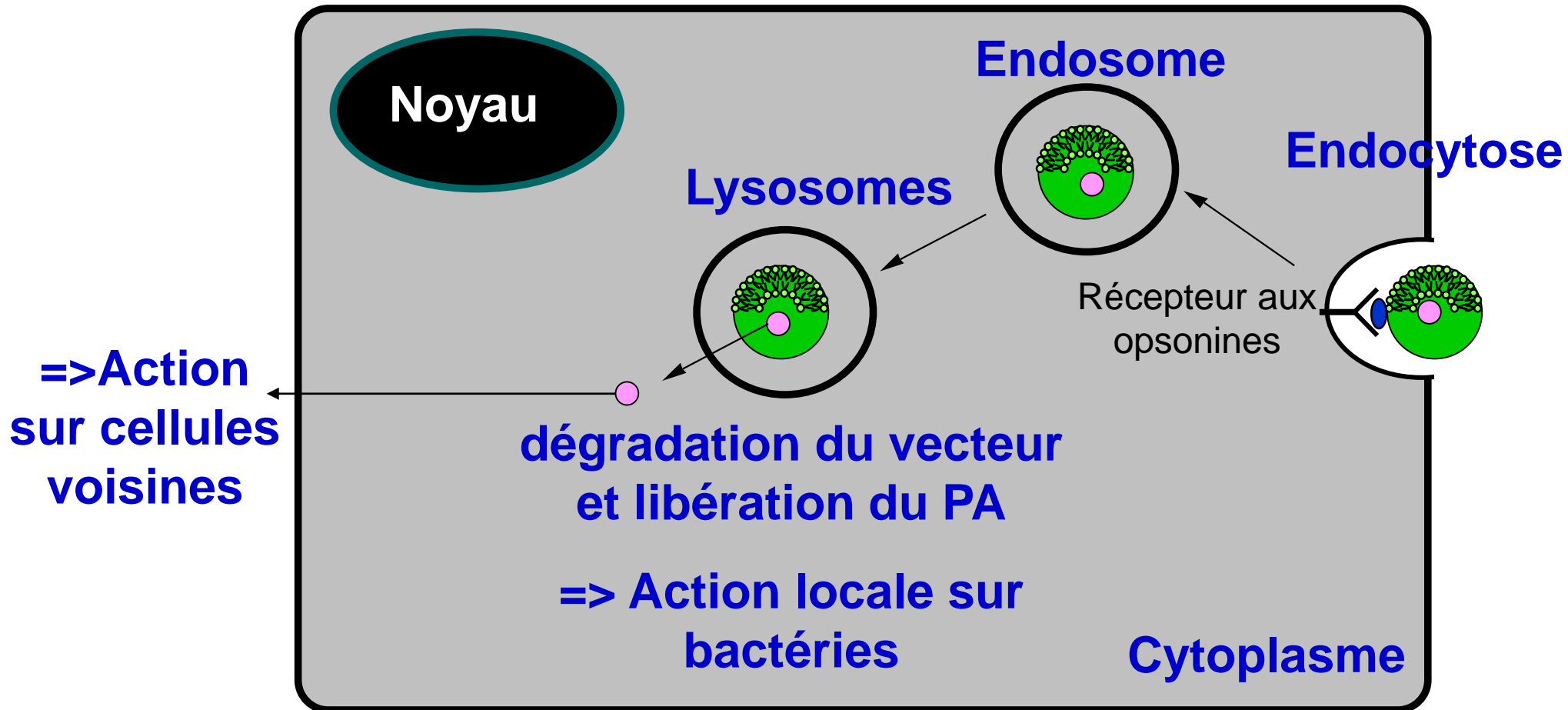


=> Phagocytose et dégradation du vecteur dans lysosome => libération du PA

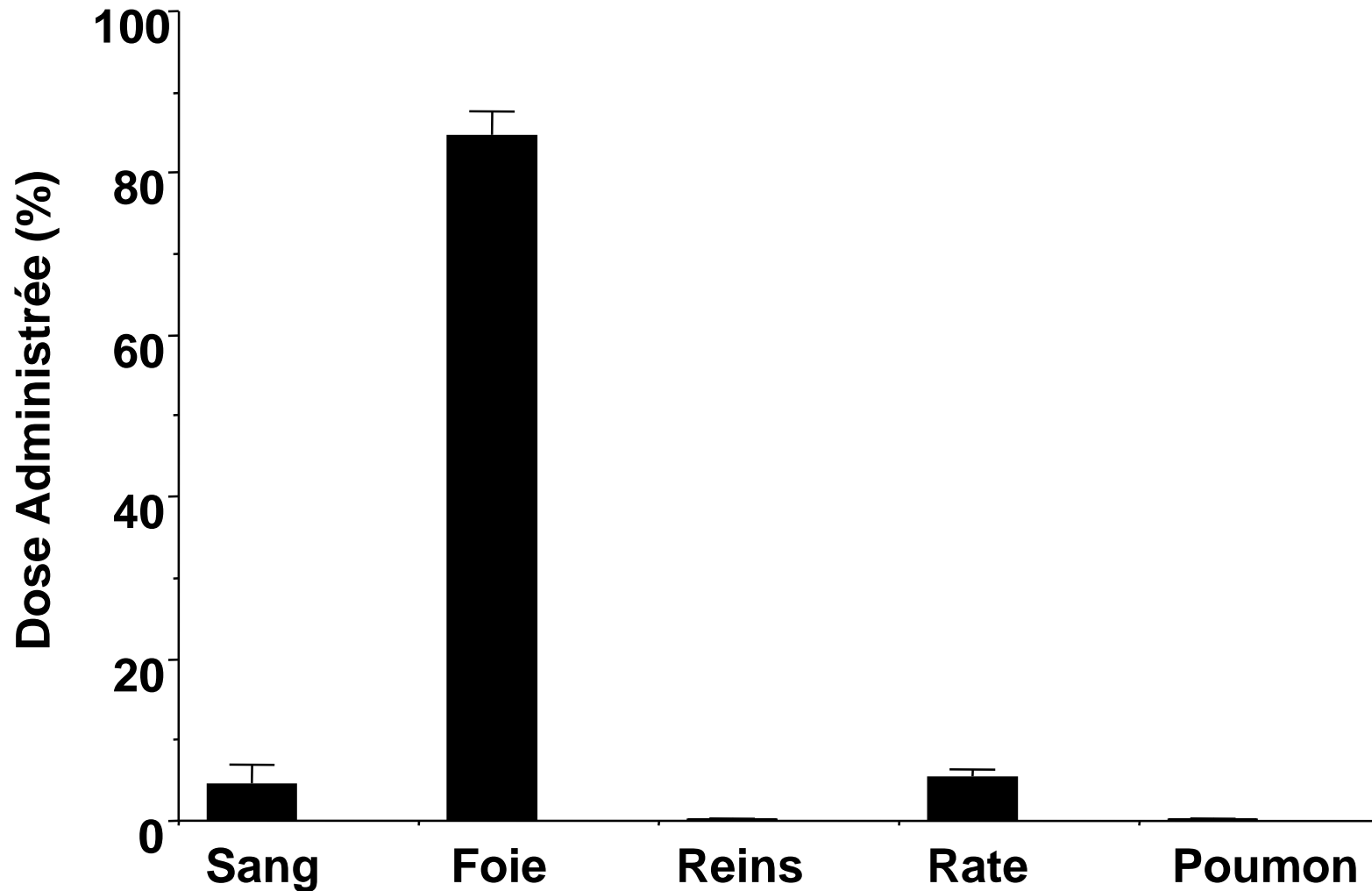
**Application** : traitement des infections bactériennes intramacrophagiques

# Capture par le système des phagocytes mononucléés des vecteurs de 1<sup>ère</sup> génération

Macrophages ont récepteurs aux opsonines



# Biodistribution de liposomes 1<sup>ère</sup> génération 1 h après administration IV (*Beaumier, 1982*)

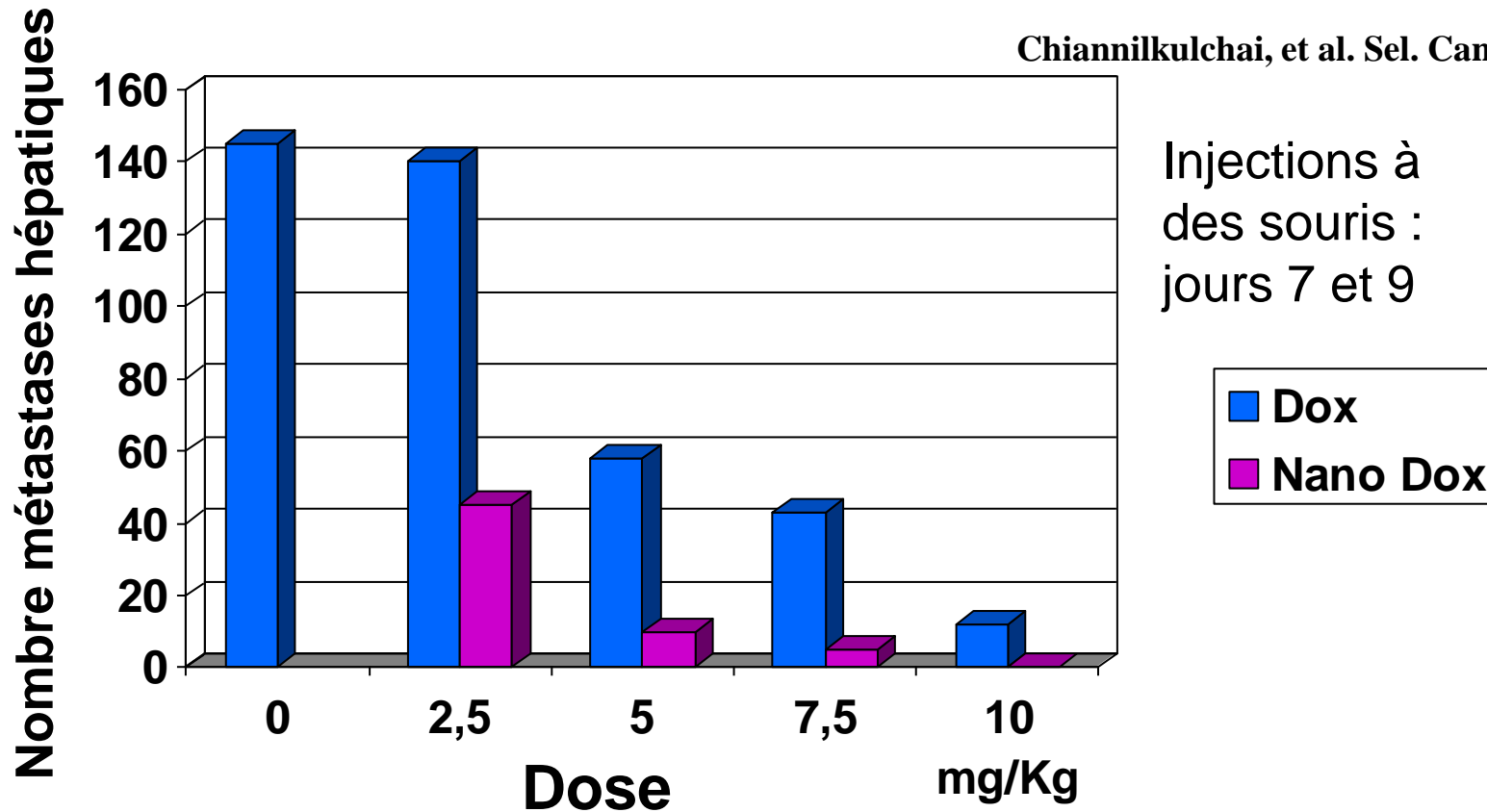


=> Distribution dans le foie et rate

# Efficacité sur métastases hépatiques de la doxorubicine libre ou encapsulée

Nanoparticules de polymère PACA

Chiannilkulchai, 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<sup>ère</sup> 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)

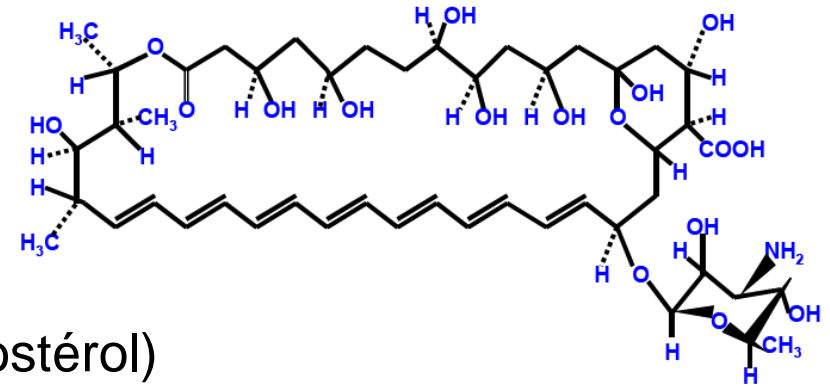
•Effets secondaires : toxicité rénale

•Formulations :

•Solutions micellaires (Fungizone®)

•Complexe lipidique (ABLIC, Abelcet ®)

•Liposomes (Ambisome®)



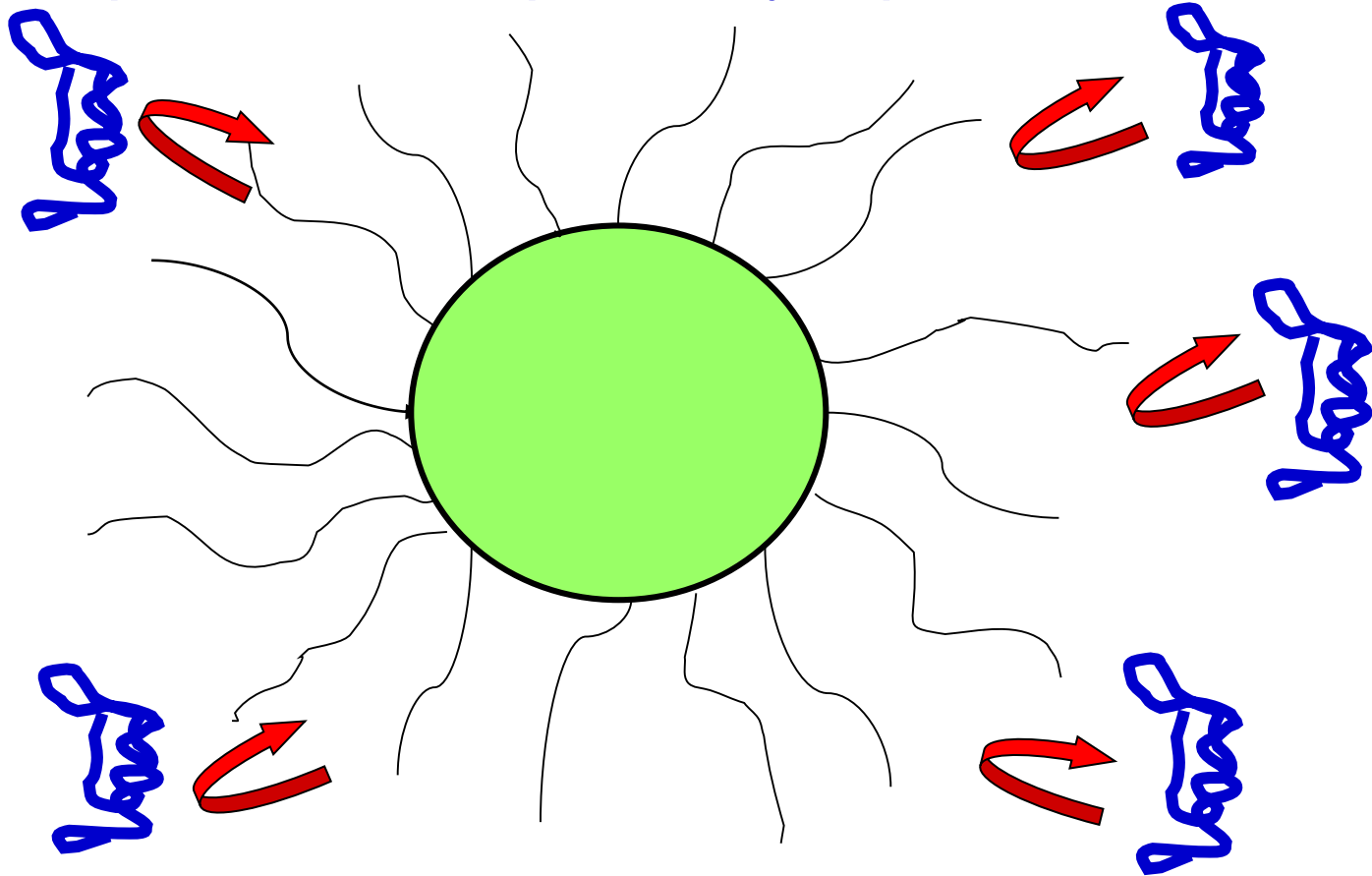
### Toxicité (DL50 mg/Kg) chez la souris

|            |           |
|------------|-----------|
| 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<sup>ème</sup> génération

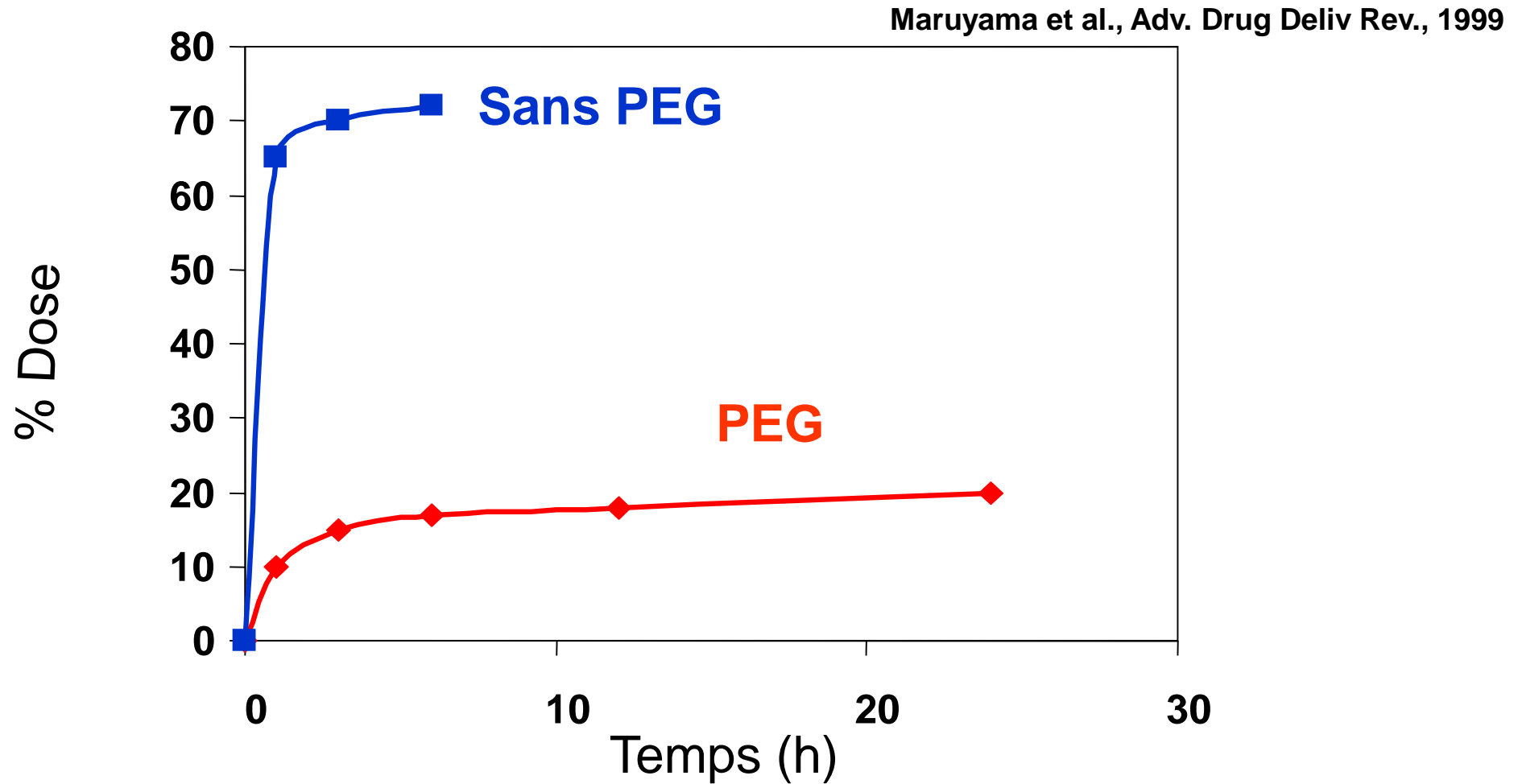
Répulsion stérique et dysopsonisation



- Couplage de polyéthylène glycol en surface des vecteurs 1<sup>ère</sup> génération  
=>Effet stérique  
=>Hydrophilie augmentée



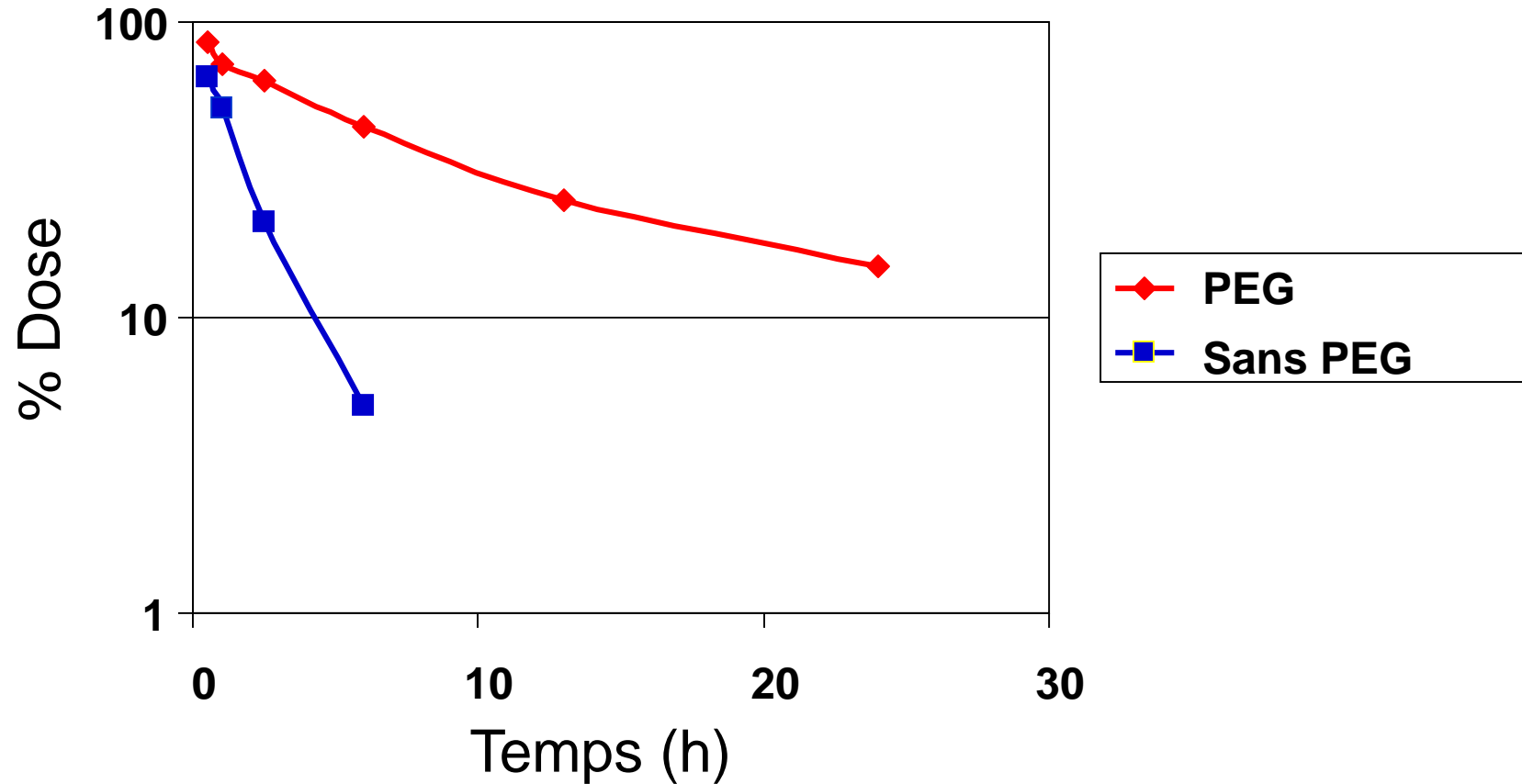
# Capture hépatique des liposomes en fonction de leur recouvrement



=> Diminution de la capture hépatique des vecteurs de 2<sup>ème</sup> génération

# Concentration plasmatique des liposomes en fonction de leur recouvrement

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

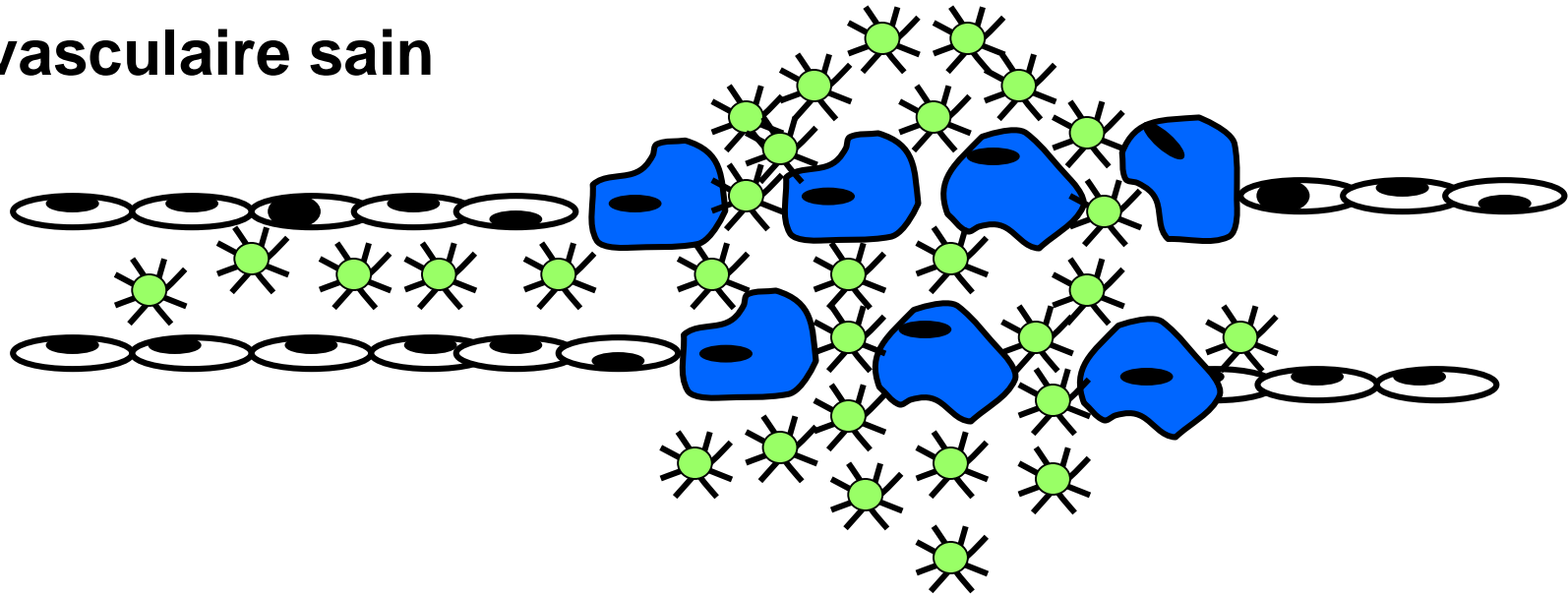


=> Augmentation de la demi-vie plasmatique des vecteurs de 2<sup>ème</sup> génération

# Forme vectorisée de 2<sup>ème</sup> 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<sup>ème</sup> génération commerciale

Exemple : Doxil<sup>®</sup> ou Caelix<sup>®</sup> (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<sup>ème</sup> génération commerciale

Exemple : Doxil<sup>®</sup> ou Caelix<sup>®</sup> (Lipo-PEG de doxorubicine)

## Données pharmacocinétiques

| Parameter              | Caelyx | Doxorubicin |
|------------------------|--------|-------------|
| C max<br>µg/ml         | 15.1   | 0.007       |
| Kel<br>h <sup>-1</sup> | 0.03   | 0.36        |
| T1/2<br>(h)            | 27.0   | 1.9         |
| AUC 0-∞<br>µg.hr/ml    | 605.3  | 0.02        |
| MRT 0-∞<br>(h)         | 37.9   | 2.8         |
| CL<br>(ml/h)           | 0.4    | 10869       |
| Vb<br>(ml)             | 16.5   | 30193       |

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

Schering Plough

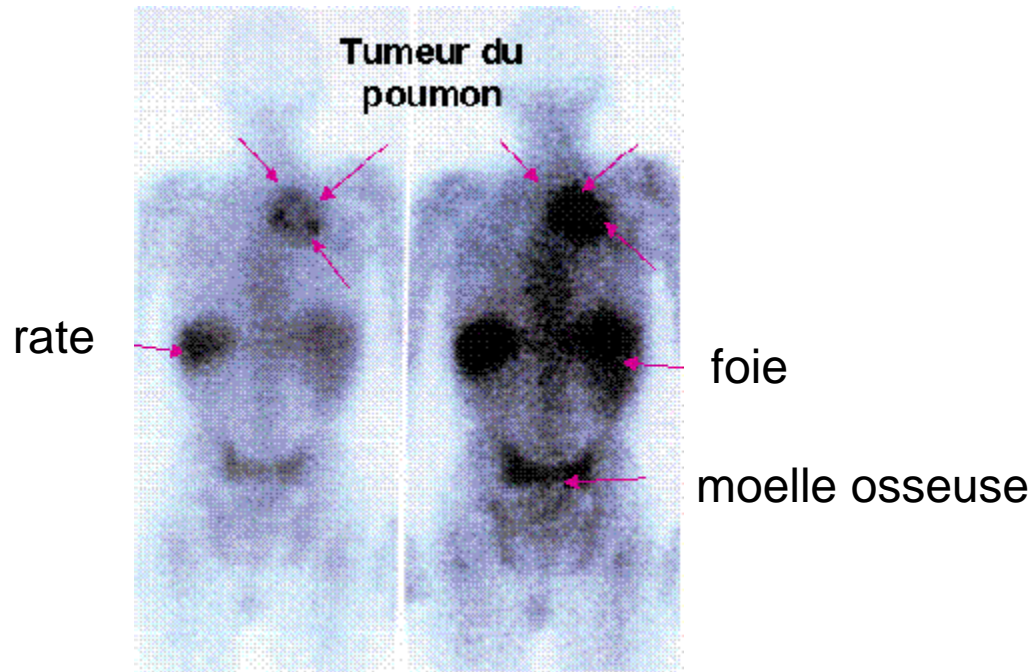
Les vecteurs modifient la pharmacocinétique du PA

# Forme vectorisée de 2<sup>ème</sup> génération commerciale

Exemple : Doxil<sup>®</sup> ou Caelix<sup>®</sup> (Lipo-PEG de doxorubicine)

Ciblage de la tumeur par Caelyx

$\gamma$  scintigraphie à 48 et 96 heures après injection de Caelyx<sup>®</sup> marqué chez un patient atteint d'un cancer du poumon (vue postérieure)



Les vecteurs de 11<sup>ème</sup> 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

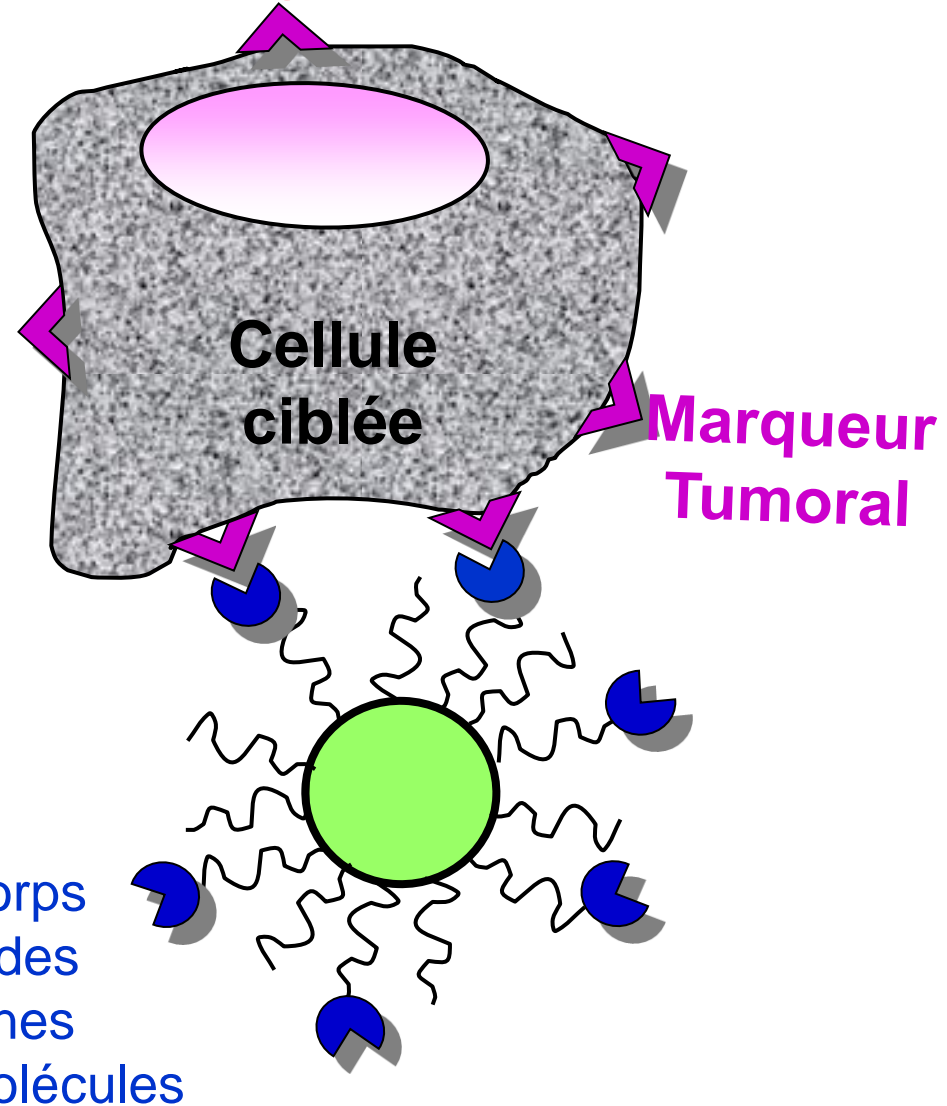
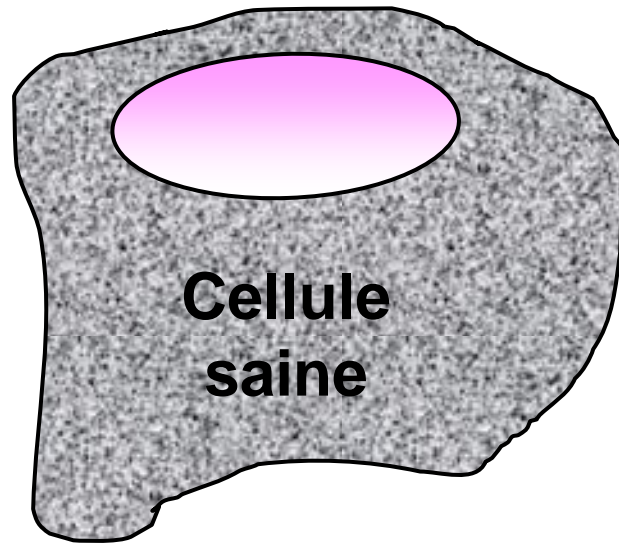
## Voie orale

- Les vecteurs colloïdaux pour l'administration orale de PA

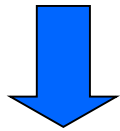
## Administration locale

- Les vecteurs colloïdaux pour l'administration locale de PA

# Formes vectorisées de 3<sup>ème</sup> génération



**ADRESSAGE MOLECULAIRE**



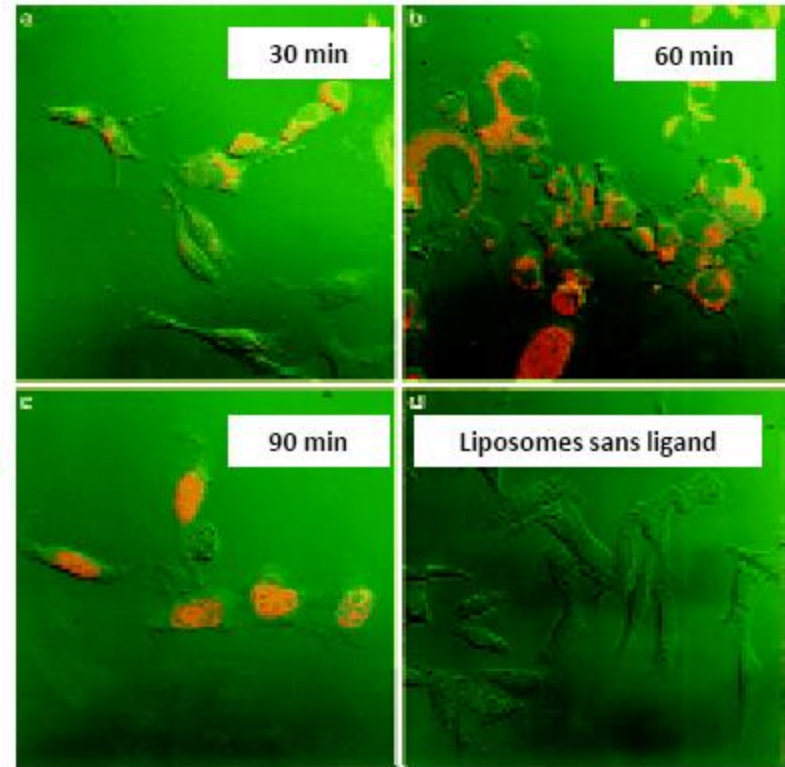
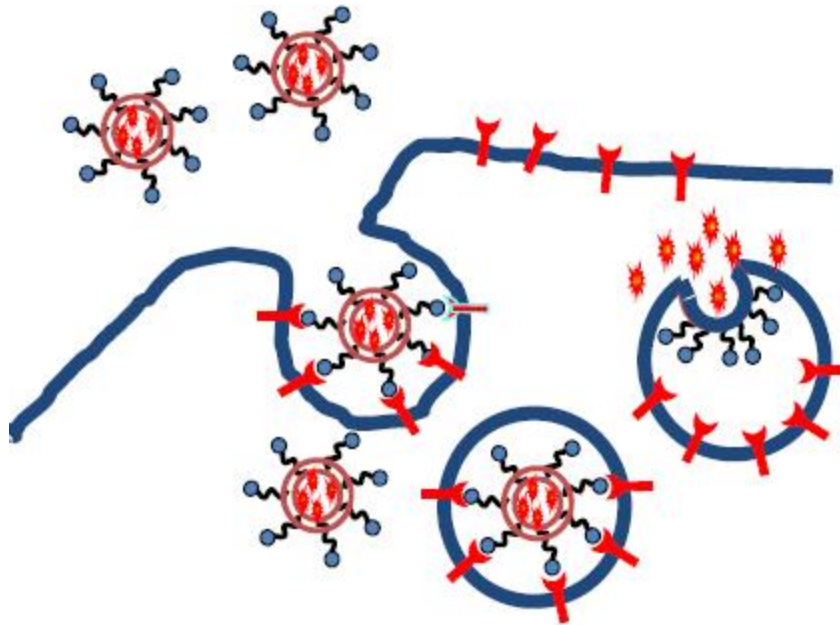
**Ciblage actif**

Applications: ciblage actif des tumeurs ou autres cellules



# Formes vectorisées de 3<sup>ème</sup> génération

## Ciblage actif des tumeurs



=> Travaux de recherche en cours

# Formes vectorisées de 3<sup>ème</sup> génération

## Exemples de récepteur cellulaire ciblé par vecteurs

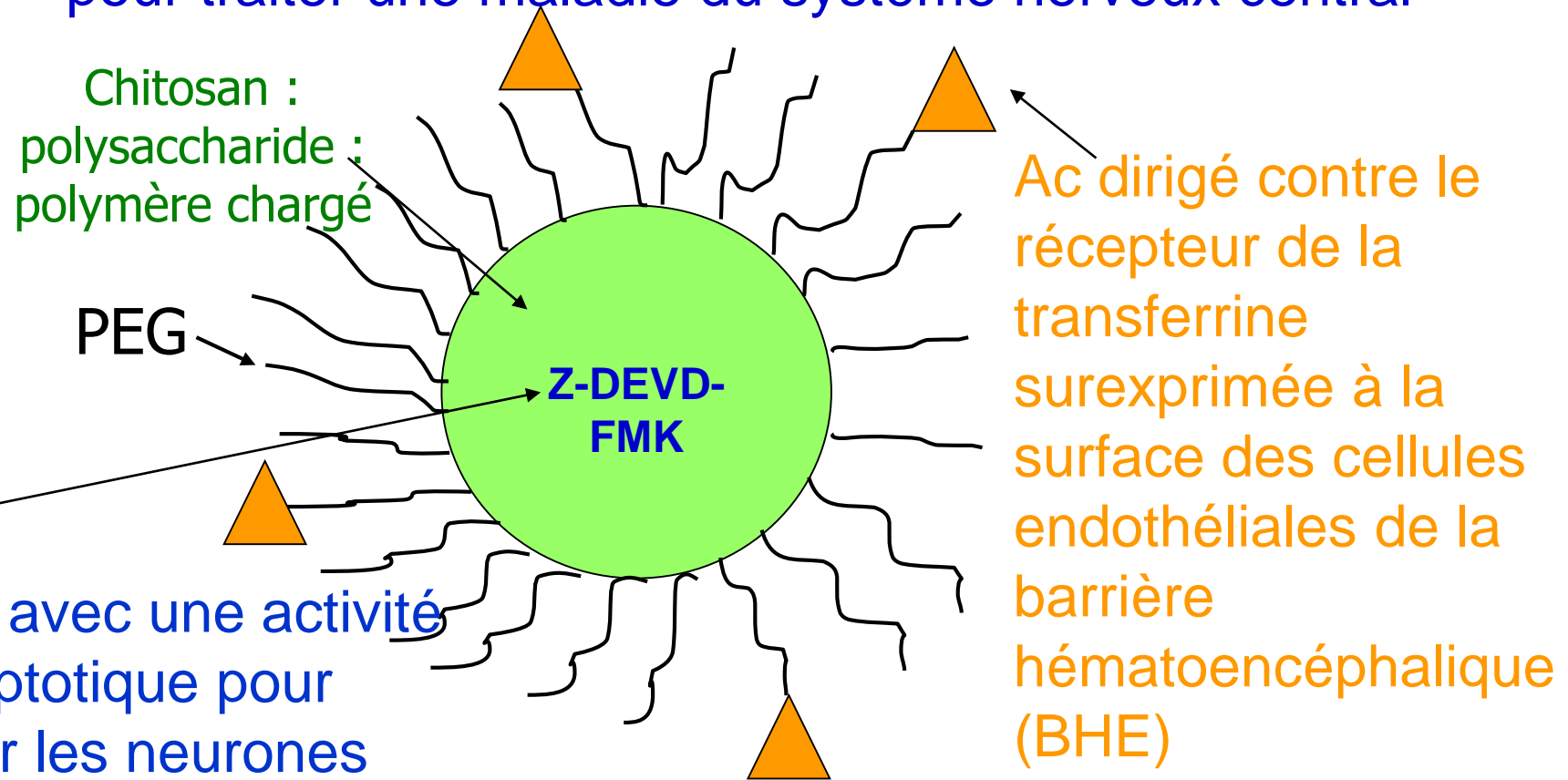
| Ligand                        | Type of Receptor               | Cells                    | Disease                      |
|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------|------------------------------|
| <i>antibody</i><br>Herceptin® | Antigen<br>HER2 receptor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

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

# Formes vectorisées de 3<sup>ème</sup> génération

Exemple de recherche :

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



PA:

peptide avec une activité antiapoptotique pour protéger les neurones durant un accident vasculaire cérébral (AVC)

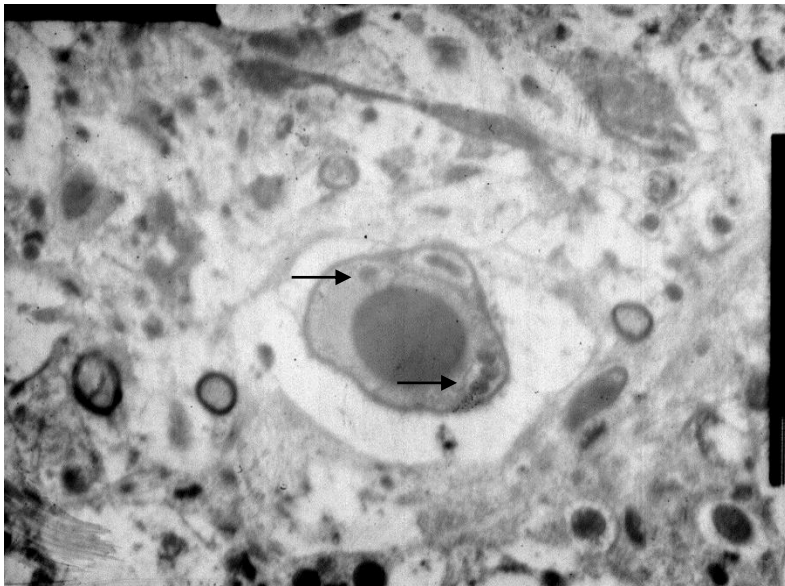
# Formes vectorisées de 3<sup>ème</sup> génération

## Ciblage du cerveau

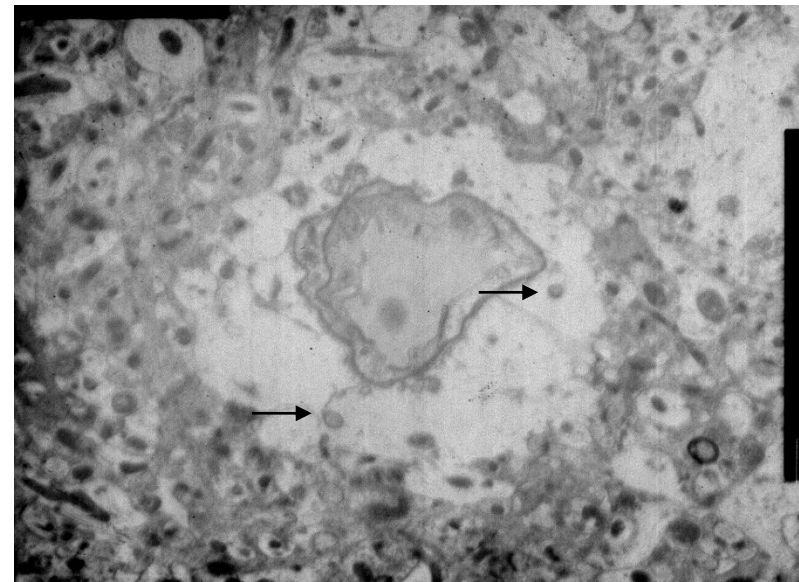
Aktas, et al. Bioconj. Chem. (2005).

### 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)

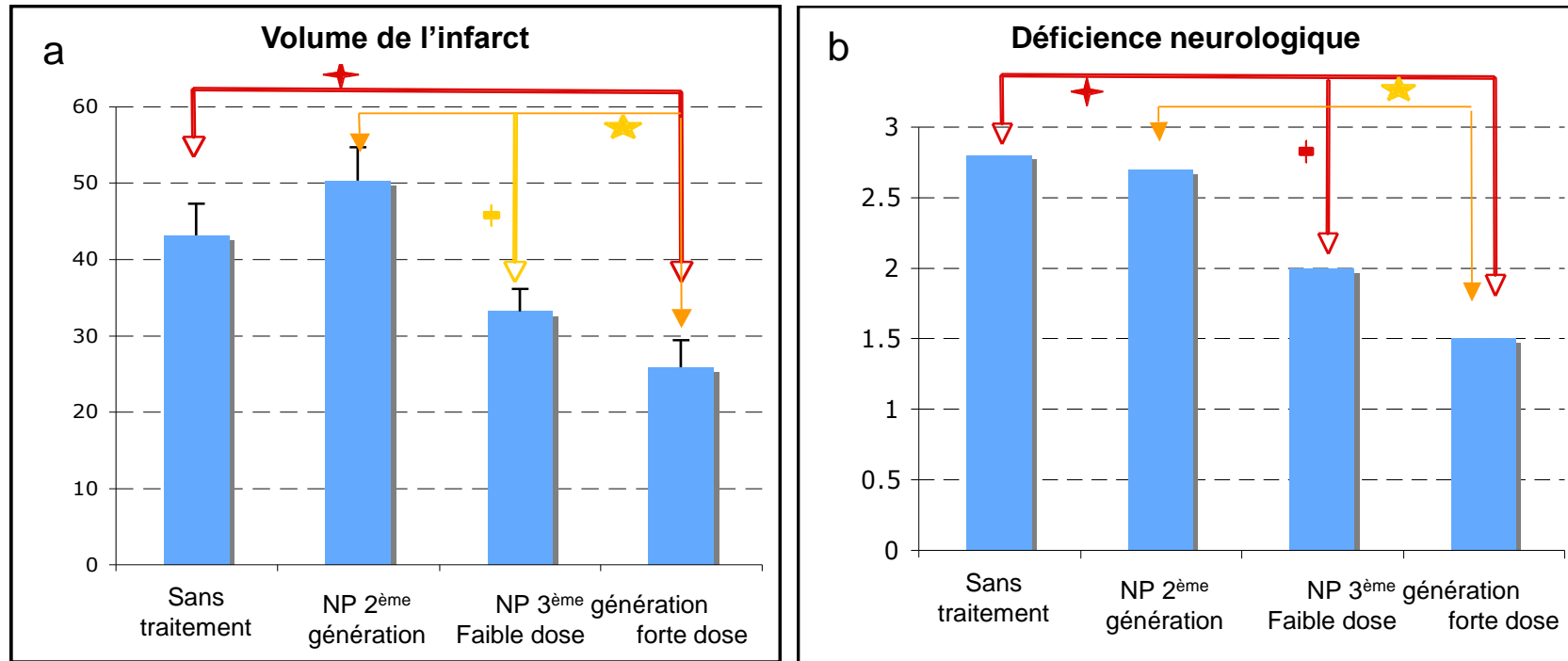
=> Ciblage actif des cellules de la BHE et passage dans cerveau

# Formes vectorisées de 3<sup>ème</sup> 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<sup>ème</sup> génération réduisent le volume de l'infarct et la déficience 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

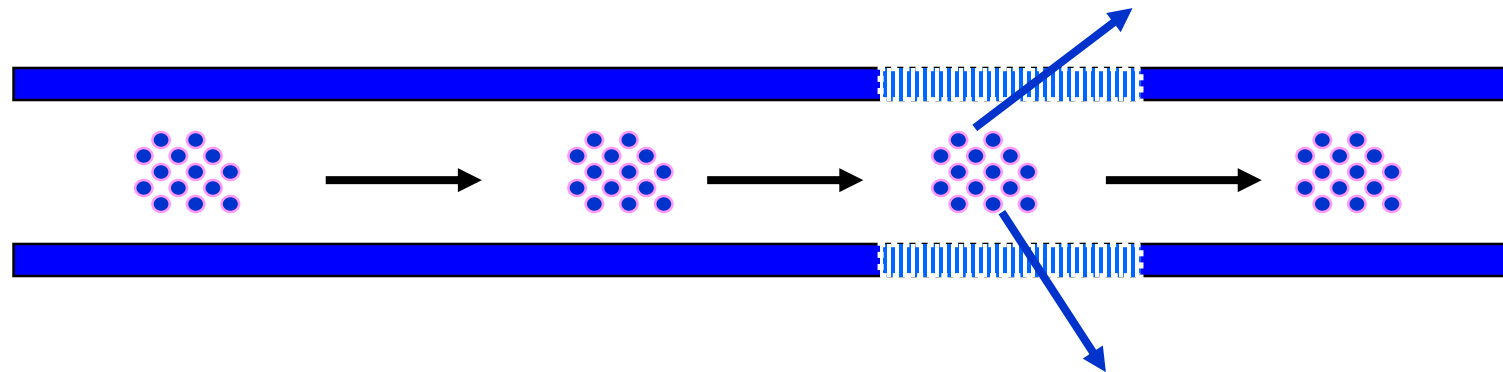
## Administration locale

- Les vecteurs colloïdaux pour l'administration locale de PA

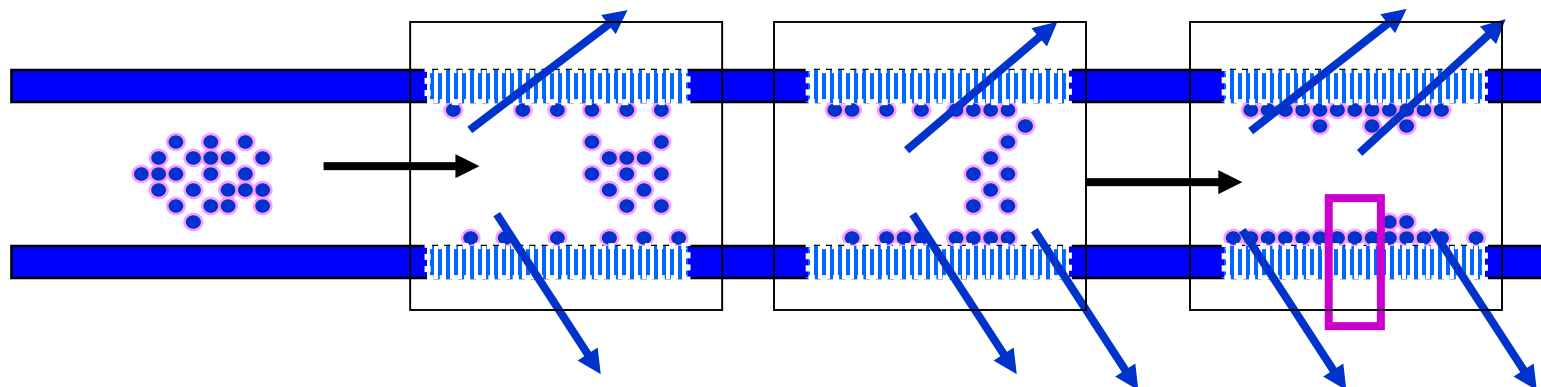
# BIOADHESION ET VOIE ORALE

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

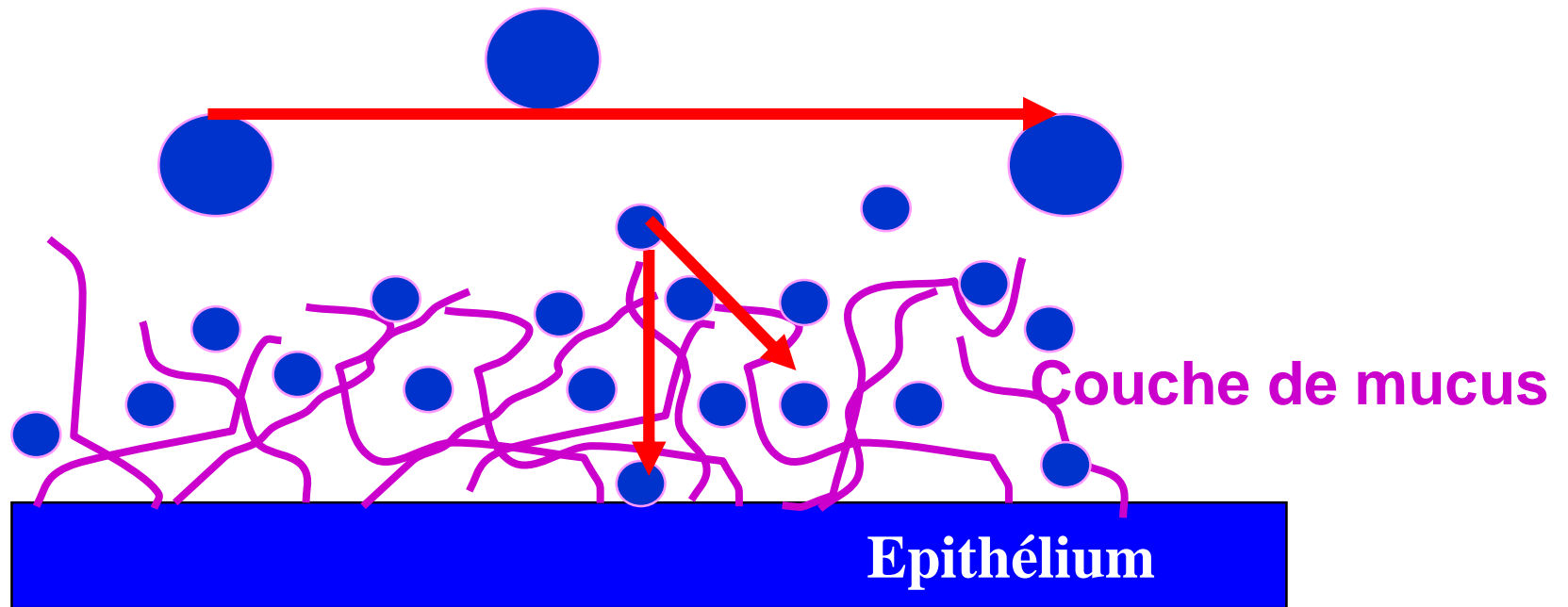
## 1. TRANSIT INTESTINAL NORMAL



## 2. PRINCIPE DE LA BIOADHESION: RALENTIR LE TRANSIT



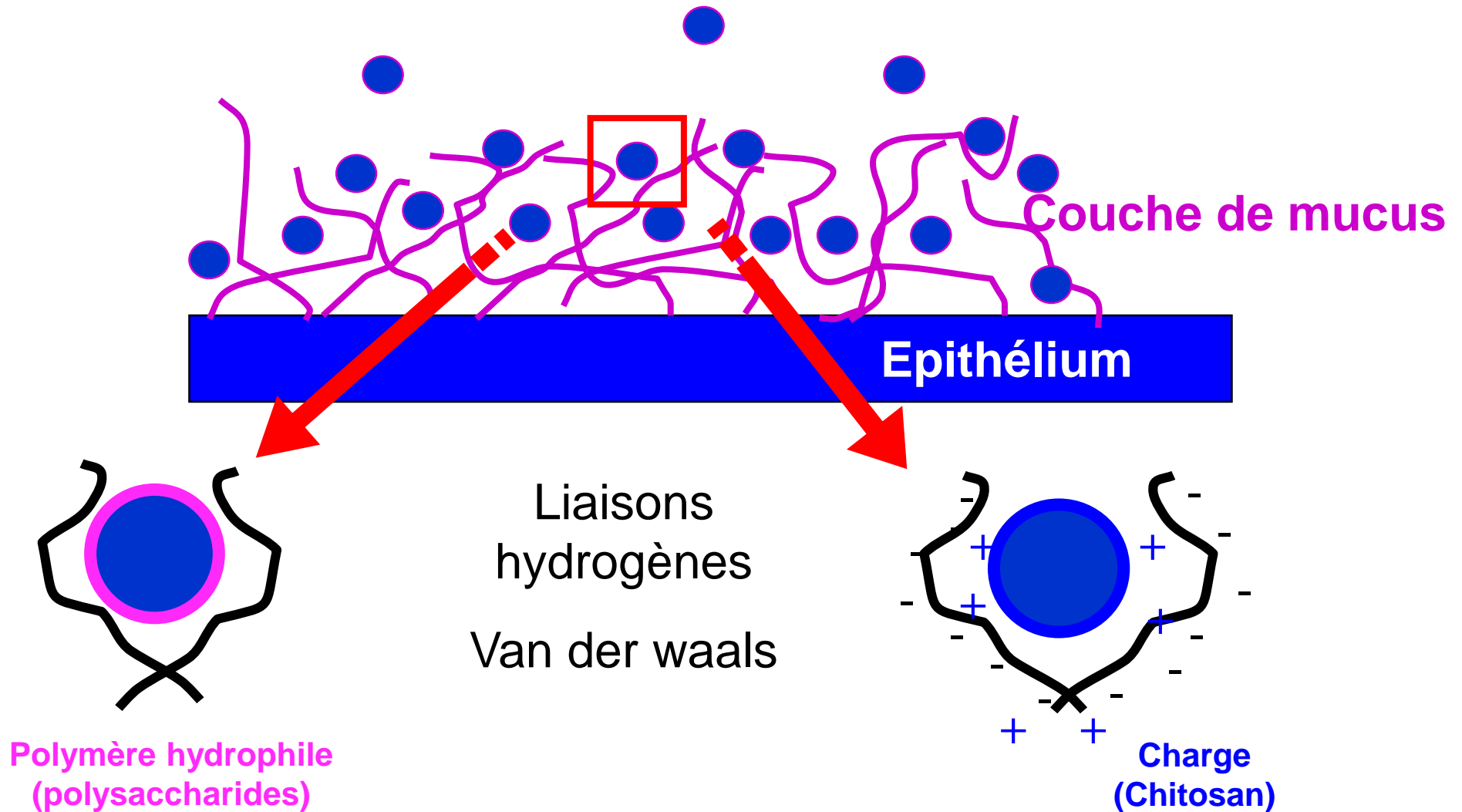
# MUCOADHESION DES NANOPARTICULES



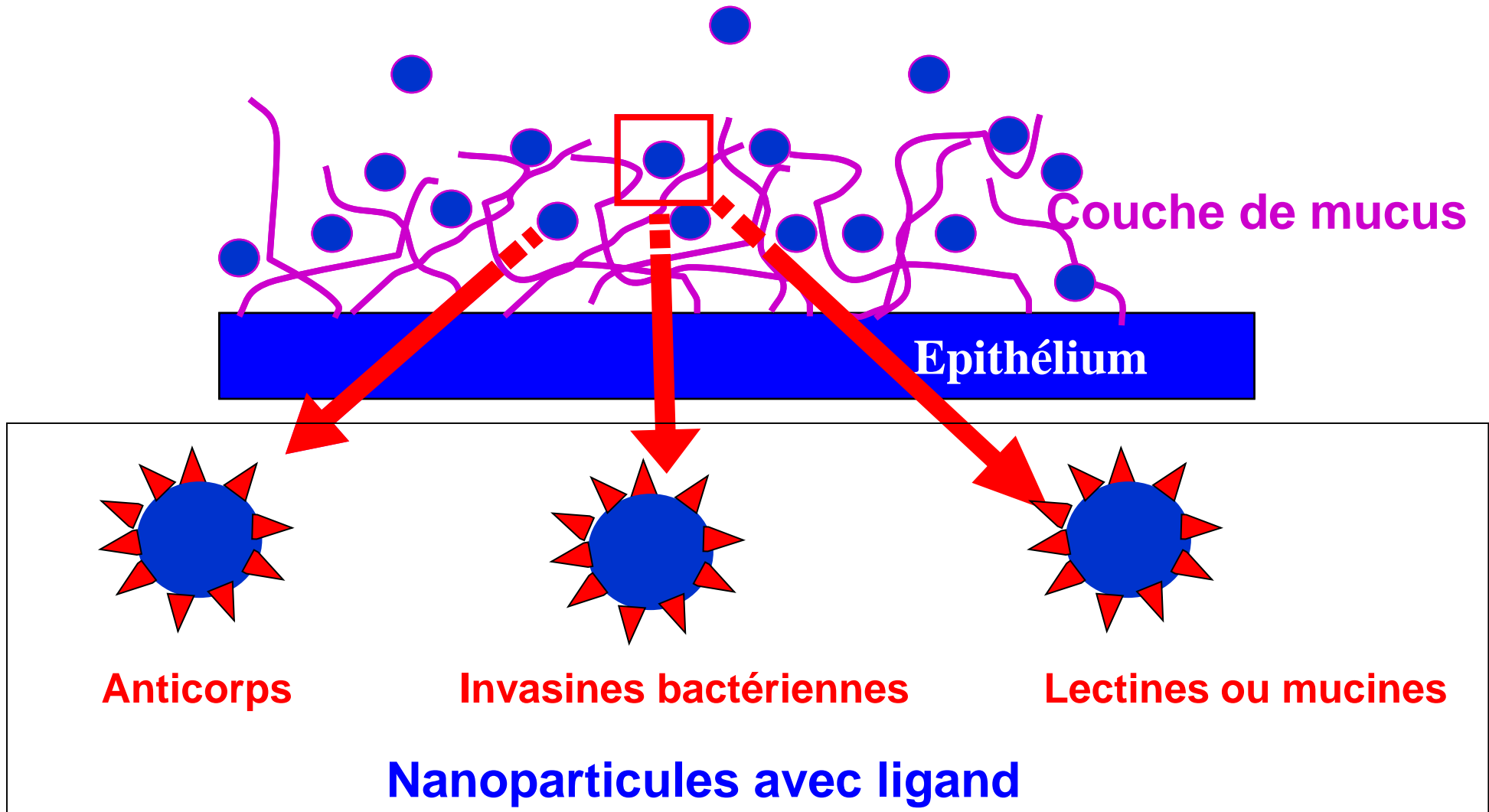
Seules les nanoparticules de taille  $< 1 \mu\text{m}$  peuvent pénétrer le mucus et adhérer à la paroi intestinale



# MUCOADHESION non spécifique



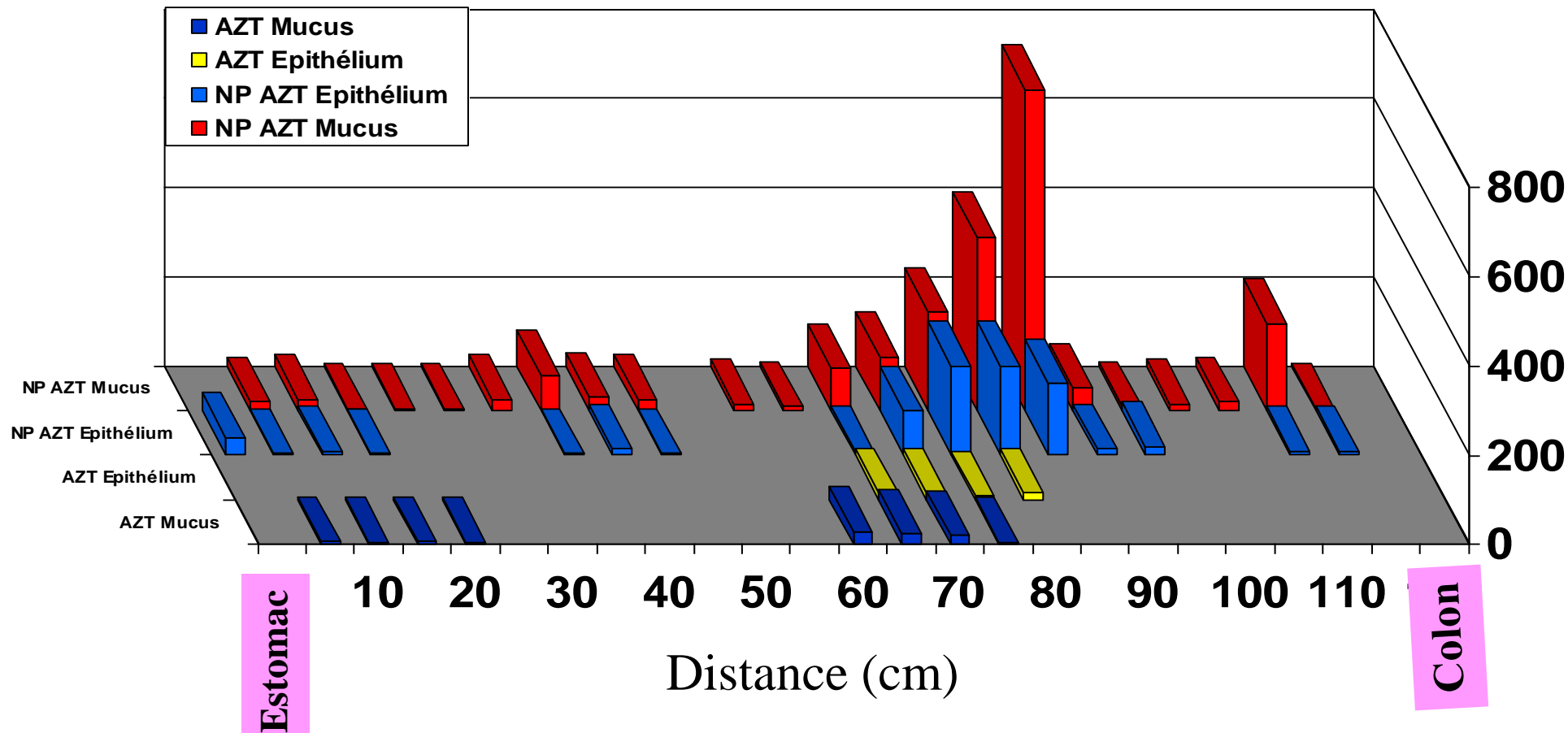
# MUCOADHESION spécifique



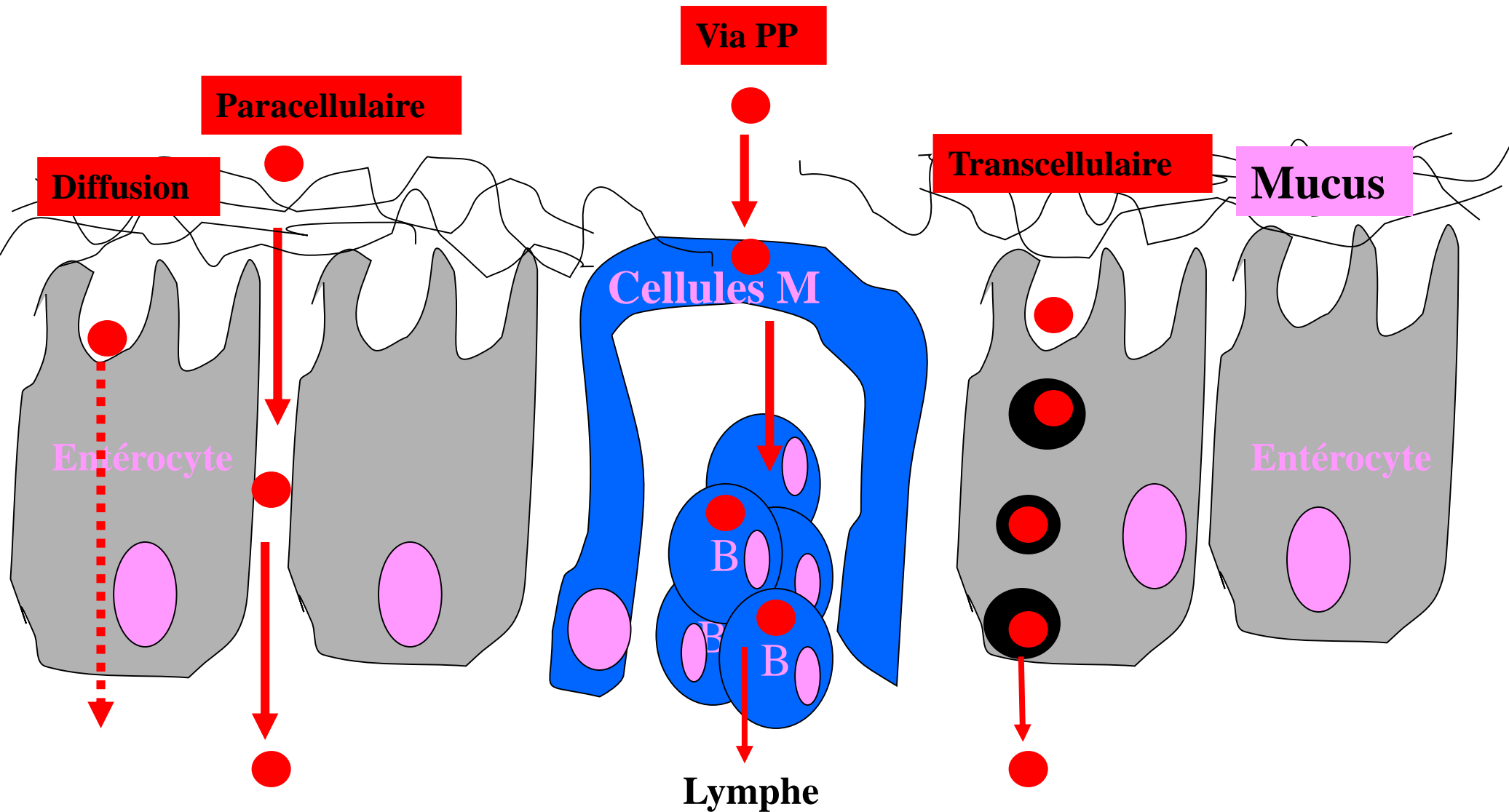
# DISTRIBUTION SPATIALE DE L'AZT LIBRE OU SOUS FORME DE NANOPARTICULES LE LONG DU TUBE DIGESTIF (90 min.)

**Nanoparticules de 250 nm biodégradables => adhésion à la muqueuse**

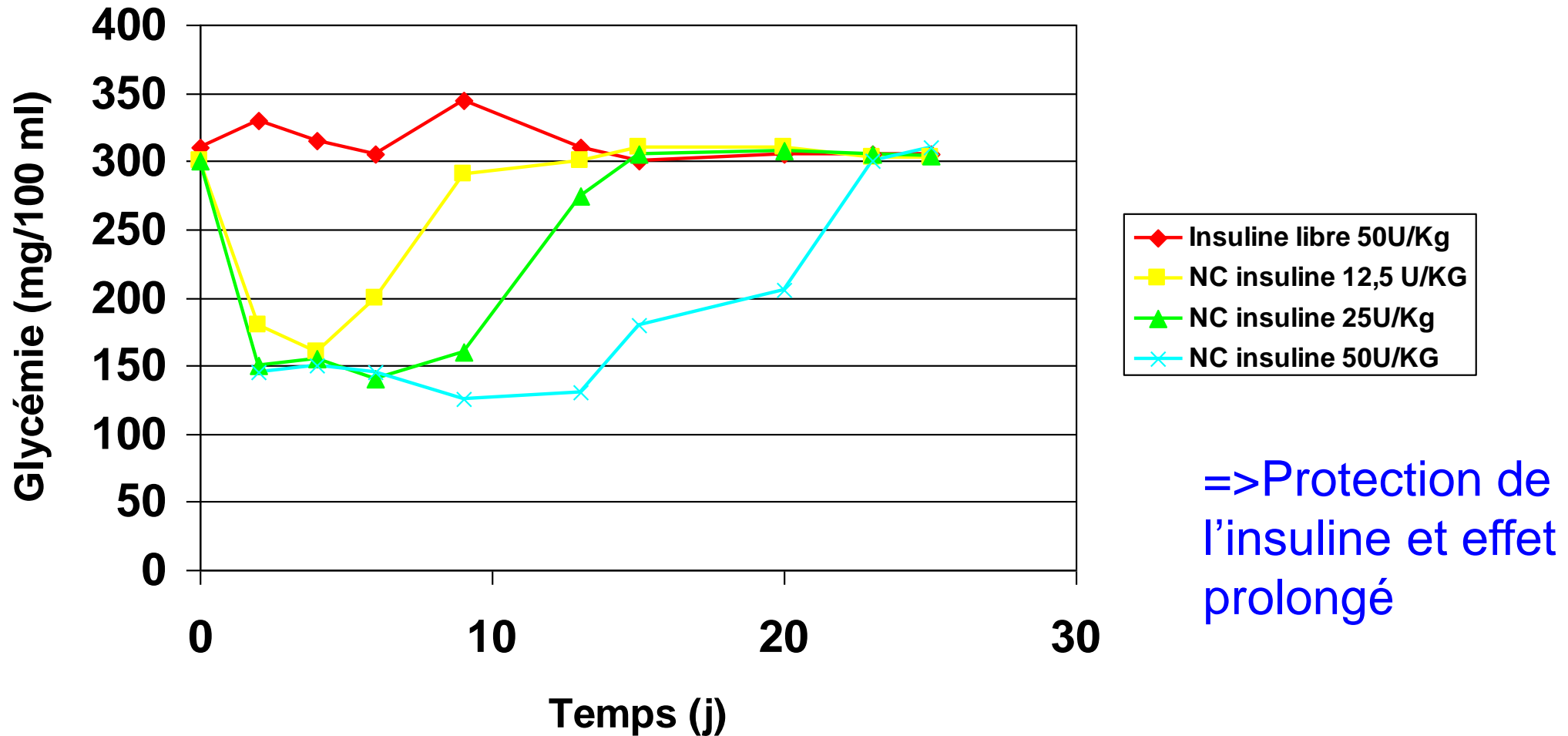
A. Dembri, M-J Montisci, JC Ganthier, H. Chacun, G. Ponchel, Pharm. Res., 2001



# VOIES DE TRANSLOCATION DES NANOPARTICULES



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



=>Protection de l'insuline et effet prolongé

# 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

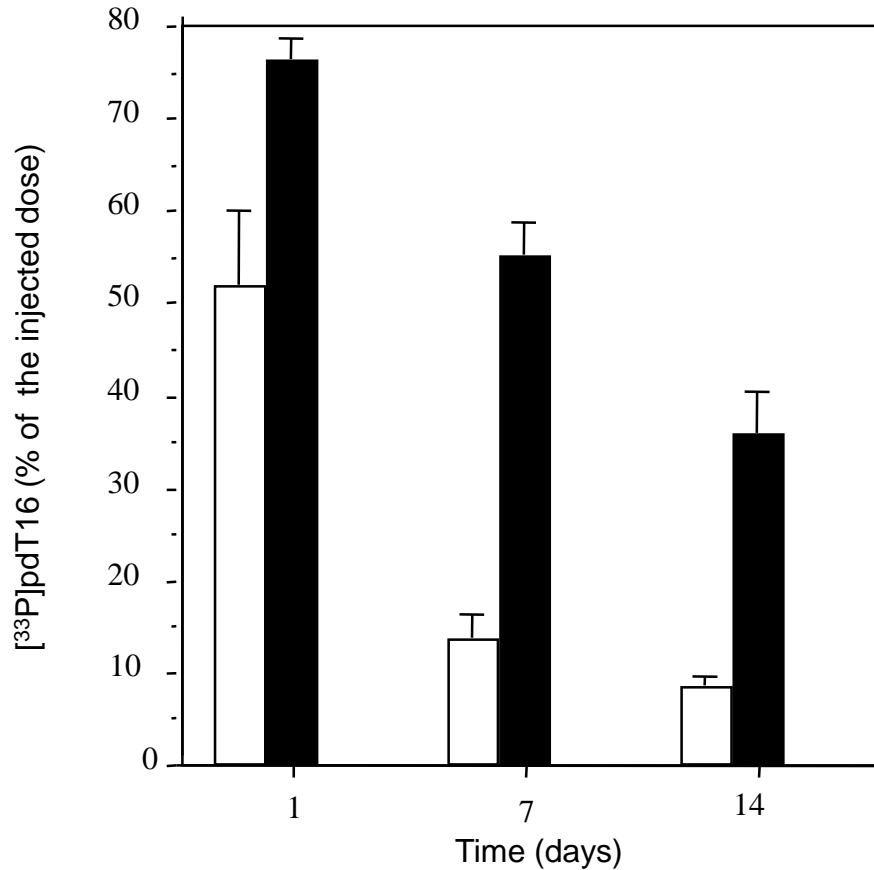
- Les vecteurs colloïdaux pour l'administration orale de PA :

## 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 radiomarké 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<br>(% 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  |

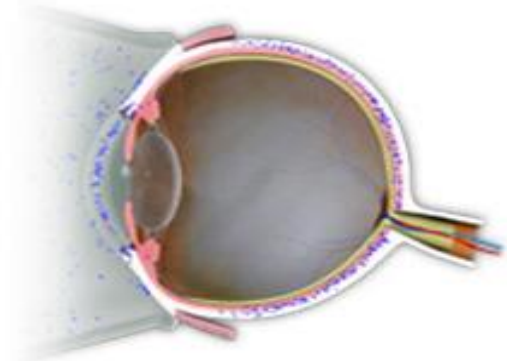
A. Bochot, et al., IOVS, 2002

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.