

H. Rovikath.

Rovikath

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Jijel
Faculté des Sciences de la Nature
Et de la Vie
Département de Biologie Cellulaire
et Moléculaire



جامعة جيجل
كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم البيولوجيا الجزيئية والخلوية

جامعة محمد الصديق بن يحيى
كلية علوم الطبيعة والحياة
المكتبة
رقم الجرد : 2725

Mémoire de fin d'études pour l'obtention du Diplôme
des Etudes Supérieures en Biologie

Option: Biochimie

Intitulé

Micro- et Nano-particules pour la vectorisation et le ciblage des molécules biologiquement actives

Membres de Jury :

Présenté par :

Encadreur :

M^{me} KEBSA W.

MEHIDI AFNANE

Examineur :

M^{me} Rouibah H.

BOUFERTELLA NAWAL

CHERDOUDA RADIA

Promotion Juin 2013

Remerciements

Nous remercions Allah pour nous avoir donné le courage et la volonté pour réaliser ce travail et qui nous a éclairé les chemins par la lumière de son immense.

Nos remerciements s'adressent particulièrement à M^{me} Kbsa, qui a accepté de diriger ce travail, ses critiques et ses remarques subtiles étaient d'un grand apport et ont orienté ce travail vers une thématique très prometteuse. Qu'elle soit assurée de notre reconnaissance et notre profond sympathique.

Que l'examineur M^{me} Rouibah, soit remercié pour toute l'attention accordée à ce travail et du temps consacré à la lecture et au jugement de ce mémoire.

Nous remercions s'adressent aussi à toutes personnes, amis, collègues de loin et de proche et toute la promotion 2012/2013. Qui ont apporté leurs connaissances et leurs contributions à ce travail qu'ils trouvent en ces mots notre reconnaissance et notre gratitude.

Et en fin nous remercierons nos parents pour leur aide et leur soutien.

Sommaire

Liste des figures.....	i
Liste des tableaux.....	ii
Liste des abréviations.....	iii
Introduction générale.....	1
Chapitre 1: Généralités sur la vectorisation des médicaments	
1. La vectorisation des médicaments: Définition et objectifs.....	2
2. Les Vecteur.....	3
2.1. Définition et Classification.....	3
2.1.1. Selon l'association de principe actif.....	3
2.1.2. Selon la nature.....	3
2.2. Propriété d'un vecteur idéal.....	4
2.3. Les grandes familles de vecteurs cellulaires.....	5
2.3.1. Vecteurs Viraux.....	5
2.3.2. Systèmes Lipidiques, Nanoparticules.....	5
2.3.3. Peptides et Protéines de Translocation.....	6
	6
2.4. Evolution des vecteurs au cours du temps.....	
2.4.1. Les vecteurs de première génération.....	7
2.4.2. Les vecteurs de deuxième génération.....	7
2.4.3. Les vecteurs de troisième génération.....	8
2.5. Différents systèmes ou supports utilisés dans le ciblage et la vectorisations des médicaments.....	8
2.5.1 .Protéines.....	9
2.5.3. Systèmes lipidiques, Nanoparticules, Virus.....	9
2.5.3. Systèmes Polymériques.....	9
2.5.3.1. Polymère naturels.....	10
2.5.3.1. Polymère synthétiques	12
2.6. Biocompatibilité des vecteurs.....	14

Chapitre 2: Les microparticules

1. Difinition.....	15
2. Classification.....	15
2.1. Les microsphaères.....	15
2.2. Les microcapsules.....	15
3. Encapsulation et cinétique de libération.....	16

4. Les différents procédés de microencapsulation.....	17
4.1. Procédés physico-chimiques.....	18
4.1.1. Techniques de coacervation.....	18
4.1.2. Technique par fusion à chaud du matériau support.....	19
4.1.3. Technique par évaporation de solvant.....	19
4.2. Procédés chimiques.....	21
4.2.1. Encapsulation par polymérisation interfaciale.....	21
4.2.2. Microencapsulation par polymérisation in situ.....	24
4.3. Procédés mécaniques.....	24
5. Avantages et inconvénients des microparticules.....	24

Chapitre 3: Les nanoparticules

1. Définition.....	25
2. Les différents types des nanoparticules.....	25
2.1. Les nanoparticules inorganiques.....	26
2.1.1. Nanoparticules d'oxyde de fer.....	26
2.1.2. Quantum dot.....	27
2.1.3. Les nanoparticules d'Or.....	27
2.2. Les nanoparticules organiques.....	28
2.2.1. Les nanoparticules à base de polymère naturels ou de synthèse.....	28
2.2.2. Les nanoparticules de systèmes lipidiques.....	30
3. Les techniques classiques de préparation des vecteurs particulaires.....	33
3.1. Méthodes de préparation par dispersion de polymères préformés.....	34
3.1.1. L'émulsion-évaporation de solvant.....	34
3.1.2. Le déplacement de solvant ou « la nano précipitation ».....	35
3.1.3. La désolvatation ou « Salting-out ».....	35
3.1.4. L'émulsion-diffusion.....	36
3.2. Méthodes de préparation par polymérisation.....	36
3.2.1. La polymérisation en émulsion.....	36
3.2.2. La polymérisation en dispersion.....	37
3.2.3. La polymérisation en microémulsion-inverse « polymérisation micellaire ».....	37
3.2.4. La polymérisation interrassiale.....	38
3.3. Méthodes de préparation de nanoparticules lipidiques.....	38
3.3.1. Nanoparticules lipidiques solides.....	38
3.3.2. Nanocapsules lipidiques.....	39
4. Purification des nanoparticules.....	39

5. Encapsulation des nanoparticules..... 39

Chapitre 4. Ciblage et applications thérapeutiques

1. Ciblage médicamenteux..... 41

1.1. Ciblage passif du système phagocytaire mononucléaire..... 41

1.2. Ciblage passif de la tumeur..... 41

1.3. Ciblage actif..... 42

1.4. La sensibilité au pH ou le ciblage intracellulaire..... 43

2. Cinétique de libération du principe actif à partir des formes pharmaceutiques vectorisées..... 44

3. Facteurs Influençant la biodistribution des vecteurs..... 45

3.1. Influence de la taille du vecteur..... 45

3.2. Influence de la charge du vecteur..... 45

3.3. Influence de l'injection d'une forte dose de particules..... 46

4. Applications thérapeutiques des micro- et nano- médicaments..... 46

4.1. Les nano-médicaments pour le traitement du cancer..... 46

4.2. Adressage du médicaments au cerveau..... 48

4.3. Utilisation des nanotechnologies dans l'imagerie..... 48

4.4. Nano-médicaments et thérapie génique..... 49

4.5..L'utilisation des nanotechnologies pour le traitement des infections intracellulaires. 49

4.6. Utilisation des micro- et nanotechnologies dans la vaccination..... 50

4.7. Nano-médicaments et Sida..... 50

Conclusion..... 51

Figure 1.	Schéma illustrant les différents types de vecteurs des médicaments.....	4
Figure 2.	Principe d'utilisation des vecteurs viraux ciblés pour la thérapie génique..	5
Figure 3.	Schéma des liposomes ciblés pour la vectorisation vers la cellule cancéreuse.....	6
Figure 4.	Vecteurs 1ère ,2 ème et 3 ème génération.....	8
Figure 5.	Structure chimique de chitosane.....	10
Figure 6.	Structure chimique de l'alginate.....	11
Figure 7.	Structure chimique du dextrane constitué d'enchaînement d'unités α -D glucopyranose avec des chaines latérales en α -1,3.....	11
Figure 8.	Structure chimique des polyesters aliphatiques.....	12
Figure 9.	Mécanisme de la polymérisation radicalaire du MMA.....	13
Figure 10.	Représentation schématique d'une microsphaères et d'une microcapsule...	15
Figure11.	Représentation schématique des différents modes de relargage des microparticules et allure des cinétiques de relargage.....	16
Figure 12.	Principe de l'encapsulation par coacervation.....	18
Figure 13.	Schéma du procédé de microencapsulation par évaporation de solvant pour principe actif solide ou soluble dans la solution de polymère.....	20
Figure 14.	Schéma du procédé de microencapsulation par évaporation de solvant pour principe actif non soluble dans la solution de polymère.....	21
Figure 15.	Schéma du principe actif de la microencapsulation par polymérisation interfaciale.....	22
Figure 16.	Mécanisme de formation des microparticules par polymérisation interfacial.....	23
Figure 17.	Gamme de tailles des nanoparticules comparée à celles des principales structures chimiques et biologiques.....	25
Figure 18.	Nanoparticules de fer.....	26
Figure 19.	Structure d'un quantum dots par microscopie électronique à haute résolution (à gauche) et modèle simulé (à droite).....	27
Figure 20.	Représentation schématique des Micelle.....	29
Figure 21.	Structure des dendrimères.....	29

Figure 22.	Représentation schématique des différents types de dendrimères.....	30
Figure 23	Nanocapsules à réservoir lipidique ou aqueuse.....	31
Figure 24.	Schéma représentant la fixation de principe actif dans les Nanocapsules...	31
Figure 25.	Schéma présentant les différents types des Nanosphères.....	32
Figure 26.	Schéma représentant la fixation du principe actif dans les Nanosphères...	32
Figure 27.	Représentation schématique de la structure d'un liposome.....	33
Figure 28.	Schéma illustrant le principe du procédé de préparation des nano- ou microparticules par "émulsion-évaporation de solvant".....	34
Figure 29.	Schéma illustrant le principe de la nanoprécipitation.....	35
Figure 30.	Schéma illustrant le principe de préparation des nanoparticules par Salting-out.....	35
Figure 31.	Les différentes étapes lors de la nanoencapsulation par émulsion-diffusion de solvant.....	36
Figure 32.	Le mécanisme de la polymérisation en dispersion.....	37
Figure 33.	Le mécanisme de la polycondensation interraciaie.....	38
Figure 34.	Représentation schématique de nanoparticules prenant avantage de l'effet EPR dans les amas tumoraux.....	42
Figure 35.	Différentes molécules de reconnaissance pouvant fonctionnaliser la surface d'un vecteur.....	42
Figure 36.	Schématisation reprisèrent le ciblage actif des vecteurs nanoparticulaires.....	43
Figure 37.	Ciblage intracellulaire après l'endocytose médiée par un récepteur.....	44
Figure 38.	Représentation schématique de glycoprotéine P-gp qui expulse le médicament anticancéreux vers l'extérieur.....	47

Liste des tableaux

Tableau 1.	Classification des vecteurs de médicaments.....	7
Tableau 2.	Classification des procédés de microencapsulation.....	17
Tableau 3.	Polymères, solvants et agents de coacervation couramment employés dans les méthodes d'encapsulation par coacervation.....	19
Tableau 4.	Principaux polymères formés par polymérisation interfaciale.....	23
Tableau 5.	Caractéristiques des principaux types de liposomes.....	33

Liste des abréviations

ACA : Alkylcyanoacrylates	PGA : Poly(Acide Glycolique)
ADN : Acide DésoxyriboNucléique	PLA : Poly(Acide Aactique)
ARN : Acide RiboNucléique	PLGA : acide poly(lactiqueglycolique)
BHE : Barrière Hémato-Encéphalique	PMMA : Poly(Méthyl-MéthAcrylate)
CMC : Concentration Micellaire Critique	POE : Poly(Oxyde d’Ethylène)
CLHP : Chromatographie en Phase Liquide à Haute performance	PTD : Protein Transduction Domain
CPP : Cell Penetrating Peptide	UV : Ultra-Violet
DA : Degré d’Acétylation	QDs : Quantum Dots
DDI : 2'-3'-DIDeoxynosine	RMN : Résonance Magnétique Nucléaire
IRM : Imagerie par Résonance Magnétique	SLN : Nanoparticules Lipidiques Solides
LDL : Low Density Lipoprotein	SPIO : Super Paramagnétique Iron Oxide
LUV : Large Unilamellar Vesicles	SUV : Small Unilamellar Vesicles
MMA : Méthacrylate de Méthyle	USPIO : Ultrasmall Superparamagnetic Iron Oxide
MLV : Liposomes Multilamellar Vesicles	VIH : Virus de l’immunodéficience Humaine
MPS : Système Phagocytaire Mononucléaire	
NP : Nano-Particules	
OLV : Liposomes Oligolamellar Vesicles	
PA : Principe Actif	
PACA : Poly(Alkyl-Cyanocrylate)s	
PCL : Poly(ϵ -CaproLactone)	
PEG : Polyéthylène Glycol	
PHCA : Poly(Hexylcyanoacrylate)	

Introduction

Des centaines de nouvelles molécules intéressantes sur le plan thérapeutique sont abandonnées chaque année en raison de leurs propriétés physico-chimiques peu favorables à leur passage à travers les barrières biologiques, ou parce qu'elles manifestent des effets indésirables importants voire toxiques, ou encore parce qu'elles sont dégradées au cours de leur acheminement vers leur cible thérapeutique. Dans ce contexte, l'utilisation des systèmes de délivrance susceptibles de véhiculer un médicament d'une manière sélective vers son site d'action est apparue indispensable et l'essor considérable des nanotechnologies a permis de proposer le concept de la vectorisation.

La vectorisation met en jeu des vecteurs, de type soit particuliers (micro et nanoparticules, ...), soit moléculaires (polymères conjugués, complexes d'inclusion des cyclodextrines, anticorps conjugués...), soit encore vivants (virus, bactéries, hématies), qui permettent de transporter des principes actifs. La vectorisation inclut également l'évaluation de nouvelles formes galéniques qui, en plus d'influer sur les propriétés pharmacodynamiques, peuvent aboutir, à leur tour, à de nouvelles formes pharmaceutiques. Il s'agit donc d'un ensemble multidisciplinaire d'activités visant à mettre au point des vecteurs, de comprendre et de maîtriser les nombreux paramètres physiologiques et cellulaires permettant de piloter des molécules biologiquement actives vers leurs cibles ultimes.

En effet, la faible taille des vecteurs, mais aussi la possibilité de moduler leurs caractéristiques de surface, leur permettent de franchir certaines barrières biologiques. Dès lors, il devient possible d'envisager différents niveaux de ciblage; au niveau d'un organe, au niveau de cellules constitutives de cet organe et enfin au niveau subcellulaire. Ainsi, la distribution dans l'organisme ne dépend plus des propriétés de la molécule encapsulée elle même, mais elle est soumise à celles du vecteur choisi en fonction de l'objectif envisagé. Par ailleurs, le ciblage permet l'obtention de concentrations efficaces en thérapeutique des molécules encapsulées au niveau de leurs sites d'action et de diminuer potentiellement leur déperdition vers d'autres tissus ou cellules, ce qui va limiter leurs toxicités et améliorer leurs effets thérapeutiques à la fois.

En raison de la grande diversité et complexité des systèmes vecteurs, seuls les principaux types des vecteurs particuliers (micro- et nano- particules) seront présentés dans ce mémoire, qui est organisé en quarts chapitres:

Dans le *premier chapitre*, nous nous attacherons à définir le concept de la vectorisation et à présenter les différentes générations de vecteurs colloïdaux qui ont été développés ces dernières années, ainsi les différents polymères utilisés pour la synthèse de ces vecteurs.

Le *deuxième chapitre*, est consacré pour les microparticules: leurs principales caractéristiques, les différents paramètres gouvernant leurs propriétés d'encapsulation et l'ensemble des technologies existantes permettant leur préparation.

Dans le *troisième chapitre* nous avons répertorié les différentes classes des nanoparticules et les principaux procédés permettant leur préparation.

Le *dernier chapitre* traite le ciblage et les différentes applications thérapeutiques des micro- et nano- médicaments.

CHAPITRE I.

Généralités sur la

Vectorisation des

Médicaments

L'adressage 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. Dès le début du vingtième siècle, le savant *Paul Ehrlich* rêvait déjà du « *magic bullet* » susceptible d'acheminer un médicament de manière spécifique vers son site d'action. Le rêve de *Paul Ehrlich* est aujourd'hui proche de la réalité grâce au développement des nanotechnologies qui ont permis de proposer le concept de vectorisation des médicaments (Couvreur, 2010).

1. La vectorisation des médicaments: Définition et objectifs

La vectorisation est un phénomène qui consiste à administrer des médicaments directement à la cellule malade afin d'éviter le fait de subir l'action de ce médicament à toutes les cellules du corps humain (Gutierrez et *al.*, 2006). Elle correspond au transport des molécules actives jusqu'à leur cible biologique. Cette technique permet de cibler les traitements mais aussi de réduire les concentrations au niveau des organes cibles et donc aussi réduire la toxicité de certain médicament tel les anticancéreux (Shi et *al.*, 2010). La vectorisation des médicaments a pour but de:

- Permettre la distribution de molécules actives uniquement au site d'action sans affecter les tissus sains comme les spécialités Ambisome® ou Daunoxone®, utilisées dans le traitement des tumeurs cancéreuses.
- Faciliter le franchissement de certaines barrières physiologiques comme la barrière hémato-encéphalique, et de certains types de cellules.
- Administrer des médicaments par l'autres voies que la voie traditionnelle, par exemple l'administration de l'insuline par voie orale au lieu de la voie sous cutanée (Couvreur, 1985).
- La protection éventuelle du principe actif contre son inactivation prématurée (Couvreur, 1985). Certaines molécules biologiquement actives sont physico-chimiquement et/ou biochimiquement instable dans l'environnement biologique (ph, enzymes, protéines). Leur encapsulation dans des nanoparticules permet une protection contre l'inactivation chimique, enzymatique ou immunologique. Ainsi, les caractéristiques pharmacocinétiques du médicament sont optimisées. Ceci est particulièrement intéressant pour les principes actifs à faible durée de vie *in vivo* (Wu, 2007).
- L'augmentation de la pénétration cellulaire ou intracellulaire de principe actif inaccessible par simple diffusion (Couvreur, 1985).
- Améliorer la cinétique des principes actifs dans l'organisme pour qu'ils ne soient pas trop vite éliminés.

- Permettre l'éviction d'excipients entraînant des effets secondaires graves et obligeant l'administration d'un traitement préventif afin de les atténuer, comme le Crémophor, excipient utilisé pour solubiliser des principes actifs difficilement solubles et en améliorer l'adsorption (Brighet, 2010).
- Sélectivité de la libération: Dans certain conditions, la vectorisation peut apporter un ciblage du médicament grâce à des ligands à la surface des vecteurs qui sont capables d'interagir avec des cellules cibles (Brigger et *al.*, 2002). Ceci permet à la fois de limiter la biodistribution de médicament au sein de l'organisme et de réduire les effets secondaires indésirables au niveau des organes sains. Ainsi, la sélectivité et la spécificité de ces particules vis-à-vis de la cible peuvent permettre d'améliorer l'efficacité du principe actif (Wu, 2007).

2. Les Vecteurs

2.1. Définition et classification

Un vecteur est une structure capable de véhiculer un principe actif en modifiant sa distribution tissulaire et/ou cellulaire ou ses interactions avec des cellules cibles. Cette vectorisation permet d'une part d'éviter l'injection directe du médicament dans l'organisme et d'autre part d'améliorer les caractéristiques pharmacocinétiques du principe actif après encapsulation (Fluckiger, 1999; Socha, 2008). On peut classer les vecteurs comme suit:

2.1.1. Selon l'association de principe actif:

On distingue les espèces macromoléculaires solubles et les entités non solubles de nature corpusculaire.

2.1.1.1. Les vecteurs macromoléculaires: L'association covalente d'un principe actif à une macromolécule définit un vecteur macromoléculaire. La macromolécule peut être soit d'origine naturelle comme le dextran ou l'albumine sérique, soit d'origine synthétique, comme le polyéthylène glycol (Mehvar, 2000).

2.1.1.2. Les vecteurs corpusculaires: Les vecteurs corpusculaires sont des réservoirs de principe actif qui permettent de l'isoler ou de le protéger de l'environnement biologique (Socha, 2008).

2.1.2. Selon la nature:

La vectorisation met en jeu des vecteurs, de type soit *particulaires* (microparticules, nanoparticule), soit *moléculaires* (polymères conjugués, complexes d'inclusion des cyclodextrines, anticorps conjugués...), soit encore *vivants* (virus, bactéries, hématies), qui permettent de transporter des principes actifs (figure 1).

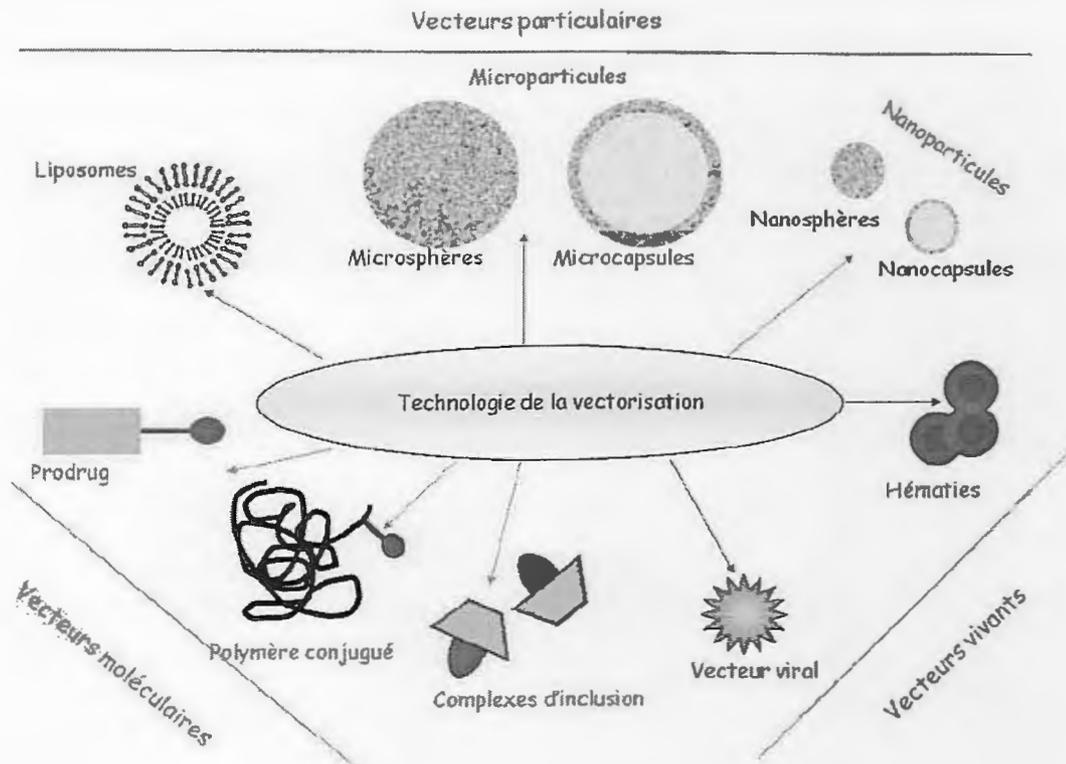


Figure 1. Schéma illustrant les différents types de vecteurs des médicaments (Mehvar, 2000).

2.2. Propriétés d'un vecteur idéal

Afin d'accomplir sa tâche, un vecteur doit répondre à un certain cahier des charges:

- *Biocompatible* : Il ne doit présenter aucune toxicité envers l'organisme.
- *Furtif « stealth »* : Il doit présenter une faible immunogénicité, c'est-à-dire avoir un temps de circulation dans le sang le plus long possible sans être reconnu par le système immunitaire tel que le système réticulo-endothélial, il ne doit pas non plus être éliminé par les reins ou le foie avant d'avoir atteint sa cible.
- *Spécifique* de l'organe ou du tissu visé.
- *Biodégradable*: Il ne doit pas s'accumuler dans l'organisme.
- *Taux de libération maximal*, pour cela, les chercheurs s'appliquent à mettre au point des systèmes particuliers, submicroniques tels que des vecteurs viraux, des liposomes, des vecteurs peptidiques, des nanoparticules inorganiques ou bien des polymères (Deshayes, 2009).

2.3. Les grandes familles de vecteurs cellulaires

Il existe majoritairement trois grandes familles de vecteurs cellulaires: les vecteurs viraux, les système lipidiques et les peptides ou protéines de translocation. A l'origine, ces systèmes ont été particulièrement développés pour les applications de thérapie génique. Aujourd'hui, leur utilisation se généralise à toutes les stratégies nécessitant une entrée cellulaire (Rawat et *al.*, 2007).

2.3.1. Vecteurs Viraux

Les virus sont des vecteurs naturels, hautement évolués et d'une efficacité redoutable pour pénétrer dans les cellules hôtes, transférer leur matériel génétique et exploiter la machinerie cellulaire pour leur réplication. Pour les utiliser en thérapie, des systèmes non pathogènes ont été développés (Liu et *al.*, 2007). Afin de contourner le manque de sélectivité de ces vecteurs pour les tumeurs, plusieurs stratégies ont été développées. Des agents de ciblage ont été couplés à leur surface, notamment des anticorps bi-fonctionnels reconnaissant d'une part une protéine de l'enveloppe du virus et d'autre part un récepteur des cellules cibles (Figure 2) (Owen et *al.*, 2007). Cette technique a permis d'introduire un « gène médicament » dans une cellule cancéreuse via un virus inactivé.

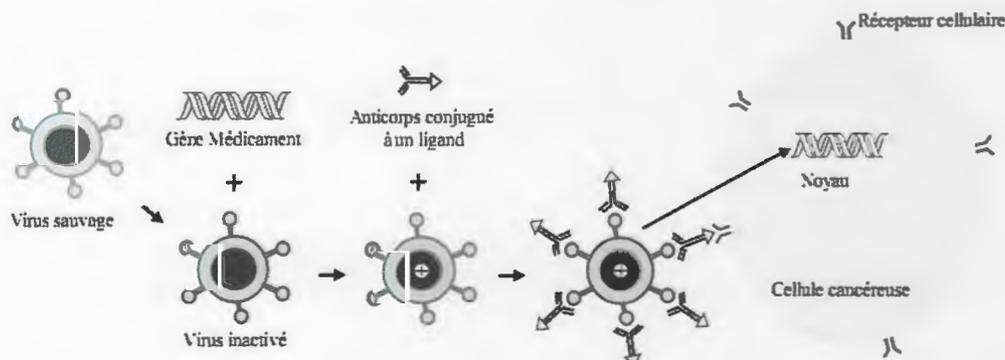


Figure 2. Principe d'utilisation des vecteurs viraux ciblés pour la thérapie génique (Owen et *al.*, 2007).

Des éléments de ciblage ont également été introduits par génie génétique en modifiant les fibres virales. Cette dernière stratégie a été employée pour faire présenter par un virus des peptides ciblant des récepteurs à la surface des cellules cancéreuses (Wu et *al.*, 2002).

2.3.2. Systèmes Lipidiques, Nanoparticules

Les nanoparticules sont principalement des systèmes lipidiques permettant l'entrée dans la cellule de molécules actives. Les vecteurs lipidiques de première génération sont des vésicules formées d'une ou plusieurs couches de phospholipides. De manière à limiter leur dégradation par le système immunitaire (opsonisation), ceux-ci ont été recouverts de polymères hydrophiles (Figure 3). Afin de diriger ces vecteurs, ils ont été décorés de ligands

(anticorps, peptides, sucres, acide folique). Ils sont alors capables de reconnaître de manière sélective des antigènes ou des récepteurs cellulaires. Ces vecteurs se sont révélés d'être des outils polyvalents car capables de vectoriser un large éventail d'éléments effecteurs ayant des propriétés physicochimiques différentes (hydrophile, hydrophobe) (Samad *et al.*, 2007). De nombreux vecteurs lipidiques ciblés montrent des résultats précliniques très satisfaisants. En 2007, un complexe lipidique présentant des fragments d'anticorps dirigés contre le récepteur de la transferrine et vectorisant un «gène médicament» est entré en phase clinique I (Torchilin *et al.*, 2007).

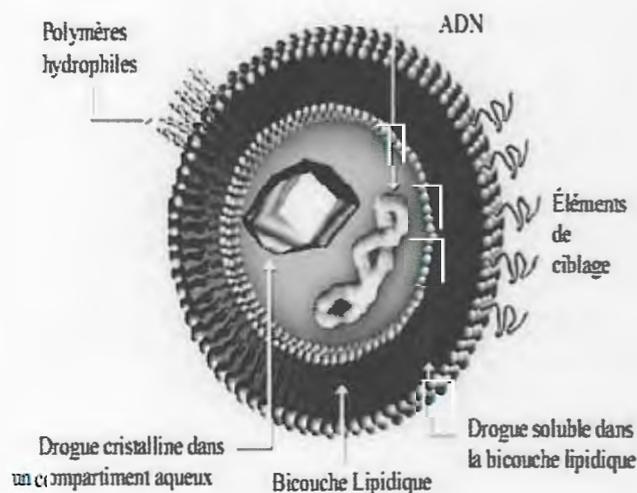


Figure 3. Schéma des liposomes ciblés pour la vectorisation vers la cellule cancéreuse (Torchilin, 2007)

2.3.3. Peptides et Protéines de Translocation

Durant les dix dernières années, un certain nombre de peptides (CPP, *Cell Penetrating Peptide*) ou petites protéines (PTD, *Protein Transduction Domain*), ayant la propriété de traverser la membrane cytoplasmique des cellules eucaryotes ont été utilisés pour vectoriser des macromolécules. Certaines de ces séquences dérivent des protéines naturelles telles que des protéines de surface de virus et bactéries (Gupta *et al.*, 2005).

2.4. Evolution des vecteurs au cours du temps

Le développement des vecteurs de médicaments a connu un essor important au cours de ces dernières années. En fonction de leur biodisponibilité *in vivo*, ils sont classés en trois générations (Tableau 1) (Brighet, 2010; Hocine, 2012).

Tableau 1 : Classification des vecteurs de médicaments (Benoit et al., 1986).

Génération	Première	Deuxième		Troisième
Ciblage	Organes	Tissus		Cellules
Taille	> 1 μm	< 1 μm		< 1 μm
Vecteur	Microsphères Microcapsules Microagrégats	<i>Passifs</i> Liposomes Nanosphères Nanocapsules	<i>Actifs</i> Liposomes Nanosphères Nanocapsules magnétiques ou thermosensibles	Liposomes Nanocapsules Nanosphères pilotées par des molécules de reconnaissance (anticorps, lectines...)
Mécanisme	Embolisation	Capture par le système phagocytaire mononucléé (SPM)		Reconnaissance de la cible

2.4.1. Les vecteurs de première génération

Les vecteurs de première génération sont de taille supérieure au micromètre, soit de type matriciel (microsphère), soit de type vésiculaire (microcapsule) (Socha, 2008).

Les vecteurs de première génération ne présentent aucun greffage en surface. Ils sont généralement administrés par voie intraveineuse et interagissent fortement avec certaines protéines sanguines à cause de la très grande surface spécifique qu'ils développent. Leur surface se recouvre rapidement d'opsonines plasmatiques (protéines spécifiques de récepteurs localisées sur la surface des macrophages comme les immunoglobulines) par création d'interactions hydrophobes fortes. Cela permet aux cellules phagocytaires de les reconnaître comme corps étrangers, de les internaliser par endocytose et finalement de les transporter vers les tissus hépatiques où ils s'accumulent et se concentrent. Cette reconnaissance spécifique des vecteurs de première génération ne permet donc pas de les adresser sélectivement vers des sites autres que le foie, la rate et la moelle osseuse. Elle peut cependant être mise à profit dans le cadre de traitements de métastases hépatique par exemple (Guery, 2006; Hocine, 2012).

2.4.2. Les vecteurs de deuxième génération

La modification de la distribution naturelle des vecteurs de première génération vers d'autres organes que le foie et la rate peut être obtenue avec les vecteurs dits de deuxième génération. Ce sont des vecteurs colloïdaux, la surface a été modifiée à l'aide de polymères hydrophiles et flexibles, typiquement des polyéthylènes glycol (PEG), la taille inférieure au micromètre permettant, après administration intraveineuse, un ciblage actif ou passif au

niveau tissulaire selon que leur distribution *in vivo* est contrôlée ou non par une intervention extracorporelle (magnétisme, chaleur) (Guery, 2006; Socha, 2008).

Dans certains cas, la distribution naturelle de ces vecteurs colloïdaux est dirigée vers les organes du système phagocytaire mononucléé (foie, rate et moelle osseuse). Cette distribution naturelle, dirigée majoritairement vers le foie, a été mise à profit pour permettre un ciblage hépatique des médicaments, par exemple dans le cas de traitements des métastases hépatiques par la doxorubicine vectorisée. Parmi ces vecteurs on distingue les liposomes, les émulsions sèches et les nanoparticules (Socha, 2008).

2.4.3. Les vecteurs de troisième génération

Dans le but d'augmenter l'affinité des vecteurs pour un type tissulaire ou cellulaire défini, la notion d'adressage moléculaire orienté vers des marqueurs spécifiques est apparue. Les vecteurs de troisième génération présentent la particularité de porter un système de ciblage cellulaire spécifique. Ainsi, ils correspondent à des vecteurs de deuxième génération auxquels a été fixé un élément de reconnaissance particulier pour la cible visée, le plus souvent des anticorps monoclonaux (Fluckiger, 1999). Le ciblage de ces marqueurs spécifiques peut être réalisé par des anticorps (le plus souvent monoclonaux), des sucres (interaction avec les lectines), des hormones ou facteurs de croissance, des petites molécules (acide folique par exemple) (Socha, 2008).

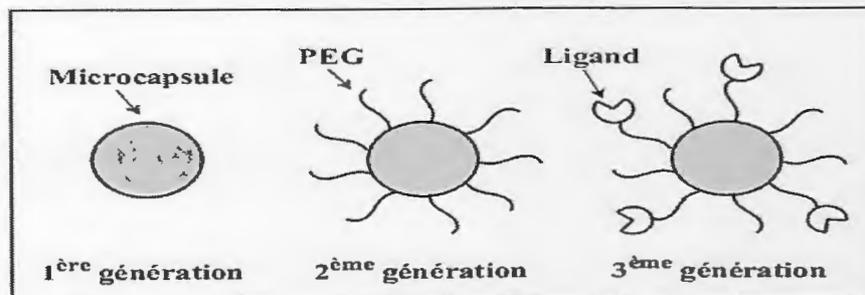


Figure 4. Vecteurs 1^{ère}, 2^{ème} et 3^{ème} génération (Guery, 2006).

2.5. Différents systèmes ou supports utilisés dans le ciblage et la vectorisations des médicaments

Les supports utilisés pour le ciblage et la vectorisation, naturels ou synthétiques, sont appelés gabarits, châssis moléculaires ou encore « templates ». Ce sont principalement des protéines, des systèmes polymériques, des nanoparticules, des virus ou des petites molécules. Développés ou modifiés par les chimistes, ces objets sont utilisés pour présenter de manière multivalente des ligands (reconnaissance des cellules cancéreuses) et vectorisé des éléments thérapeutiques ou/et diagnostiques.

2.5.1. Protéines

Certaines protéines globulaires (Immunoglobuline, Albumine, Avidine) ont été utilisées comme supports pour la présentation de plusieurs copies d'un ligand. Les ligands sont typiquement introduits sur les fonctions nucléophiles de la protéine (résidus lysine, histidine, cystéine ou extrémités *N*-terminales) par l'intermédiaire de bras espaceurs fonctionnels. Cette approche conduit à une structure de composition chimique non définie avec un indice de valence imprécis, sans contrôle de la distance entre les ligands ou de leur orientation. Par ailleurs, les ligands peuvent également être introduits en utilisant les propriétés intrinsèques de certaines protéines. L'avidine peut être utilisée pour la présentation multimérique de ligands grâce à l'association de quatre ligands biotinylés. Cette stratégie permet d'accéder à une structure chimique dont les paramètres de valence sont mieux contrôlés (Dirksen et *al.*, 2005).

2.5.2. Systèmes lipidiques, Nanoparticules, Virus

De par leur taille et la possibilité d'associer différents éléments en périphérie, les virus (Liu et Deisseroth, 2007), les systèmes lipidiques (Dass et Choong, 2006), et les nanoparticules (Sonvico et *al.*, 2005) sont, une fois décorés de ligands, des systèmes de présentation multimérique. Les nanoparticules regroupent communément, les objets d'une taille comprise entre 1 et 100 nm. Ces systèmes peuvent avoir différentes compositions (or, cristaux de quartz, silice) présentant des propriétés intrinsèques spécifiques (fluorescence, magnétisme, opacité aux rayons X) et peuvent être fonctionnalisés avec plusieurs copies d'un ligand (Liu et *al.*, 2007) par exemple, des nanocristaux fluorescents inorganiques « *quantum dot* » présentant de façon multimérique un peptide d'adressage tumoral (dirigé contre une protéine de surface, la nucléoline) ont permis de vectoriser des éléments thérapeutiques, tels que des siRNA (Derfus et *al.*, 2007).

2.5.3. Systèmes Polymériques

Divers polymères sont employés dans l'encapsulation de principes actifs. On peut classer ces polymères selon différents critères. La classification la plus judicieuse est de les différencier selon leur origine, ensuite selon la structure chimique (Brighet, 2010).

Dans tous les cas, ils doivent être biocompatibles, non toxiques (absence de réactivité avec le tissu), non immunogènes, non cancérogènes. Ils doivent également pouvoir être biodégradés dans l'organisme et leurs produits de dégradation bien tolérés. S'ils ne sont pas biodégradables, ils doivent pouvoir être éliminés par les voies naturelles après solubilisation dans les fluides biologiques. Ceci suppose que leur masse moléculaire soit suffisamment faible pour passer au travers du filtre rénal. Compte tenu de la très grande variété des polymères utilisables, nous ne mentionnerons ici que les principaux (Wu, 2007).

2.5.3.1. Polymères naturels

Les polymères naturels sont de deux types, les protéines (albumine, gélatine) (Weber et *al.*, 2000), et les polysaccharides (Dextrane, Alginate, Chitosane, cellulose) (Hovgaard et Bronsded, 1995 ; Mitra et *al.*, 2001). Les polysaccharides sont les plus utilisés pour constituer la couche hydrophile des particules. Ils présentent, pour la plupart, une biocompatibilité satisfaisante, et ils sont parfois biodégradables. Ils sont extrêmement hydrophiles, et de nombreux polysaccharides peuvent entrer dans des cycles de dégradation par la cellule et/ou le tissu, ce qui est un avantage prépondérant dans l'interface vivant/matériaux. De plus, comme ils sont constitués de sous-unités saccharidiques (type galactose, glucose ou dérivé acide ou N-acétylé...), leurs produits de dégradation sont facilement éliminés, voire assimilés par l'organisme. Par ailleurs, ce sont des polymères dont l'origine est bien connue et depuis longtemps, ce qui a permis de mettre en œuvre de nombreux procédés d'extraction avec un fort taux de rendement (exemple, l'alginate des algues brunes ou le hyaluronate du cartilage de requins...) (Wu, 2007). Les principaux polysaccharides utilisés pour constituer la couche hydrophile des vecteurs « furtifs » sont les suivants:

a. Chitosane

Le chitosane (figure 5) est un copolymère linéaire constitué d'unités de glucosamine et de N-acétyl glucosamine. Il est obtenu par désacétylation de la chitine, polysaccharide très abondant sur terre, et qui se trouve principalement dans les carapaces des crustacées et dans certains champignons (Thanou et Junginger, 2004). Les propriétés du chitosane dépendent de son degré d'acétylation (DA). Il n'est soluble qu'à pH compris entre 2 et 6 lorsque le DA est inférieur à 25 % ; quand le DA est proche de 50%, il devient soluble quel que soit le pH : par contre si le DA devient supérieur à 60%, il est complètement insoluble dans l'eau pour des pH > 6 à cause de la formation de liaisons hydrogène (Domard, 2001). La masse molaire est un autre paramètre influençant la solubilité du chitosane en milieu aqueux : la solubilité augmente lorsque la masse molaire diminue. Ceci est également dû à la formation de liaisons hydrogène avec l'eau (Anthonsen et *al.*, 1993). Le chitosane est un polymère cationique qui est plus ou moins chargé positivement selon le pH de l'environnement. Il est donc capable de s'adsorber à la surface de muqueuses (structure anionique) par interaction ionique (Grabovac et *al.*, 2005). Ceci permet d'augmenter le temps de résidence du principe actif dans l'organe concerné. Les micro/nanoparticules de chitosane ont été proposées comme vecteur de médicament pour les traitements anti-inflammatoires du colon (Andreas et Hand, 2004).

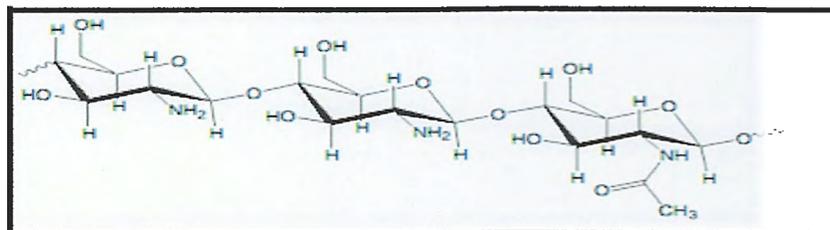


Figure 5. Structure chimique de chitosane (Wu, 2007).

b. Alginate

Les alginates (figure 6) extraits de plantes marines (algues), sont des polysaccharides linéaires anioniques, constitués des sels de deux acides uroniques dérivant du mannose : acide β -D-mannuronique (M) et son épimère l'acide α -L-guluronique (G).

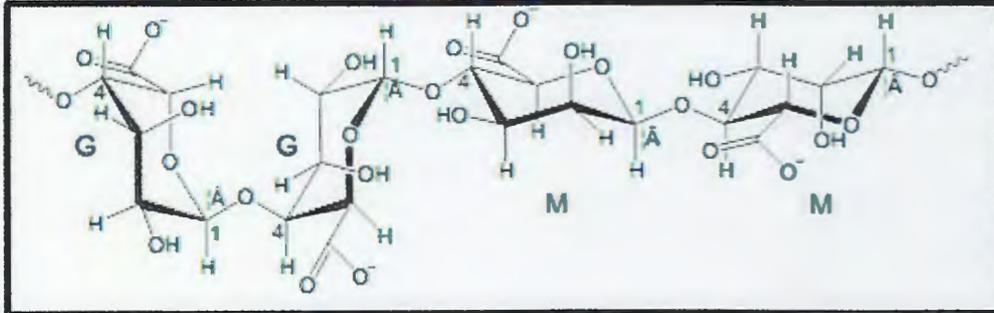


Figure 6. Structure chimique de l'alginate (Wu, 2007).

Les alginates sont capables de former des liaisons ioniques accompagnées de changements conformationnels en présence d'ions bivalents tels que le Ca^{+2} (Draget et al., 1997). Les conditions de gélification des alginates étant très douces, c'est-à-dire ne nécessitant pas d'avoir recours à des solvants ou à de hautes températures (Bowersock et Hogenesch, 1997), cela permet d'utiliser les gels alginates pour encapsuler tous types d'antigènes sans risquer de dénaturer les épitopes. Il en est de même pour les principes actifs fragiles (enzymes) (Keshaw et al., 2005) ou des cellules (Read et al., 1999). Le principe actif est libéré soit par diffusion, soit par érosion de la couche d'alginate (Liew et al., 2006).

c. Dextrane

Le dextrane (figure 7) est un polysaccharide neutre et hydrophile, constitué d'un enchainement α -1,6 d'unités glucopyranose avec des chaînes latérales en α -1,2, α -1,3, ou α -1,4 (Khalikova et al., 2005). Il contient un grand nombre de groupements hydroxyle qui interagissent facilement avec des médicaments ou des protéines par liaison ou interaction chimique.

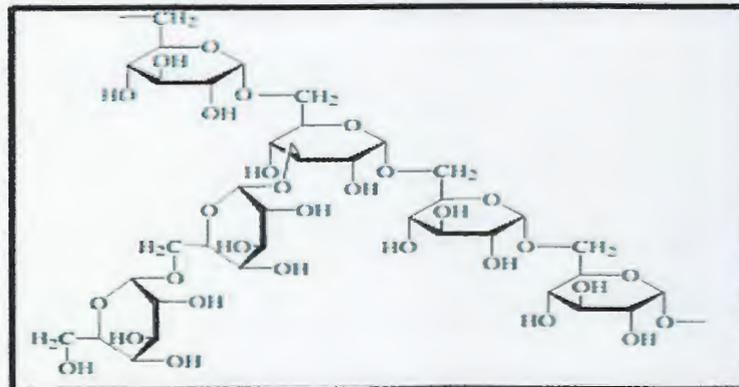


Figure 7. Structure chimique du dextrane constitué d'enchainement d'unités α -D-glucopyranose avec des chaînes latérales en α -1,3 (Wu, 2007).

Les dextrans de faibles masses molaires sont éliminés directement de l'organisme par le système de filtration rénale (Mehvar, 2000; Nouvel, 2002). Par ailleurs, quelle que soit sa masse molaire, le dextrane est dégradé en glucose par dextranase (α -1 glucosidas), enzyme présente dans les organes du système des phagocytes mononuclées composé du foie, de la rate et du rein. Le glucose est lui-même totalement hydrolysé en CO₂ et en H₂O. Le Dextrane est donc totalement biodégradable et biorésorbable, par conséquent bioéliminable, qualité indispensable pour une application *in vivo*. De plus, ses produits de dégradation sont des éléments constitutifs du système vivant et ne sont donc pas toxiques pour l'organisme (Mehvar, 2000).

Les applications du dextrane sont nombreuses. Il peut être couplé à un principe actif grâce aux nombreux groupements hydroxyle présents le long de leur chaîne. Le dextrane prolonge ainsi le temps de circulation du principe actif dans le sang, limite sa dispersion hors des vaisseaux sanguins, et le protège contre les dégradations chimiques ou biologiques (Mehvar, 2000). La libération du principe actif est obtenue après hydrolyse de la liaison Dextrane - principe actif (Baudys et *al.*, 1998).

5.3.2. Polymères synthétiques

Par rapport aux polymères naturels, les polymères synthétiques présentent certains avantages mentionnés ci-après :

Grace à la très grande variété des monomères, la composition chimique des polymères et copolymères est largement modulable.

En utilisant les méthodes de synthèse macromoléculaires appropriées, on peut obtenir le contrôle complet de la taille et de la distribution de la masse molaire. On peut également élaborer des architectures définies par le biais de la chimie des polymères, les propriétés mécaniques, viscoélastiques ou tensioactives peuvent être relativement contrôlées (Wu, 2007).

Parmi les polymères synthétique, les polyesters aliphatiques ont été très largement étudiés pour leur biocompatibilité et leur capacité à être (bio)dégradés *in vivo*.

a. Polyesters aliphatiques

Le poly(acide glycolique) (PGA), le poly(acide lactique) (PLA), les copolymères poly (acide lactique-co-glycolique) (PLGA) sont des polyesters aliphatiques (Figure 8) fréquemment utilisés pour la vectorisation de principe actif (Li et Vert, 1999).

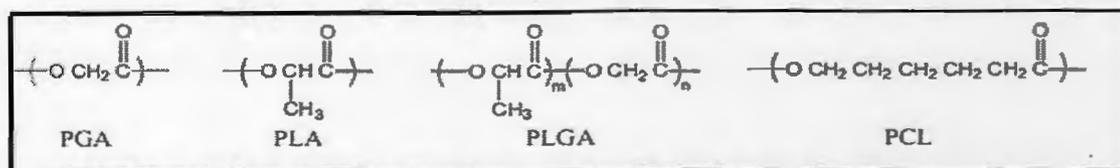


Figure 8. Structure chimique des polyesters aliphatiques (Wu, 2007).

Ils sont largement étudiés du fait de leur biocompatibilité, leur (bio)dégradabilité contrôlée, de la faible toxicité des sous-produits de dégradation et de leur aptitude à libérer de façon contrôlée de macromolécules biologiques, telle que les protéines (Wang et Wu, 1998). Leur dégradation se fait par hydrolyse dans un délai allant de quelques heures à quelques mois selon la masse molaire, la morphologie et le rapport surface sur volume du polymère. La dégradation produit de l'acide lactique et l'acide glycolique qui sont des métabolites naturels de l'organisme, *in fine* ces métabolites sont transformés en CO₂ et eau. Par ailleurs, la cinétique de dégradation des PLGA peut être contrôlée par leur composition, c'est-à-dire par le taux de lactide par rapport à celui de glycolide (Lin et al., 2000). Dans le cas de microsphères de PLGA, la vitesse de dégradation augmente avec la proportion d'unité glycolique (Blanco et al., 2007; Kocbek et al., 2007). Ces molécules sont notamment utilisées pour encapsuler des anticorps (Cirstoiu et al., 2007) et des agents anticancéreux (Zhang, 2007).

La poly(ε-caprolactone)(PCL) est également un polyester aliphatique. Elle est obtenue par la polymérisation par ouverture de cycle de l'ε-caprolactone. La PCL est plus hydrophobe que les polymères précédents et subit une dégradation lente *in vivo* (1 à 2 ans) en présence de lipase. Les microcapsules de PCL peuvent être utilisées comme vecteurs de vaccins (Jamees et al., 1997).

b. Dérivés du type méthacrylate

Le poly(méthyl-méthacrylate) (PMMA) est synthétisé à partir du méthacrylate de méthyle (MMA) par polymérisation radicalaire (Figure 9) amorcée par irradiation UV, ou par amorçage chimique (peroxodisulfate de potassium ou d'ammonium) (Berg et al., 1986).

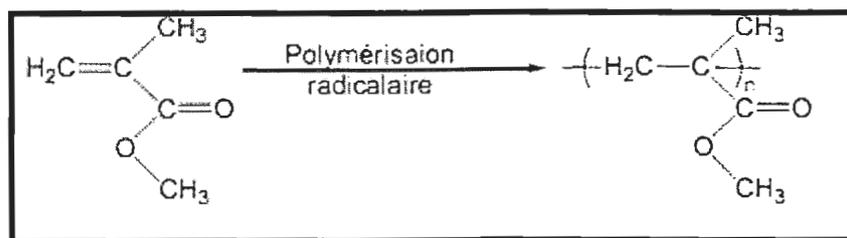


Figure 9. Mécanisme de la polymérisation radicalaire du MMA (Wu, 2007).

Il permet d'encapsuler des principes actifs hydrophiles (daunorubicine, doxorubicine, bromure d'éthidium) mais aussi hydrophiles comme des antigènes (Kreuter et Liehl, 1981). Dans ce cas, ces derniers sont adsorbés à la surface des nanoparticules. Cependant, le PMMA est un polymère non biodégradable, ce qui peut aboutir à une toxicité par accumulation au niveau de certains compartiments *in vivo*. C'est pour pallier ce problème que les nanoparticules de PACA ont été développées (Couvreur et al., 1979).

c. Les poly (alkyl cyanoacrylate)

Les poly(alkyl-cyanoacrylate)s (PACA)s sont des polymères non toxiques, non immunogènes et bioéliminables. Ils sont généralement synthétisés à partir des alkylcyanoacrylates (ACA)s par polymérisation anionique en milieu acide. Les nanoparticules à base de PACA recouvertes

par une couche hydrophile sont souvent utilisées pour encapsules des principes actifs en chimiothérapie du cancer (Chauvierre et *al.*, 2004)

Les PACAs se dégradent principalement par hydrolyse de la liaison ester de la chaîne alkyle. La dégradation produit un alcool et le poly(acide cyanoacrylique) (Lenaerts et *al.*, 1984). Ces composés sont solubles dans l'eau, et éliminés *in vivo* par le rein à condition que leur masse molaire ne soit pas trop élevée. Les PACAs se dépolymérisent probablement *in vivo*, ce qui conduit à la formation d'un polymère de masse molaire plus faible que la masse molaire initiale (Robello et *al.*, 1999 ; Vautier et *al.*, 2003).

d. Poly (oxyde d'éthylène)

Le poly(oxyde d'éthylène) (POE), est un polymère synthétique linéaire obtenu par polymérisation anionique de l'oxyde d'éthylène. Il est largement utilisé pour la modification de surface de particules en raison de certaines de ces propriétés telles que l'hydrosolubilité, la flexibilité, la biocompatibilité, et l'absence de toxicité. Cependant, il ne peut être bioéliminé lorsque sa masse molaire est supérieure à 20 000 g/mol (Lee et *al.*, 1995). Donc, seuls les POE de masse molaire peu élevée (< 20 000 g/mol) peuvent être utilisés pour les applications biomédicales. Le greffage de chaînes de POE à la surface de particules est une méthode fréquemment utilisée pour la modification des surfaces hydrophobes (Vila et *al.*, 2002 ; Chan et *al.*, 2007).

2.6. Biocompatibilité des vecteurs

Etant donné le caractère exogène des nanoparticules injectées par voie intraveineuse, celles-ci doivent subir divers tests de toxicité avant de pouvoir être utilisées. Notamment, il faut vérifier que ces matériaux ne sont pas susceptibles d'interagir avec le sang et qu'ils n'induisent pas d'effets thrombogènes ou immunogènes. Par exemple, des ferrofluides ioniques de magnétite et de maghémite stabilisés ou non par des tartrates, injectés par voie intraveineuse dans des souris, se sont avérés hautement toxiques. Ces dispersions ont engendré des réactions inflammatoires sévères, des morts cellulaires et se sont révélées mutagènes (Lacava et *al.*, 1999).

Afin d'éviter cette déconvenue, le choix initial des matériaux et notamment des macromolécules utilisées dans la fabrication des vecteurs et des agents de contraste doit être fait en prenant soin de vérifier leur hémocompatibilité.

Des tests de cytotoxicité *in vitro* doivent aussi être envisagés pour vérifier l'inertie des particules vis-à-vis des cellules et particulièrement par rapport aux cellules endothéliales, situées à l'interface entre le sang circulant et le tissu vasculaire, qui jouent un rôle clef dans les mécanismes de coagulation du sang (Chouly, 1993).

CHAPITRE II.

Les microparticules

1. Définition

Les microparticules sont composées d'un matériau enrobant constitué de polymères synthétiques ou naturels ou encore de lipides et, en général, d'une matière active. Elles présentent une taille comprise entre 1 et 1000 μm . Leur distribution granulométrique est de type gaussien, varie avec le procédé de fabrication choisi et est déterminée par granulométrie à variation de résistance électrique ou diffraction laser (Aiache et *al.*, 2007).

Selon le domaine d'application des microparticules, des propriétés de biocompatibilité et/ou de biodégradabilité seront requises. Les lipides (acides gras, alcools gras, glycérides, cholestérol...) seront plutôt utilisés sous forme solide, de même que les cires naturelles ou minérales. D'autres matériaux tels que des stabilisants (tensioactifs, dispersants, antimottants...) ou des cryoprotecteurs peuvent être ajoutés à la formulation des microparticules. L'ensemble des composés va intervenir dans le profil de libération de la matière active (Aiache et *al.*, 2007).

2. Classification

La morphologie des microparticules peut être observée par microscopie optique ou électronique. Deux structures peuvent exister : les microsphères et les microcapsules (Figure 10).

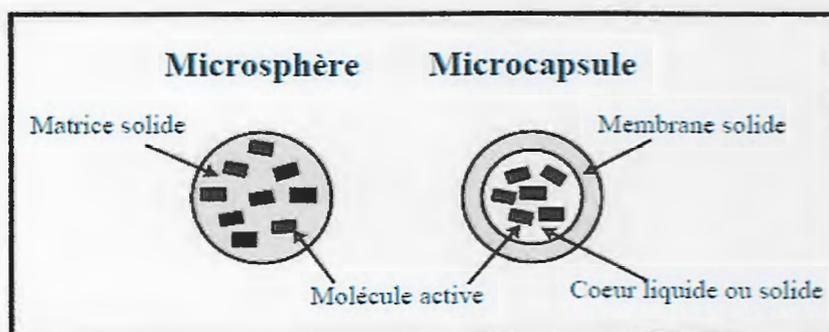


Figure 10. Représentation schématique d'une microsphères et d'une microcapsule (Gurey, 2006)

2.1. Les microsphères

Sont formées d'une matrice continue de polymère ou de lipide au sein de laquelle le principe actif est dissout ou dispersé (Aiache et *al.*, 2007).

2.2. Les microcapsules

Sont quant à elles des réservoirs constitués d'un cœur de principe actif sous forme liquide, solide ou éventuellement gazeux, entouré par une membrane de matériau enrobant (Aiache et *al.*, 2007).

3. Encapsulation et cinétique de libération

Les microparticules contiennent de manière très variable entre 1 et 90% en masse de matière active. Les taux d'encapsulation déterminés par CLHP ou spectrophotométrie sont généralement plus élevés au sein des réservoirs formés par les microcapsules. En effet, une dispersion moléculaire de matière active encapsulée ne se libérera pas de la même manière que des cristaux et n'aura pas non plus la même stabilité au sein du système (Aiache et *al.*, 2007).

En fonction de l'application visée, les microparticules sont conçues pour libérer l'espèce, soit de manière déclenchée, soit de manière continue. Les systèmes à libération déclenchée sont généralement des microcapsules formées d'une membrane de faible perméabilité, qui vont libérer brutalement leur contenu par éclatement de cette membrane. La rupture est alors déclenchée, soit par une pression (mécanique ou osmotique), une variation de température, une variation de pH ou encore la dégradation enzymatique de la membrane. Les systèmes à libération continue sont majoritairement des microsphères (Figure 11). Les mécanismes mis en jeu sont, soit la diffusion de l'espèce à travers la matrice, soit la dégradation (érosion) ou dissolution de la matrice ou encore un couplage des deux (Shah et *al.*, 1992).

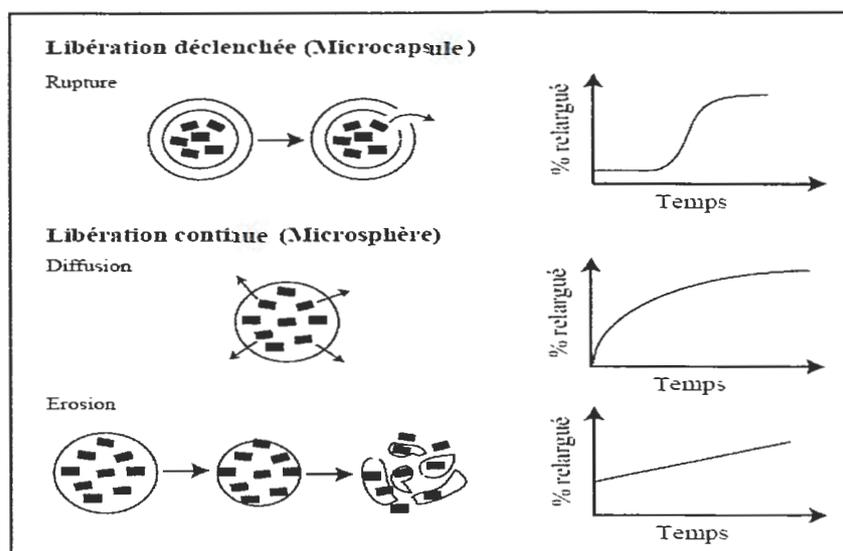


Figure 11. Représentation schématique des différents modes de relargage des microparticules et allure des cinétiques de relargage (Kreuter, 1994).

Les profils de la figure 2 donnent une allure générale des différents modes de relargage des microparticules (Kreuter, 1994). Cependant, les cinétiques de libération de l'espèce encapsulée sont avant tout déterminées par les caractéristiques physicochimiques du système. Ces caractéristiques physicochimiques sont fonction du type de polymère ou de lipide utilisé mais aussi du processus de fabrication. Plus de 200 types de formulation sont actuellement citées dans la littérature et chacune d'elle influence l'arrangement de la microparticule mais aussi son taux d'encapsulation (Couvreur et *al.*, 1995; Pinto Reis et *al.*, 2006). Défini comme

le rapport entre la masse de matière active sur la masse totale de la microparticule, le taux d'encapsulation peut être élevé dans les microcapsules, de l'ordre de 85 à 90%. Dans le cas des microsphères, il reste relativement faible de l'ordre de 20 à 35% (Kreuter, 1994).

Les principaux paramètres qui gouvernent les propriétés d'encapsulation de ces systèmes sont:

- Les paramètres externes tels que la température, le pH, la présence d'enzyme dans le milieu continu pouvant dégrader la particule, l'humidité (Sauer et al., 2001; Lamprecht et al., 2004; Gao et al., 2005)
- Les paramètres intrinsèques à la phase interne tels que la solubilité de l'espèce, sa température d'ébullition et de fusion (Sansdrap et al., 1993).
- Les paramètres intrinsèques à la matrice ou à la membrane tels que la taille de la particule (Berkland et al., 2002 ; Berkland et al., 2003 ; Siepman et al., 2004), l'épaisseur de la membrane, la structure chimique du polymère, sa masse moléculaire (Capan et al., 1999), sa cristallinité et sa porosité (Klose et al., 2006).

4. Les différents procédés de microencapsulation

Les microparticules peuvent être obtenues de plusieurs façons, suivant les caractéristiques du polymère, du principe actif, du site d'action du principe actif et de la durée envisagée de l'action thérapeutique (Giraud, 2002; Park et al., 2005). On distinguera trois grandes familles de procédés d'obtention : Procédé physico-chimique, procédé chimique et procédé mécanique (tableau 2).

Tableau 2. Classification des procédés de microencapsulation (Dieuleveult-Courage, 1990)

Procédé	Techniques d'encapsulation	Quelques exemples de polymères
Physico-chimique	Coacervation simple	Gélatine ; méthylcellulose ; pectine ; alcool polyvinylique ; acétophtalate de sodium
	Coacervation complexe	Gélatine/gomme arabique ; gélatine/acide polyacrylique ; gélatine/alginate de sodium
	Hot-melt ou fusion du matériau support	Cire de carnauba
	Evaporation de solvant	Poly(acide lactique) ; poly(acide glycolique) ; polystyrène ; poly(méthacrylate de méthyle) ; éthylcellulose ; copolymère(acide lactique/acide glycolique)....
chimiques	Polymérisation interfaciale	Polyamides ; polyesters ; polyuréthanes ; polyurée

	interfaciale	
	Polymérisation in situ	Dérivés acryliques ; poly(méthacrylate de méthyle) ; dérivés du polystyrène
Mécaniques	Lit d'air fluidisé	Alginates ; dérivés cellulosique ; dérivés méthacryliques ; sucres (application dans l'industrie alimentaire)
	Nébulisation (spray-drying)	Colloïdes hydrophiles ; gomme arabique ; dérivés cellulosique ; gélatine

4.1. Procédés physico-chimiques

4.1.1. Techniques de coacervation

Les techniques de coacervation s'appliquent à des solutions colloïdales de substances macromoléculaires ; le terme coacervation décrivant un changement de solubilité des solutions de colloïdes. Le procédé d'encapsulation par coacervation est décrit dans la figure 12. La première étape consiste à disperser le produit à encapsuler dans une solution colloïdale (étape 1). Puis, on modifie la solubilité du colloïde (étape 2). Il existe différentes façons de modifier la solubilité des substances macromoléculaires (variation de pH, variation de concentration, variation de la force ionique (activité), variation de température, addition d'un polymère incompatible, addition d'un non-solvant). Les substances macromoléculaires devenant moins solubles se regroupent pour former des gouttelettes appelées coacervats. Ces gouttelettes riches en polymère se regroupent autour de la substance à encapsuler pour former un enrobage continu (étape 3). Elles coalescent pour former un film solide continu. Puis, il y a un renforcement de la membrane par réticulation du polymère (étape 4) (Giraud, 2002).

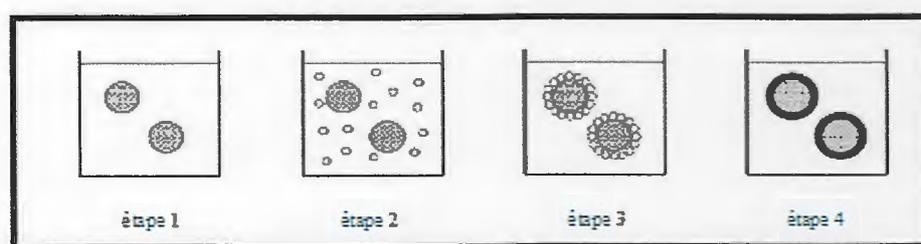


Figure 12. Principe de l'encapsulation par coacervation (Giraud, 2002).

Il est possible de mettre en œuvre la coacervation avec un seul colloïde, coacervation simple, ou bien avec deux colloïdes, on parle alors de coacervation complexe. Cette technique permet d'encapsuler des produits lipophiles ou hydrophiles (Giraud, 2002).

Selon la nature du produit à encapsuler, on peut définir un procédé en choisissant judicieusement le polymère, le solvant et l'agent de coacervation (tableau 3).

Tableau 3. Polymères, solvants et agents de coacervation couramment employés dans les méthodes d'encapsulation par coacervation (Bryjes, 1996)

Polymères	Solvants	agents de coacervation
Gélatine	Eau	Ethanol, sels ioniques de Na, K, NH ₄
Méthylcellulose	Eau	Acétone, électrolytes
Pectine	Eau	Isopropanol
Alcool PolyVinyle (PVA)	Eau	Propanol
Acétophtalate de cellulose	Eau	Di-sodium hydrogénophosphate
Ethylcellulose	Dichlorométhane	Addition d'un non-solvant, (n-hexane)
Carboxyméthylcellulose et poly(D, L)-lactique	Acétate d'éthyle	Addition d'un non-solvant, Ether éthylique
Nitrate de cellulose	Ether	Coacervation interfaciale induite par la nature aqueuse du produit encapsulé
Polyéthylène-co-acétate de vinyle	Toluène chaud	Addition d'un polymère incompatible (polybutadiène, polyméthysiloxane) et abaissement de la température

4.1.2. Technique par fusion à chaud du matériau support

La substance à encapsuler est dissoute ou dispersée dans le matériau support fondu. L'ensemble est émulsifié dans une phase dispersante pour laquelle le principe actif n'a pas d'affinité : eau distillée lorsque la substance à encapsuler est lipophile, huile de silicone par exemple lorsqu'elle est hydrophile. La solidification des globules dispersés est obtenue par refroidissement brutal du milieu réactionnel. Les matériaux supports généralement utilisés dans cette technique de microencapsulation sont des solides de bas point de fusion telle que la cire de carnauba. L'agrégation des microparticules pendant la phase de récupération est un problème souvent rencontré dans ce type de procédé (Giraud, 2002).

4.1.3. Technique par évaporation de solvant

Cette technique permet d'encapsuler une grande variété de principe actif solide ou liquide, hydrophile ou lipophile. Suivant la nature du principe actif, on obtient des systèmes réservoirs ou matriciels. Le principe général de la technique d'évaporation de solvant est le suivant : il y a toujours un solvant X du polymère constituant la phase à disperser et un solvant Y servant de phase continue. On choisit toujours un couple de solvants X et Y possédant une faible miscibilité réciproque (quelques %). Dans un premier temps, le solvant X de la phase dispersée diffuse vers la phase continue (solvant Y). Dans un deuxième temps,

il y a évaporation du solvant X à l'interface entre le milieu en suspension et le milieu atmosphérique. Il faut donc choisir le solvant X en fonction de sa miscibilité avec le solvant Y et de sa volatilité. Il est préférable qu'il ait un point d'ébullition assez bas et une tension de vapeur élevée. On peut accélérer l'évaporation du solvant X en maintenant une pression réduite à l'interface (milieu en suspension / milieu atmosphérique) ou en renouvelant la partie gaz de cette interface. Le dichlorométhane est de loin le solvant X le plus utilisé. Il est très volatil, ce qui favorise son évaporation et de plus il solubilise un nombre important de polymères. Son plus grand inconvénient est sa toxicité, d'autant que des quantités notables de dichlorométhane peuvent rester dans la microcapsule après séchage (Bryjes, 1996).

Le premier cas concerne les principes actifs solides ou les solubles dans la solution de polymère. Ainsi on a dans la solution de polymère soit la formation d'une dispersion du principe actif solide, soit la solubilisation du principe actif. La dispersion (principe actif solide / solution de polymère) ou la solution (principe actif + polymère) est ensuite dispersée dans un solvant non miscible qui constitue la phase continue d'une émulsion (Figure 13). Une fois le solvant X du polymère évaporé (après sa diffusion à travers la phase continue), on obtient un système matriciel, le principe actif étant inclus dans une matrice dense. Généralement, il reste des traces de solvant du polymère dans les parois des microcapsules (Bryjes, 1996).

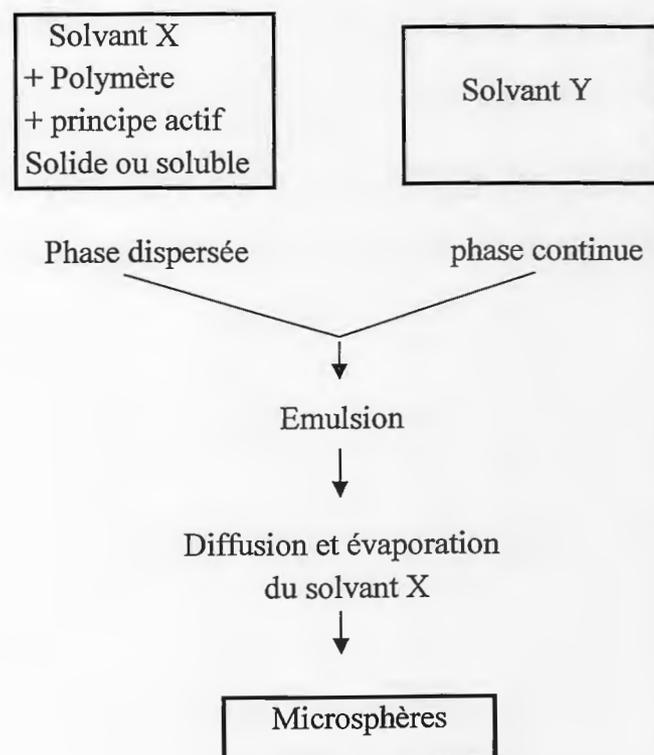


Figure 13. Schéma du procédé de microencapsulation par évaporation de solvant pour principe actif solide ou soluble dans la solution de polymère (Bryjes, 1996)

Le second cas concerne les principes actifs liquides non miscibles dans le solvant du polymère. Le schéma de principe est présenté dans la Figure 14. Il y a, dans un premier temps, formation d'une émulsion primaire, le principe actif est dispersé dans la solution du polymère. Ensuite l'ensemble de cette émulsion primaire constitue la phase à disperser de l'émulsion

secondaire. On prépare l'émulsion secondaire en se servant d'une phase continue de même nature que celle du produit actif. Cette émulsion est dite complexe, par exemple eau dans huile dans eau (E/H/E) si le principe actif est hydrophile. Après diffusion et évaporation du solvant du polymère, on obtient dans ce cas un système réservoir. Lors de la formation de l'émulsion secondaire, si la membrane liquide de solution de polymère n'est pas continue et étanche. Il y a une fuite du principe actif qui est soluble dans la phase continue. D'autre part, la membrane formée étant poreuse, il ne faut pas que l'opération dure trop longtemps car le rendement d'encapsulation peut diminuer si la cinétique de relargage du produit est suffisamment rapide (Bryjes, 1996).

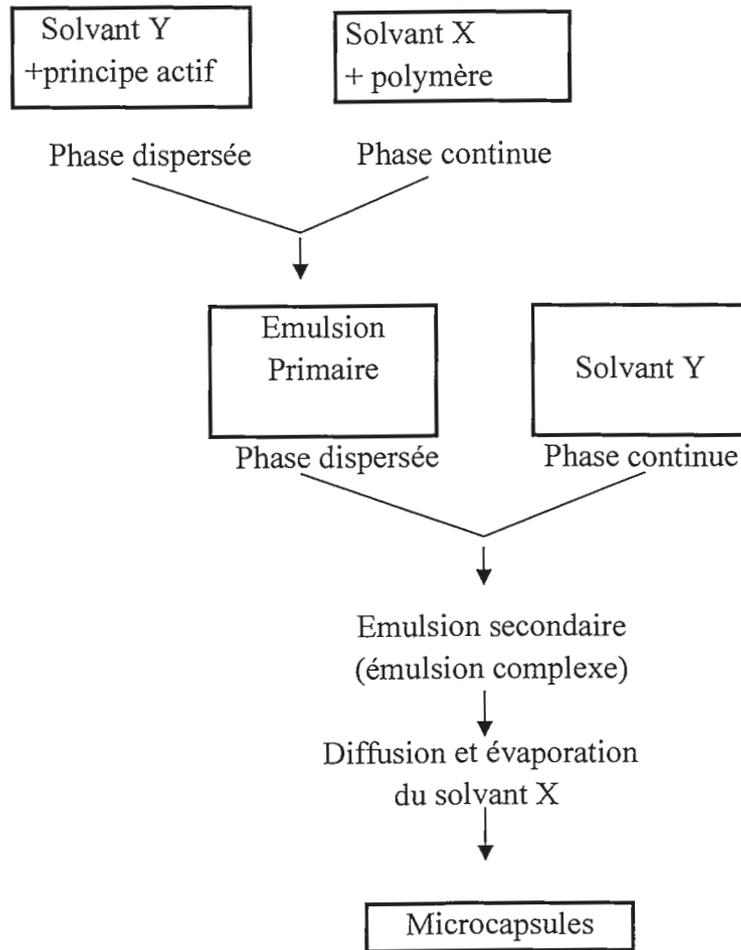


Figure 14. Schéma du procédé de microencapsulation par évaporation de solvant pour principe actif non soluble dans la solution de polymère (Bryjes, 1996).

4.2. Procédés chimiques

4.2.1 Encapsulation par polymérisation interfaciale

Cette technique, qui est la plus récente, combine une émulsion eau dans huile (E/H) ou huile dans eau (H/E) et une réaction chimique entre deux réactifs à l'interface de la phase continue et de la phase disperser. La phase à disperser contient un solvant, un principe actif et

le monomère A. elle peut être soit aqueuse, soit organique. La phase continue est constituée d'un solvant et d'un monomère B. Le déroulement d'une polymérisation interfaciale appliquée à la formation de microparticules est schématisé à la figure 15. Au départ l'émulsion se fait en l'absence du monomère B. Ce dernier n'est introduit qu'à partir du moment où l'émulsion est stabilisée. La réaction de polymérisation peut ensuite débiter (Giraud, 2002).

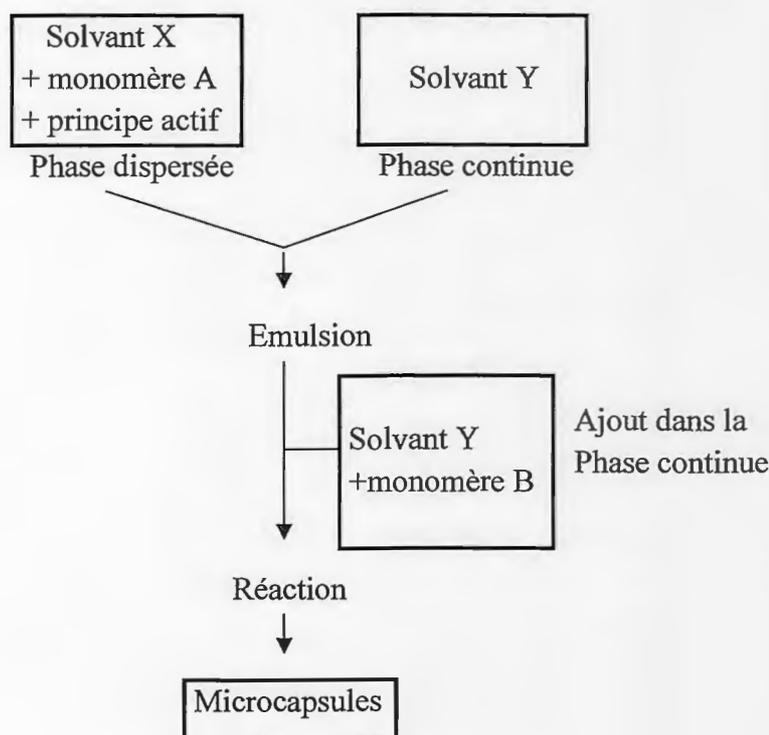


Figure 15. Schéma de principe actif de la microencapsulation par polymérisation interfaciale (Giraud, 2002)

Dans les conditions idéales où chacun des monomères est présent dans une seule des deux phases (coefficients de partage égaux à 0 ou 1) la réaction de polymérisation démarre nécessairement à l'interface et forme la première pellicule protectrice des microparticules appelée membrane primaire. Ensuite par diffusion des monomères à travers la première pellicule, la réaction de polymérisation continue. En pratique, il peut exister un coefficient de partage des monomères dans chacune des deux phases, des oligomères peuvent donc se former à l'intérieur des gouttelettes (Arshady, 1989). Deux situations extrêmes peuvent se produire, ce qui explique l'obtention possible de microsphères ou microparticules (figure 16):

- Les premiers oligomères formés sont très solubles dans les gouttelettes ; par conséquent, ils croissent dans les gouttes jusqu'à former une matrice polymère solide formant ainsi des microsphères.
- Les oligomères initialement formés sont insolubles dans les gouttelettes de substance à encapsuler

- suler ; lorsqu'ils grandissent, ils précipitent à l'interface de la particule dispersée et forment la membrane protectrice autour des gouttelettes coduisant ainsi à des microcapsules.

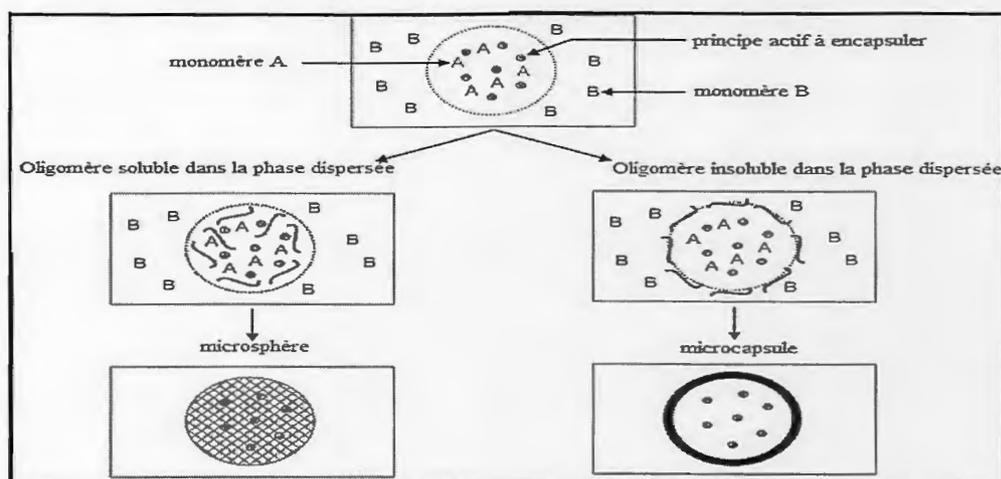


Figure 16. Mécanisme de formation des microparticules par polymérisation interfaciale (Giraud, 2002)

Les principaux polymères formés sont donnés dans le tableau 4. Les monomères cités sont difonctionnels car ce sont les plus courants, mais ils peuvent être polyfonctionnels l'un ou l'autre ou les deux. Il y a principalement deux types de réactions chimiques, la polyaddition et la polycondensation. Il existe un cas particulier de la polymérisation interfacial lorsqu'on réalise l'émulsion d'un mélange constitué d'une substance à encapsuler et d'un polyisocyanate dans une simple phase aqueuse. Par chauffage, les isocyanates sont partiellement hydrolysés à l'interface des phases organique/eau, donnant naissance à des amines primaires et un dégagement de gaz carbonique. Ces amines réagissent à leur tour avec les isocyanates non hydrolysés pour former la couronne polyurée de la microcapsule (Giraud, 2002)

Tableau 4. Principaux polymères formés par polymérisation interfaciale (Arshady, 1989).

Monomère phase aqueuse	Monomère Phase organique	Polymère formé à l'interface	Type de réaction
Diamine	Dichlorure d'acyle	Polyamide	Polycondensation
Diphénol	Dichlorure d'acyle	Polyester	Polycondensation
Diamine	Dichloroformiate	Polyuréthane	Polycondensation
Diol	Diisocyanate	Polyuréthane	Polyaddition
Diamine	Diisocyanate	Polyurée	Polyaddition
Monomère formé in situ (amine primaire)	Diisocyanate	Polyurée	Polycondensation + Polyaddition

4.2.2. Microencapsulation par polymérisation *in situ*

Un monomère, le plus souvent vinylique ou acrylique tel le styrène ou méthacrylate de méthyle, est solubilisé à encapsuler en présence d'un amorceur organosoluble. Cette solution est émulsion dans l'eau à l'aide d'un tensioactif approprié. La polymérisation étant amorcée, la polymère résultant, qui doit être incompatible avec l'eau et plus hydrophile que la substance à encapsuler, peut alors se déposer à l'interface phase organique-eau pour former la couronne de la particule. Pour la consolider, un réticulant tel le divinylbenzène peut être utilisé avec le styrène comme co-monomère. Il faut noter que par cette technique, on obtient très souvent la formation de microsphère (Hantz, 1989).

Des systèmes particuliers, le plus souvent classés parmi les procédés d'encapsulation *in situ*, sont les méthodes d'encapsulation basées sur l'utilisation de prépolymères solubles dans l'eau. Ces systèmes font intervenir des précondensats de formaldéhyde et d'urée ou de formaldéhyde et de mélamine. La précipitation de ces précondensats solubles dans l'eau est induite par chauffage en milieu acide (Hantz, 1989).

4.3. Procédés mécaniques

Les procédés mécaniques, plutôt répandus dans l'industrie agro-alimentaire, s'apparentent souvent aux techniques d'enrobage. Les deux principales techniques sont celle par lit d'air fluidisé et celle par nébulisation (*spray-drying*). Dans la première, des particules solides sont dispersées dans une solution organique contenant un polymère solubilisé. Sous l'action d'un fort courant d'air ascendant, ces particules sont mises en suspension dans l'air ce qui a pour effet d'évaporer le solvant et d'enrober les particules de polymère. La seconde technique, celle par nébulisation, utilise une solution aqueuse de polymère contenant un principe actif. Cette phase est injectée par une buse dans un courant d'air chaud. Les fines gouttelette ainsi formées s'évaporent très rapidement dans l'air chaud, donnant une particule solide (Hantz, 1989).

5. Avantages et inconvénients des microparticules

En effet, les microparticules représentent une alternative importante aux problèmes associés à l'administration des implants par des procédures chirurgicales (Jain, 2000). Grâce à leur faible taille, les microparticules peuvent être administrées avec des seringues équipées d'aiguilles conventionnelles (Park et *al.*, 2005), après mise en suspension dans un diluant adéquat. Cependant, un des inconvénients lié à l'utilisation des microparticules est le fait qu'une fois administrées, elles ne peuvent plus être retirées du patient. D'autre part, les procédés de fabrication des microparticules sont souvent complexes et coûteux. Le suivi de multiples opérations pharmaceutiques tels que l'émulsification, la filtration ou la centrifugation, la lyophilisation et la stérilisation par radiations γ ou β font que leur préparation est réputée, à juste titre, difficile (Matschke et *al.*, 2002). Enfin, ils utilisent souvent des solvants toxiques difficiles à éliminer et qui peuvent également affecter la stabilité des principes actifs (Shah et *al.*, 1993).

CHAPITRE III.

Les

Nanoparticules

L'emploi du terme « nanoparticule » est apparu au début des années 60 avec la formulation de liposomes (découverte en 1961, publiée en 1964) (Shlunk et Lombardi, 1969). Le concept de « Nanomédecine » a été introduit bien après, avec les premiers essais dans le domaine médical et les premières publications dans les années 2000 (Lei et *al.*, 2000).

1. Définition

Le préfixe *nano* signifie un milliardième (10^{-9}). Donc, un nanomètre (nm) équivaut à un milliardième de mètre. La nanotechnologie s'intéresse à la création ou à la manipulation de particules et de matériaux ayant au moins une dimension nanométrique, normalement de un à 100 nm, que ces matériaux soient produits à partir de l'organisation structurée de groupes d'atomes et de molécules ou par la réduction à l'échelle nanométrique de matériaux macroscopiques (Aitken et *al.*, 2004). A titre de comparaison avec les structures organiques naturelles, les nanoparticules se situent principalement dans la gamme de taille correspondant aux protéines (Goutayer, 2008) (figure 17).

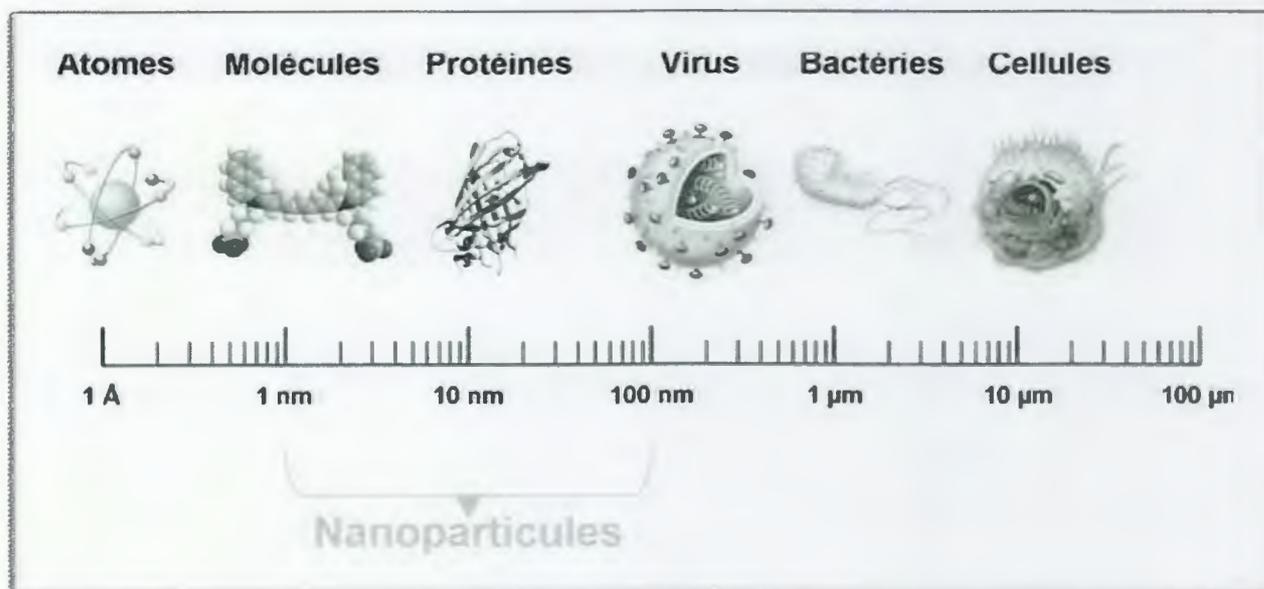


Figure 17: Gamme de tailles des nanoparticules comparée à celles des principales structures chimiques et biologiques (Goutayer, 2008).

2. Les différents types des nanoparticules

Comme présenté au début de ce chapitre, la définition des nanoparticules est uniquement basée sur la taille de ces objets : au moins une des dimensions de l'objet doit être inférieure à 100 nm. Cette définition n'est donc pas limitative vis-à-vis de la composition de ces particules (Goutayer, 2008). La composition du cœur des nanoparticules est très variée : il peut s'agir d'assemblages organiques ou inorganiques. Nous allons décrire ici les nanoparticules les plus courantes (kumar, 2006).

2.1. Les nanoparticules inorganiques

Un grand nombre de nanoparticules inorganiques sont étudiées en tant que vecteur (Murugesan et *al.*, 2007). Ce sont le plus souvent des particules ayant un cœur métallique recouvert par une couche de molécules qui peuvent être de nature hydrophile ou hydrophobe (Perrier, 2009). Comme les nanoparticules d'oxyde de fer, les nanostructures d'or ou encore les nanoparticules de semi-conducteur (notamment celles possédant des propriétés d'émissions de fluorescence : les quantum dots), sont des nano-objets possédant des propriétés optiques ou magnétiques intrinsèques intéressantes pour les applications médicales (Merian, 2012).

2.1.1. Nanoparticules d'oxyde de fer

Les nanoparticules d'oxyde de fer (Figure 18) superparamagnétiques désignées par le terme SPIO (Super Paramagnetic Iron Oxide) possèdent des propriétés magnétiques uniques qui font d'elles des matériaux avancés candidats pour la biomédecine. Elles peuvent servir d'agents de contraste pour l'IRM, de « points chauds » locaux capables de tuer les cellules malignes et de transporteurs colloïdaux lors de la vectorisation de médicaments ou du diagnostic (Bulte et *al.*, 1992; Alexiou et *al.*, 2000; Pankhurst et *al.*, 2003). La propriété des SPIOs provient du fort moment magnétique qu'ils acquièrent en présence d'un champ magnétique externe. Leur moment magnétique élevé engendre un fort contraste en imagerie IRM. En plus de posséder d'excellentes propriétés magnétiques, les SPIOs sont biocompatibles et biodégradables ; donc non toxiques. Au cours de la dégradation, les ions Fe libres n'augmentent pas sensiblement la teneur en fer contenu dans le corps et s'incorporent naturellement dans l'hémoglobine. Ils sont alors dégradés par des voies normales de recyclage du fer (Weissleder et *al.*, 1989).

Les SPIOs sont généralement synthétisés par co-précipitation de suspensions alcalines de $\text{Fe}(\text{OH})_2$ et $\text{Fe}(\text{OH})_3$ (Lee et *al.*, 1996). La taille des particules peut varier entre quelques nanomètres et plusieurs centaines de nanomètres de diamètre (Gupta, 2005). Pour accroître leur stabilité, leur demi-vie de circulation et leur biocompatibilité, diverses méthodes ont été utilisées pour fonctionnaliser les NPs de SPIO avec un revêtement de polymères inertes, comme le dextran. Des polysaccharides, le polyéthylène glycol (PEG) et l'oxyde de polyéthylène (PEO) (Reimer et Balzer, 2003).



Figure 18. Nanoparticules de fer (Merian, 2012).

2.1.2. Quantum dot

Les « quantum dots » (QDs) (Figure 19) sont des nano-cristaux colloïdaux semi-conducteurs (Reiss et *al.*, 2009), composés de quelques centaines à quelques milliers d'atomes, avec une taille comprise entre 2 et 10 nm. Ils sont fabriqués à partir de cadmium, de sélénium, de tellure, d'indium, d'arsenic et de soufre (Hines et Guyot, 1996).

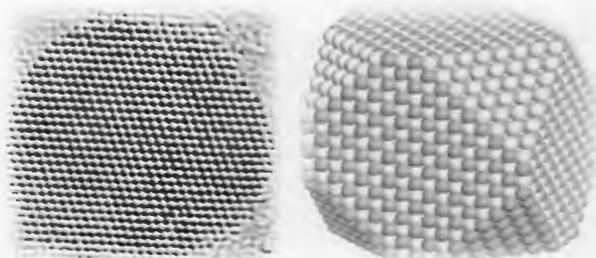


Figure 19: Structure d'un quantum dots par microscopie électronique à haute résolution (à gauche) et modèle simulé (à droite) (Perrier, 2009).

Ils contiennent au moins deux éléments semi-conducteurs dans une structure de type oignon. Leur cœur est porteur des propriétés optiques comme la longueur d'onde de fluorescence, le rendement quantique ou la durée de vie de fluorescence. La partie externe est une barrière physique entre le cœur optiquement actif et l'environnement extérieur (Scholes, 2008), elle peut être modifiée pour améliorer leur solubilité, sensibilité, spécificité et leur visualisation en ciblage tissulaire (Koo et *al.*, 2005).

2.1.3. Les nanoparticules d'Or

Les nanoparticules d'or sont une nouvelle catégorie de nanoparticules sphériques, possède une polarité électrique, recouvert d'une fine coquille d'or. Elles peuvent être recouvertes de dextran (sucre de haut poids moléculaire), de phospholipides ou autres composants afin d'inhiber leur agrégation et d'améliorer leur stabilité. Ces particules peuvent être utilisées comme agents de ciblage actifs ou passifs Le cas spécifique des puits quantiques: Ils sont constitués d'un noyau composé d'éléments semi-conducteurs. Ce noyau est recouvert d'une couche qui le protège de l'oxydation et augmente sa photoluminescence. Sa surface peut être recouverte de ligand ou peuvent être inclus des substances médicamenteuses, des anticorps, des peptides. Cette partie représente l'élément de ciblage et va déterminer leur mode d'entrée cellulaire et leur localisation intracellulaire (Merian, 2012).

Les nanoparticules d'or, sont d'excellents candidats pour le transport de molécules biologiques pour plusieurs raisons : Leur taille peut facilement être contrôlée dans une gamme de 0,8 à 200 nm, elles sont biocompatibles, leur surface peut être modifiée simplement. , elles peuvent véhiculer une quantité importante de molécules biologiques due à une surface active élevée (rapport surface/volume). Enfin, elles sont facilement repérables dans les cellules car elles peuvent diffuser et/ou absorber dans une large gamme spectrale (proche-infrarouge) fournissant une pénétration maximale de la lumière à travers les tissus (Xu et *al.*, 2006).

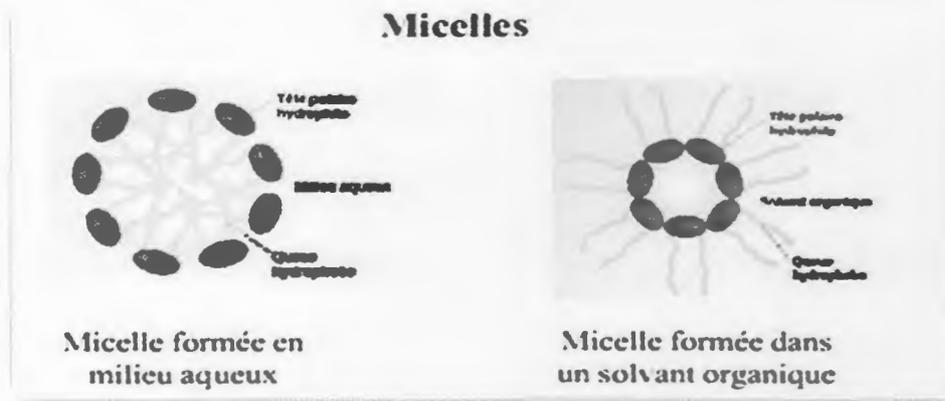


Figure 20. Représentation schématique des Micelle (Dombu-Youta, 2012).

b. Les dendrimères

Le mot dendrimère provient du mot grec « dendron » (arbre ou branche) et « merose » « Partie » (Crampton et Simanek, 2007). Les dendrimères sont une catégorie émergente de nanoparticules synthétisées pour la première fois au début des années 1980 (Dombu-Youta, 2012), considérés comme une classe de macromolécules monodisperses avec une architecture tridimensionnelle, symétrique et très ramifiée, et une surface possédant un nombre très important de groupements fonctionnalisables (D'Emanuele et Attwood, 2005).

Les dendrimères sont des molécules de polymère (Lee et al., 2005 ; Gingras et al., 2007) constituées d'un corps central autour duquel sont connectés des dendrons qui peuvent être divisés en trois régions spécifiques: le cœur, l'intérieur (composé de branches dendritiques connectées au cœur) et la périphérie fonctionnalisable. Le nombre de points de branchement entre le cœur et la périphérie définit les générations du dendrimère. Ainsi, les dendrimères de générations élevées auront un nombre important de groupements fonctionnels en périphérie (Figure 21) (Ogier, 2008).

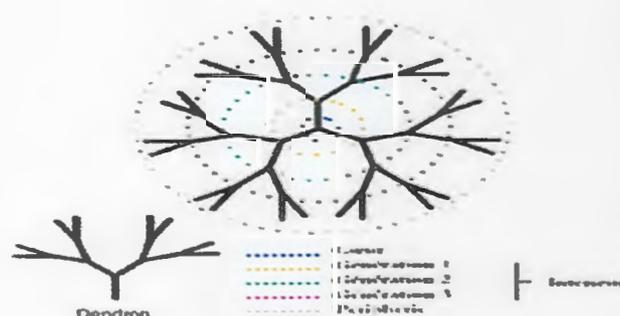


Figure 21. Structure des dendrimères (Lee et al., 2005).

La famille des dendrimères comporte quatre grands sous-groupes différents de part leur architecture (Figure 22) (Carlmark, 2009): les dendrimères, les polymères hyperbranchés, les polymères supportant des dendrimères (dendronized polymers) et les polymères à structure arborescente (dendrigrfts) (Perrier, 2009).

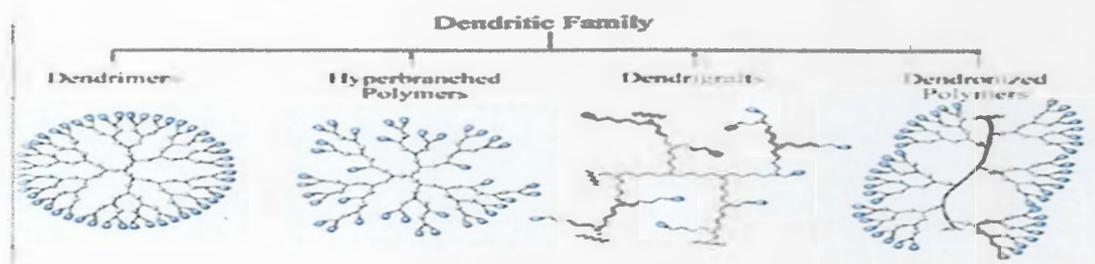


Figure 22. Représentation schématique des différents types de dendrimères (Perrier, 2009).

Le contrôle de la synthèse des dendrimères (poids moléculaire et composition chimique) permet de régler la biocompatibilité et la pharmacocinétique de ces espèces.

2.2.2. Les nanoparticules de systèmes lipidiques

a. Les nano-émulsions

Une émulsion est le mélange de deux liquides immiscibles ou faiblement miscibles. Un liquide (la phase dispersée) est dispersé sous forme de gouttelettes dans un autre (la phase continue). La nature de la phase dispersée (nommée également discontinue ou interne) et celle de la phase continue (appelée aussi externe ou dispersante) permettent de définir deux types d'émulsion : les émulsions de type huile dans eau (H/E ou O/W pour oil in water en anglais) où la phase dispersée est lipophile et la phase continue hydrophile ; et les émulsions de type eau dans huile (E/H ou W/O pour water in oil en anglais) où cette fois la phase dispersée est hydrophile et la phase continue est lipophile (Goutayer, 2008).

Les nano-émulsions sont une sous-classe d'émulsions dont le diamètre est compris dans une gamme « nanométrique » (Sonneville-Aubrun, 2004; Mason, et *al.*, 2006), sont obtenues par dispersion d'un mélange de phases huile/eau. Les gouttelettes de phases dispersées sont transparentes ou translucides et de taille nanométrique (20-200 nm). Elles sont stabilisées par un film à surface active composé de surfactant ou de cosurfactant. Les nano-émulsions sont beaucoup utilisées en formulations pharmaceutiques car elles se forment spontanément (facile à préparer), sont optiquement transparentes, et thermodynamiquement stables. Grâce à leur petite taille, elles permettent d'éviter le crémage ou la sédimentation qui peut avoir lieu lors du stockage ou coalescence des gouttelettes. (Podlogar et *al.*, 2004 ; Seki et *al.*, 2004 ; Tadros, 2004).

b. 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 (Vauthier et Bouchemal, 2009). Dans les systèmes nano capsulaires, 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, permettant d'incorporer des molécules chimiques hydrosolubles ou non (Figure 23). (Letchford et Burt, 2007). Toutefois, la plupart des nanocapsules possèdent un réservoir lipidique. Dans le cas d'une nanocapsule à réservoir aqueux, on parle de polymersome. Les polymersomes possèdent une structure proche des liposomes, à la différence que la paroi polymérique des polymersomes est constituée de copolymères amphiphiles. Cette catégorie de nanocapsules est adaptée pour l'incorporation de molécules hydrophiles (Letchford et Burt, 2007).

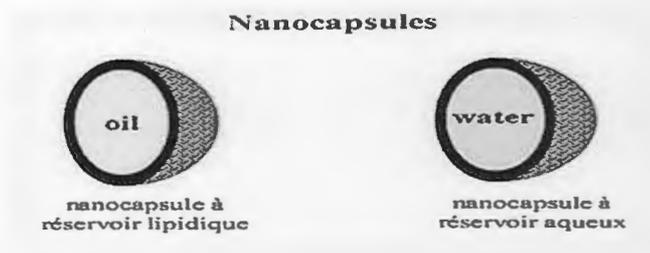


Figure 23. Nanocapsules à réservoir lipidique ou aqueuse (Dombu-Youta, 2012).

Le principe actif est généralement dissous dans le cœur mais peut également être adsorbé à la surface des Nanocapsules (Figure 24) (Socha, 2008).

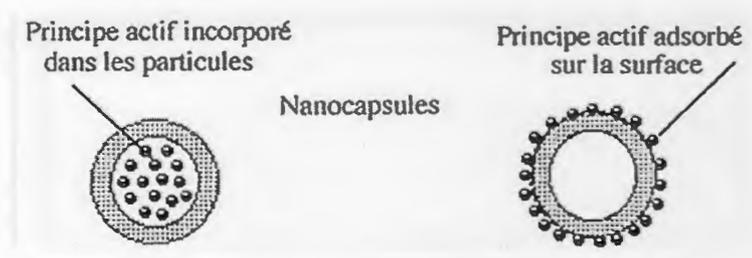


Figure 24. Schéma représente la fixation de principe actif dans les Nanocapsules (Socha, 2008).

c. Les nanosphères

Les premières nanosphères ont été obtenues en 1976 (Brighet, 2010), sont des nanoparticules polymériques colloïdales matricielles ; c'est-à-dire dont la structure est entièrement solide. 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 (Vauthier et *al.*, 2007; Nicolas et Couvreur, 2009). Contrairement aux nanosphères pleines, les nanosphères poreuses ont une structure de mailles plus ou moins serrées dont l'architecture est formée d'une matrice polymérique (Figure 25) (Arayne et Sultana, 2006; Asif et *al.*, 2006; Paillard et *al.*, 2010).

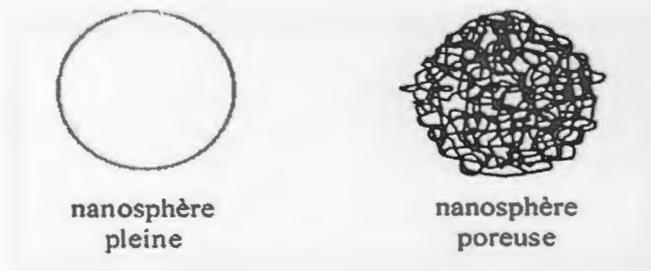


Figure 25. Schéma présentée le différent type des nanosphères

Le principe actif est soit incorporé à l'intérieur du réseau polymère durant la formation des nanosphères, soit adsorbé à leur surface par l'intermédiaire de liaison de type hydrophobe, électrostatique ou covalente (Figure26). Il est libéré par simple diffusion ou à la suite de la (bio) dégradation du polymère dans l'organisme (Brighet, 2010).

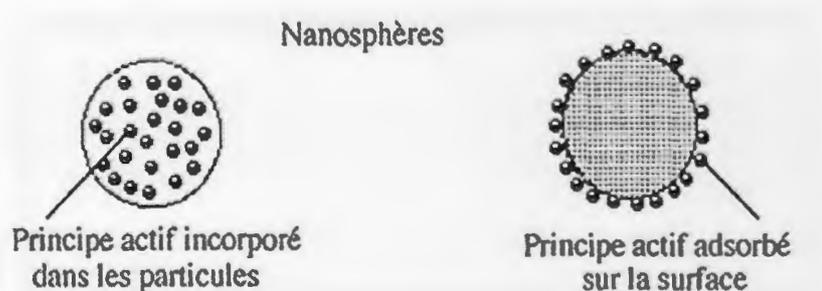


Figure26. Schéma représente la fixation de principe actif dans les Nanosphères (Socha, 2008)

d. Les liposomes

Les liposomes ont été utilisés comme vecteurs de médicaments depuis 1965 (Bangham et *al.*, 1965). Sont des systèmes colloïdaux vésiculaires, artificiels, sphériques, biocompatibles et biodégradables. Constituées d'une ou plusieurs doubles couches concentriques de phospholipides et de molécules de cholestérol encapsulant un réservoir aqueux (Figure27)

(Gregoriadis, 1976). Le principe actif du médicament est encapsulé dans la phase aqueuse quand il est hydrophile, et dans la bicouche quand il est lipophile (Laurent, 2010).

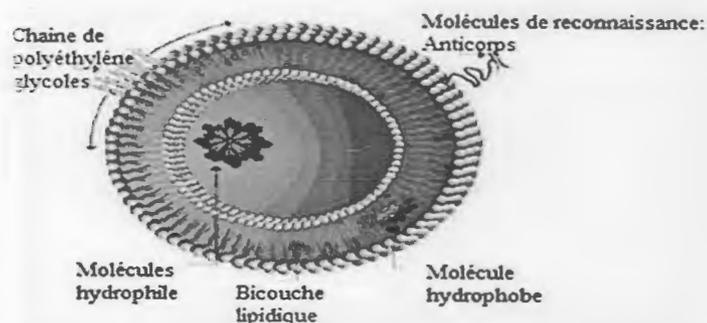
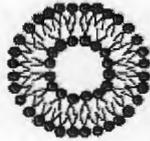


Figure 27. Représentation schématique de la structure d'un liposome (Torchilin, 2005).

Les méthodes de préparation des liposomes sont nombreuses et peuvent aboutir à la formation de plusieurs types de vésicules différant par leur taille, leur structure et leur capacité d'encapsulation (Tableau 5). Selon la méthode utilisée, il est possible d'obtenir des vésicules de type multi ou oligo ou unilamellaires. Les liposomes multi ou oligolamellaires (MLV ou OLV "multi ou oligolamellarvesicles") ont un diamètre moyen qui varie généralement de 400 nm à quelques μm . Les liposomes unilamellaires peuvent être de grande taille (LUV ou "large unilamellarvesicles") avec un diamètre moyen allant de 80 nm à 1 μm ou de petite taille (SUV ou "smallunilamellarvesicles") avec un diamètre moyen variant de 20 à 80 nm (Aiache et al., 2007).

Tableau 5 : Caractéristiques des principaux types de liposomes

			
DENOMINATION	LUV	MLV/OLV	SUV
DIAMETRE (nm)	80-1000	100-4000	20-80

Les liposomes présentent également quelques limitations : ils ont effectivement montré une faible capacité d'encapsulation (notamment pour les molécules lipophiles piégées dans la double couche de phospholipides), une stabilité modérée, une production délicate, et un relargage précoce des principes actifs hydrophiles dans le sang (Aiache et al., 2007).

3. Les techniques classiques de préparation des vecteurs particuliers

De nombreuses techniques existent pour la préparation des nanoparticules ; ce qui a l'avantage d'offrir la possibilité de produire des nanoparticules de structure et propriétés

physico-chimiques désirées. Le choix de la méthode dépend essentiellement des propriétés du principe actif (solubilité, coefficient de partage) et du matériau encapsulant (polymère ou monomère) ainsi que des propriétés souhaitées pour les particules. Pour le matériau encapsulant, le choix est déterminé principalement par des critères comme la biocompatibilité, la biodégradation, la voie d'administration et le profil de libération de principe actif (Hans, 2002; Wissing et al., 2004).

Les méthodes de préparation des nanoparticules polymères sont basées soit sur des mécanismes de polymérisation de monomères soit sur l'utilisation de polymères préformés. Les méthodes de préparation des nanoparticules lipidiques peuvent nécessiter quant à elles la mise en œuvre de méthodes spécifiques (Hans, 2002; Wissing et al., 2004).

3.1. Méthodes de préparation par dispersion de polymères préformés

3.1.1. L'émulsion-évaporation de solvant

Cette méthode est adaptée de celle permettant de produire des microparticules (chapitre 2). Le polymère synthétique et le principe actif sont dissous dans une phase organique non miscible à l'eau. La solution ainsi obtenue est dispersée dans l'eau pour former une émulsion grossière. L'émulsion est ensuite traitée pour obtenir des gouttelettes plus fines (homogénéisateurs, ultrasons). L'élimination de la phase organique volatile sous l'effet de la chaleur, du vide ou encore sous l'action combinée des deux conduits à l'obtention des nanosphères : chaque gouttelette de l'émulsion donne naissance à une nanoparticule après évaporation de la phase organique (Aiache et al., 2007) (figure 28).

La technique d'émulsification-évaporation permet de produire des particules dont la taille dépend des conditions de l'étape d'homogénéisation et de réduction de taille. Elle est adaptée aux principes actifs lipophiles. Les PA hydrophiles qui diffusent vers la phase externe pendant l'émulsification ne sont donc pas piégés dans les particules (Aiache et al., 2007).

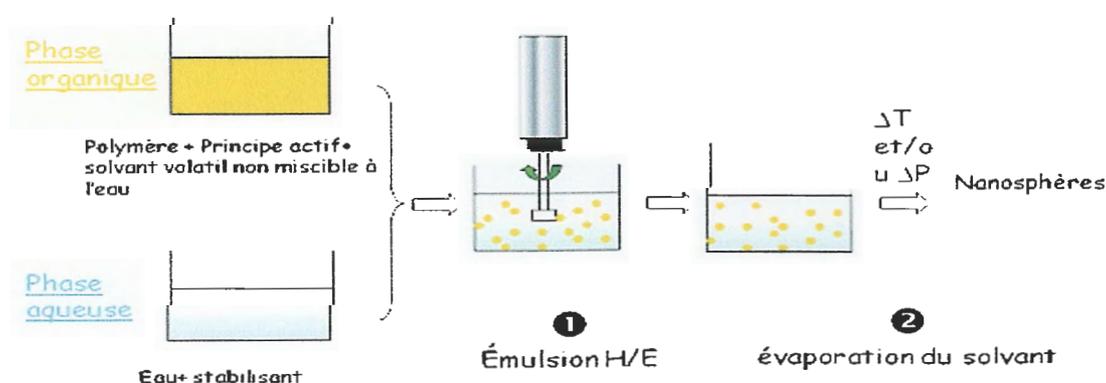


Figure 28. Schéma illustrant le principe du procédé de préparation des nano- ou microparticules par "émulsion-évaporation de solvant" (Aiache et al., 2007).

3.1.2. Le déplacement de solvant ou « la nanoprécipitation »

Dans cette méthode, le principe actif et le polymère sont dissous dans un solvant semipolaire miscible à l'eau, comme l'acétone ou l'éthanol. Cette solution est alors injectée dans une solution aqueuse contenant un stabilisant sous une agitation magnétique (figure 29). Les nanoparticules sont formées instantanément par une diffusion rapide du solvant dans la phase aqueuse. Enfin, le solvant organique et une partie de l'eau sont évaporés sous pression réduite pour obtenir une suspension concentrée des nanosphères (Fessi *et al.*, 1992). L'addition d'une substance huileuse à la phase organique en faible quantité permet d'obtenir des nanocapsules (Fessi *et al.*, 1991).

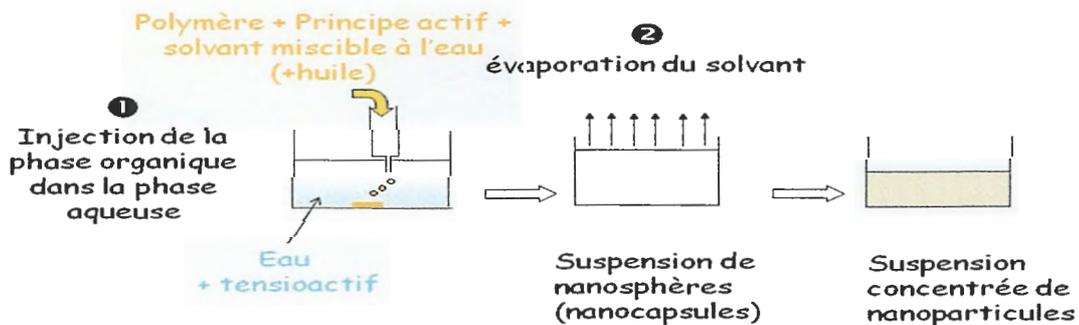


Figure 29. Schéma illustrant le principe de la nanoprécipitation (Diab, 2009).

3.1.3. La désolvatation ou « Salting-out »

Contrairement au précédent, le procédé de salting out passe par une étape d'émulsification préalablement à la production de nanoparticules. Le polymère et le principe actif sont dissous dans un solvant organique miscible à l'eau, généralement l'acétone. Une émulsion huile/eau est obtenue en ajoutant, sous agitation mécanique vigoureuse (de type rotor stator), la solution organique dans une solution aqueuse saturée en électrolyte (chlorure de magnésium la plupart du temps) et contenant un stabilisant. La saturation de la solution aqueuse empêche la diffusion de l'acétone et permet l'obtention d'une émulsion. L'émulsion est ensuite diluée par une quantité suffisante d'eau afin de provoquer la diffusion de l'acétone vers la phase aqueuse et la formation des nanosphères par agrégation du polymère (Figure 30) (Aiache *et al.*, 2007).

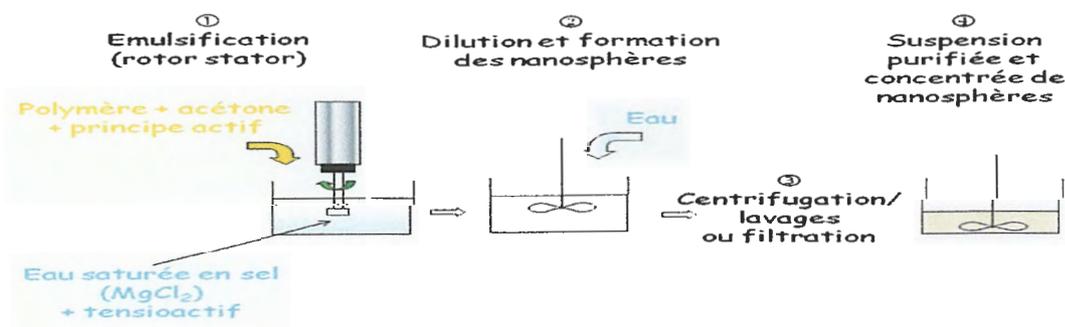


Figure 30. Schéma illustrant le principe de préparation des nanoparticules par Salting-out (Aiache *et al.*, 2007)

3.1.4. L'émulsion-diffusion

Ce procédé est basé sur l'utilisation d'un solvant semi-miscible à l'eau, ce qui permet d'éviter l'utilisation des sels et les étapes de lavage intensif. Il comporte plusieurs étapes. Tout d'abord, la saturation mutuelle des deux solvants ; le solvant semi-miscible à l'eau comme l'acétate d'éthyle et l'eau. Ensuite, le polymère et le principe actif sont dissous dans le solvant semi-miscible saturé en eau. Un agent tensioactif est dissous dans l'eau saturée en solvant. Une émulsion (huile/eau) est préparée en ajoutant la phase organique dans la phase aqueuse sous agitation mécanique. L'addition suivante de l'eau au système entraîne la diffusion du solvant semi-miscible à l'eau dans la phase externe et la formation des nanoparticules. Enfin, l'acétate d'éthyle et une partie de l'eau seront éliminés pour obtenir une suspension concentrée de nanoparticules (figure 31) (Diab, 2009).

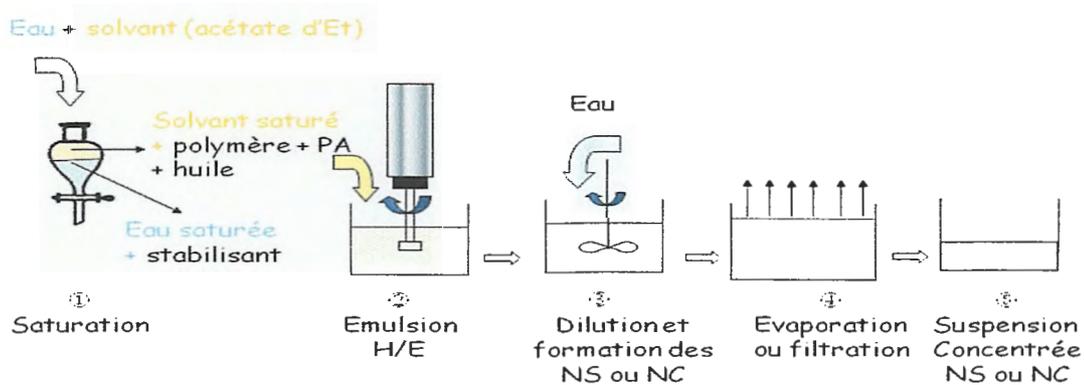


Figure 31. Les différentes étapes lors de la nanoencapsulation par émulsion-diffusion de solvant (Aiache et al., 2007).

3.2. Méthodes de préparation par polymérisation

Il y a deux grandes approches pour la préparation des nanoparticules par polymérisation *in situ* : lorsque le monomère à polymériser est émulsionné dans un non solvant, on parle de polymérisation en émulsion; dans le cas où le monomère est dissous dans un solvant qui se comporte comme un non-solvant du polymère à obtenir, on parle de polymérisation en dispersion.

3.2.1. La polymérisation en émulsion

Ce procédé consiste à émulsifier un monomère insoluble ou partiellement soluble dans le milieu de polymérisation, en utilisant un agent tensioactif. Le monomère est alors présent dans le mélange sous forme de gouttelettes et/ou sous forme de micelles, selon la concentration de l'agent tensioactif. L'induction de la polymérisation se fait par des initiateurs physiques (irradiation), soit à l'aide d'un composé chimique, dit amorceur, ajouté au milieu réactionnel. L'amorceur étant soluble dans l'eau, et non soluble dans le monomère, va activer les monomères dispersés. Ces derniers réagissent en donnant des oligomères sur lesquels s'adsorberont soit les molécules de tensioactif soit les monomères dispersés. Ainsi, on assiste à la formation de nucléés stables, qui deviennent le lieu principal de la polymérisation par

adsorption de nouvelles oligomères et monomères du milieu, pour donner naissance à des particules polymériques. Les particules croissent jusqu'à la consommation totale du monomère (Diab, 2009).

3.2.2. La polymérisation en dispersion

Ce procédé est basé sur la nucléation en phase continue aqueuse. Il consiste à dissoudre le monomère et le principe actif (qui sont hydrophiles) dans la phase continue. La polymérisation est amorcée par irradiation ou à l'aide d'un amorceur chimique, ce qui conduit à la formation d'oligomères. Ces derniers, lorsqu'elles atteignent une taille critique, elles précipitent pour former des particules primaires stabilisées par les molécules du tensioactif non ionique ajouté au milieu aqueux. Enfin, ces particules fusionnent pour former des nanoparticules (figure 32).

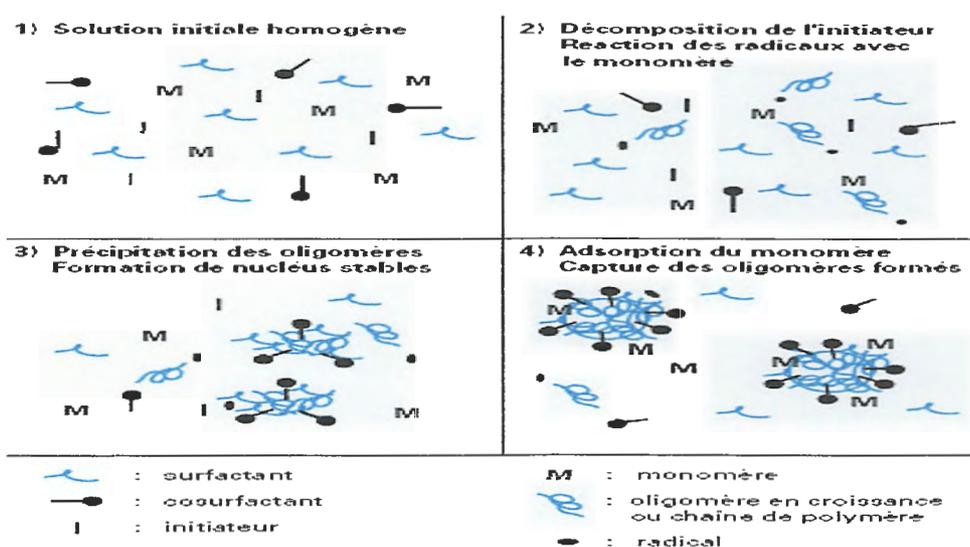


Figure 32. Le mécanisme de la polymérisation en dispersion (Diab, 2009).

3.2.3. La polymérisation en microémulsion-inverse « polymérisation micellaire »

Ce procédé consiste à dissoudre le principe actif hydrophile dans un petit volume d'eau ou d'un solvant organique hydrophile (méthanol). Cette solution est émulsifiée dans un solvant organique hydrophobe (hexane, cyclohexane, chloroforme) contenant des grandes quantités d'un agent tensioactif pour former des micelles aqueuses. Un monomère hydrophile est directement ajouté au mélange sous agitation continue. Ce dernier diffuse alors, à travers la phase organique vers l'intérieur de micelles, considérées comme le lieu principal de la polymérisation. La polymérisation est initiée par un amorceur physique ou chimique. Les oligomères formés conduisent à la formation des nanoparticules d'une faible taille (Diab, 2009).

3.2.4. La polymérisation interfaciale

Cette méthode décrite précédemment (chapitre 2) repose sur la mise en contact d'une phase contenant la substance liquide à encapsuler et un ou plusieurs monomères, avec une autre phase non miscible à la première et contenant un autre ou plusieurs monomères susceptibles de réagir avec le(s) premier(s) pour donner un polymère. Lors de la mise en contact des deux phases, les deux composés réagissent à l'interface des phases et créent une paroi polymérique autour des gouttelettes de substances liquides (capsules). La combinaison de l'emulsification spontanée à la polymérisation interfaciale permet d'obtenir des nanocapsules (Montasser et *al.*, 2000). Le principe consiste à additionner une phase organique composée du monomère liposoluble, le principe actif, d'huile et un tensioactif dissous dans un solvant (ou mélange de solvants miscibles) à une phase aqueuse composée d'un monomère hydrosoluble, un tensioactif et d'un non-solvant (ou un mélange des non-solvants). Les nanocapsules se forment instantanément par réaction des deux monomères à l'interface liquide-liquide des gouttelettes (figure 33). La suspension est ensuite concentrée par évaporation sous vide puis filtrée.

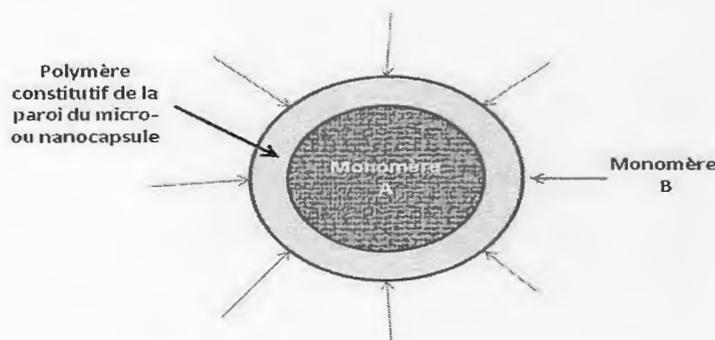


Figure 33. Le mécanisme de la polycondensation interfaciale (Diab, 2009).

3.3. Méthodes de préparation de nanoparticules lipidiques

Ces particules sont de 2 types : Nanoparticules lipidiques solides et Nanocapsules lipidiques

3.3.1. Nanoparticules lipidiques solides

La principale technique de fabrication de ces particules repose sur le principe d'homogénéisation à haute pression à température élevée ou à température inférieure à la température ambiante, suivant la sensibilité des PA à la chaleur. Dans le premier cas on prépare au dessus de la température de fusion des lipides une pré-émulsion sous une forte agitation de la phase lipidique dans une phase aqueuse associée à des agents de surface, avant de la soumettre à plusieurs cycles de plusieurs centaines de bars de pression au sein d'un homogénéisateur. Une recristallisation s'opère après refroidissement.

A froid il s'agit dans un premier temps de disperser des particules de lipides et de PA finement broyées, dans l'eau associée à des agents de surface sous forme d'une suspension

avant de les homogénéiser dans les mêmes conditions que précédemment (Aiache et *al.*, 2007).

Des techniques de préparation à partir d'un système de microémulsification formé à chaud et dispersé dans l'eau froide ou d'émulsification-évaporation ou d'émulsification-diffusion en dissolvant les lipides dans des solvants organiques adaptés sont aussi rapportées (Aiache et *al.*, 2007).

3.3.2. Nanocapsules lipidiques

Ces particules sont constituées d'un cœur huileux à base de triglycérides recouvert d'une paroi rendue rigide par l'association d'un couple d'agent de surface lécithine / Solutol HS15® (hydroxystéarate de polyéthylène glycol 660 et polyéthylène glycol 660 libre). La préparation est basée sur un procédé par inversion de phase obtenue en faisant varier la température du mélange des excipients au dessus et au dessous de la température d'inversion de phase du système. Dans un deuxième temps le mélange d'huile et de surfactifs soumis à des cycles de température subit un choc thermique irréversible avec une dilution dans de l'eau à une température proche de 0°C qui rigidifie la membrane (Aiache et *al.*, 2007).

4. Purification des nanoparticules

Parce que la plupart des préparations nanoparticulaires sont administrées par voie parentérale, la purification des dispersions est une étape obligatoire afin d'éliminer tout additif comme les solvants organiques, les tensioactifs, les stabilisants, les électrolytes. Cette purification permet aussi la séparation de l'excès du principe actif non encapsulé, afin d'éviter 'un "bursteffect" important lors de l'injection. Quant aux agrégats de taille micrométrique du polymère, ils sont facilement éliminés par la filtration à travers le verre fritté. Plusieurs techniques sont utilisées pour le lavage des nanoparticules comme l'ultracentrifugation, l'ultrafiltration par centrifugation, la perméation de gel, la filtration tangentielle et la dialyse (Hammady, 2008).

5. Encapsulation des nanoparticules

L'encapsulation de ces molécules thérapeutiques ou de diagnostic dans des vecteurs de taille nanométrique est une solution pour acheminer ces molécules vers leur cible thérapeutique *in vivo*. L'encapsulation agit à quatre niveaux différents :

(1) En **protégeant la molécule encapsulée** des différentes barrières biologiques, mais également et plus généralement en la protégeant de l'environnement extérieur (tampon aqueux de stockage dans lequel elle peut se dégrader par exemple).

(2) En **modulant le ciblage** de la molécule d'intérêt par les propriétés de la nanoparticule, objet réputé plus maniable que la molécule thérapeutique. Dans ce cas, ce n'est plus la pharmacologie de la molécule qui gouverne la biodistribution mais la pharmacologie du nano-objet transporteur (Nel et *al.*, 2009). Par exemple, l'encapsulation de petites molécules qui

seraient très rapidement éliminées de l'organisme par voie rénale à cause de leur petit poids moléculaire, permet d'augmenter la taille physique des molécules encapsulées donc leur temps de présence dans l'organisme et favorise ainsi leur action thérapeutique. Un second exemple est l'utilisation de la taille nanométrique des nanoparticules pour le ciblage passif des tumeurs (notion plus détaillée dans le chapitre suivant) (Dreher et *al.*, 2006). Enfin, une nanoparticule peut être utilisée comme une plateforme sur laquelle des ligands dit « de ciblage » peuvent être greffés (anticorps, peptides, sucres..) afin d'amener préférentiellement la nanoparticule vers une cible spécifique dans l'organisme (Dreher et *al.*, 2006).

(3) En protégeant les tissus sains des effets toxiques de la molécule grâce au ciblage préférentiel vers les organes cibles.

(4) En améliorant l'efficacité de la molécule par des moyens directs ou indirects. Encapsuler une molécule permet de préserver ses propriétés originales en limitant ou diminuant sa dégradation par les fluides biologiques (diminution de la dose); améliorer sa solubilité et moduler sa cinétique *in vivo* (diminution des doses, diminutions des effets toxiques, multi choix du mode d'administration). Concernant le domaine de l'imagerie, le contraste intrinsèque d'une molécule traceur peut être amélioré par son encapsulation (Texier et *al.*, 2009).



CHAPITRE IV.

Ciblages et applications thérapeutiques des micro- et nano-particules

1. Ciblage médicamenteux

Le ciblage permet l'obtention de concentrations efficaces en thérapeutique des molécules encapsulées au niveau de leurs sites d'action et de diminuer potentiellement leur déperdition vers d'autres tissus ou cellules, ce qui va limiter leurs toxicités et améliorer leurs effets thérapeutiques (Fang *et al.*, 2011).

1.1. Ciblage passif du système phagocytaire mononucléaire

Les nanoparticules de première génération montrent généralement un temps de circulation dans le sang relativement court. En effet, les opsonines s'adsorbent à leur surface, ce qui induit leur reconnaissance par le système phagocytaire mononucléaire (MPS) et leur élimination de la circulation sanguine par phagocytose grâce aux macrophages. Dans une étude d'Allemann en 1997, il a été reporté que lorsque les nanoparticules conventionnelles de PLA sont incubées dans le sérum et le plasma humain, les opsonines C3, l'anticorps IgG, l'albumine et l'apolipoprotéine-E s'adsorbent à la surface des nanoparticules. Après injection, les nanovecteurs de première génération s'accumulent essentiellement dans les organes MPS tels que le foie et la rate. Ceci pourrait être très utile pour cibler par exemple les macrophages du foie et de la rate (Allemann *et al.*, 1997).

1.2. Ciblage passif de la tumeur

Afin de cibler d'autres organes que le MPS, il faut satisfaire trois conditions : (i) éviter l'opsonisation grâce au recouvrement des nanoparticules par des chaînes hydrophiles, (ii) cibler un endothélium perméable (zones inflammatoires, tumeurs,...) et (iii) adapter la taille des nanovecteurs. Les nanoparticules de deuxième génération, recouvertes de manière covalente avec des chaînes de PEG, permettent clairement de minimiser le phénomène d'opsonisation de manière à obtenir des temps de circulation *in vivo* prolongés. Ceci facilite donc l'accumulation des nanoparticules au niveau des tumeurs qui présentent des fenestrations au niveau de l'endothélium vasculaire et ce grâce à l'effet EPR (Enhanced Permeability and Retention effect). Il s'agit donc d'un ciblage passif des tissus tumoraux, contrairement au ciblage du MPS par les nanoparticules de 1^{re} génération (Figure 34) (Baban *et Seymour* 1998).

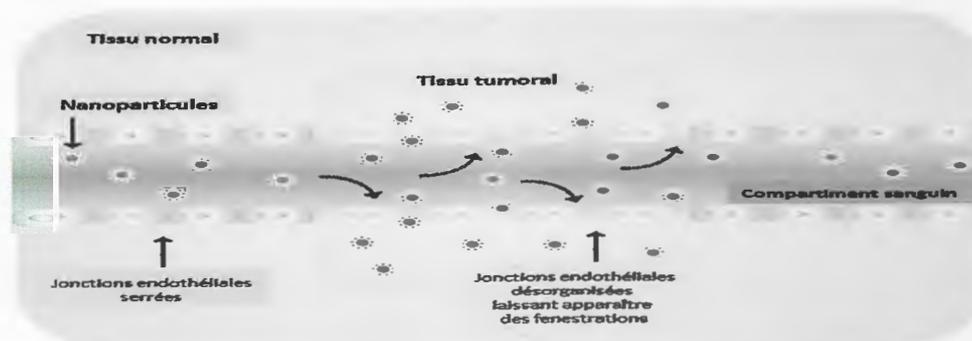


Figure 34. Représentation schématique de nanoparticules prenant avantage de l'effet EPR dans les amas tumoraux (Prakash *et al.*, 2011).

1.3. Ciblage actif

Le ciblage dit actif fait intervenir des ligands, greffés en surface des nanoparticules (vecteurs de 3ème génération) qui peuvent donc être décorés par des anticorps, des fragments d'anticorps (Simard et al., 2010), des aptamères ou des petites molécules (Figure 35) (Farokhzad et al., 2006). Ces molécules possèdent une affinité et une sélectivité pour un motif présent à la surface du tissu à cibler. En menttant au point des vecteurs capables de reconnaître spécifiquement des protéines à la surface des cellules malades, on s'assure en principe de limiter l'effet du médicament dans les cellules saines (Weissleder et al., 2005).

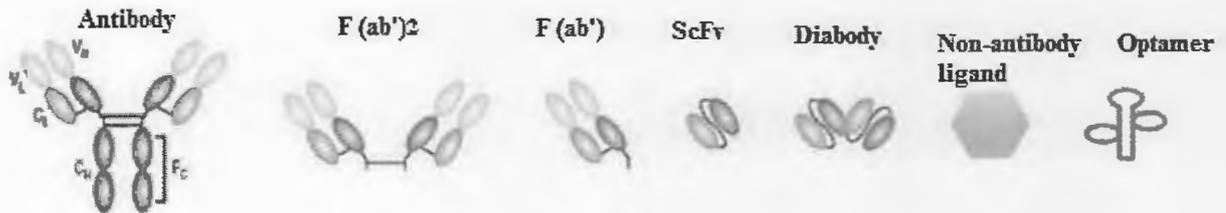


Figure 35. Différents molécules de reconnaissance pouvant fonctionnaliser la surface d'un vecteur (peer et al., 2007)

Le choix de la cible thérapeutique se fait en fonction de différents éléments (Figure 36). D'une part, un récepteur ou une protéine de surface pouvant être internalisé est souvent privilégié (Allen, 2002).

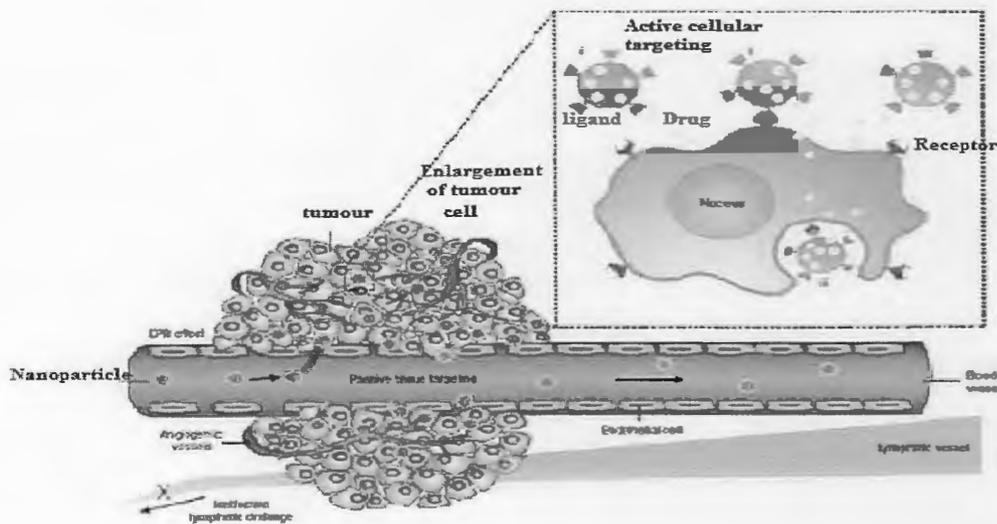


Figure 36. Schématisation reprisèrent le ciblage actif des vecteurs nanoparticulaires (peer et al., 2007).

1.3. La sensibilité au pH ou le ciblage intracellulaire

Les interactions entre les nanomédicaments et les cellules est 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. Dès 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 (Couvreur et *al.*, 1977).

Une fois les vecteurs distribués au niveau des cellules tumorales, celles-ci sont en mesure de les internaliser (par pinocytose ou endocytose médiée par des récepteurs) (Conner et *al.*, 2003; petros et *al.*, 2010). L'internalisation de colloïdes conduit à la formation de vésicules intracellulaires (endosomes) qui s'acidifient lentement jusqu'à former des lysosomes. Ce processus de maturation des organelles vise à digérer les substances internalisées et peut être délétère pour le médicament après leur capture par les cellules (Mukherjee et *al.*, 1997).

Etant donné que la maturation de l'endosome précoce au lysosome entraîne une acidification du pH à l'intérieur de l'organelle, ce paramètre a rapidement été identifié comme un stimulus pouvant être exploité pour permettre la libération intracellulaire (Barefoed et *al.*, 2007) (Figure 37). Dans les 40 à 60 minutes suivants l'internalisation, le pH à l'intérieur de l'organelle passe du pH physiologique (7,4) à environ 4,5 dans les lysosomes. De nombreux vecteurs sensibles au pH ont donc été développés pour déclencher un relargage de leur contenu à un pH entre 5,5 et 6,5 (Mukherjee et *al.*, 1997).

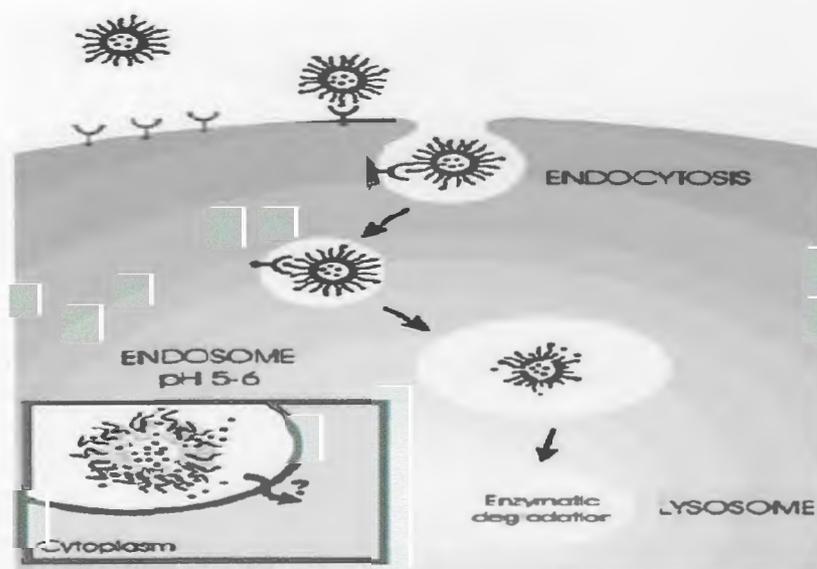


Figure 37. Ciblage intracellulaire après l'endocytose médiée par un récepteur

(Roux et *al.*, 2002)

2. Cinétique de libération du principe actif à partir des formes pharmaceutiques vectorisées

La maîtrise de la cinétique de la libération du principe actif à partir des formes pharmaceutiques et celle de la durée d'action des médicaments est l'un des premiers défis

ayant été proposés à la pharmacie galénique au cours des cinquante dernières années. La conception des vecteurs particuliers, a permis l'obtention de deux types de libération du principe actif; une libération déclenchée ou une libération continue, prolongée dans le temps.

En général, ce sont les systèmes réservoirs (les micro- et nanocapsules) qui permettent une libération brutale du principe actif qui peut être déclenchée par l'éclatement de leur paroi polymérique, suite à une variation du pH, de la température, de la pression osmotique ou sous l'effet d'un agent physique externe, comme par exemple l'ultrason. Par ailleurs, la libération continue de principe l'actif peut être assurée par les systèmes matriciels (les nano- et microsphères). Les mécanismes mis en jeu sont la diffusion du principe actif et/ou la dégradation du polymère constitutif du vecteur. Ces deux phénomènes et par conséquent la cinétique de libération obtenue, dépendent de plusieurs facteurs. Le caractère hydrophile/lipophile du principe actif encapsulé et son poids moléculaire influent sur sa diffusion à travers la matrice polymérique vers le milieu de libération (Hombreiro Pérez *et al.*, 2000). Le type de polymère et son poids moléculaire se traduisent par des vitesses de dégradation différentes et donc par des profils différents de libération du principe actif (Ubrich *et al.*, 2004). Les interactions principe actif-polymère qui va faire que l'actif est soluble dans le polymère sous forme amorphe ou disperse a son état cristallin, sont aussi des facteurs importants pouvant influencer la cinétique de libération (Karavas *et al.*, 2007). En plus, les propriétés de surface des vecteurs particuliers, comme la porosité et l'existence d'un block hydrophile comme le poly(ethylene glycol), va faciliter le mouillage de la surface des particules et la pénétration de l'eau a travers la matrice polymérique, ce qui va faciliter la libération du principe actif (Klose *et al.*, 2006). D'autre part, la formulation (les types de tensio-actifs utilisés, la charge initiale en principe actif, le type de solvants et leurs proportions relatives), les paramètres du procédé de préparation et la méthode de séchage employé, peuvent avoir des conséquences sur la cinétique de libération (Lagarce *et al.*, 2006).

3. Facteurs Influençant la biodistribution des vecteurs

Plusieurs facteurs peuvent Influencer la biodistribution des vecteurs :

3.1. Influence de la taille du vecteur

La perméabilité des parois vasculaires par à rapport à la taille des systèmes particuliers est un facteur déterminant de la biodistribution. Ces parois possèdent des capillarités plus ou moins grandes selon le type de tissus ou d'organes. Le lit capillaire des poumons filtre mécaniquement les particules de taille moyenne supérieure à 7 μm (Illum et Parent, 1984). Les cellules de l'endothélium vasculaire de la plupart des tissus comme ceux des muscles ou des poumons possèdent des jonctions intercellulaires espacées d'environ 6nm susceptibles d'être traversées par les nanoparticules de plus petites tailles vers l'espace extravasculaire. Les cellules des reins, des intestins ou de certaines glandes endocrines ou exocrines possèdent des fenêtres ou Des ouvertures d'une cinquantaine de nanomètres de diamètre. Les capillaires sinusoïdaux du foie, de la rate et de la moelle osseuse ont un diamètre de l'ordre de 0,1 à 1 μm . Quant au système nerveux central, il est isolé par une barrière imperméable de cellules accolées, appelée barrière hémato-encéphalique (BHE). Des expériences menées par Kreuter

et *al* ont consisté à injecter par voie intraveineuse des systèmes particuliers, liposomes, ou nanoparticules, de tailles diverses et de comparer leur distribution dans les organes. Les plus grosses particules sont aussitôt filtrées par les vaisseaux capillaires des poumons. Quant aux plus petites, 10 minutes après l'injection, elles sont capturées par le SPM et 60% à 90% d'entre elles sont localisées dans le foie, 2 à 20% dans la rate et 1% dans la moelle osseuse (Kreuter, 1983).

3.2. Influence de la charge du vecteur

La charge surfacique peut avoir un effet sur la clairance sanguine des particules injectées par voie intraveineuse. L'expérience de Wilkins et Meyers dans les années 60, faite sur des particules de polystyrène de 1,3 μm modifiées par de la gomme arabique chargée négativement ou de la polylysylgélatine chargée positivement a démontré cette prédisposition des particules chargées à être capturées plus rapidement que les. Des travaux similaires ont montré que des liposomes chargés négativement avaient des taux de clairance beaucoup plus élevés avec des concentrations dans le foie et la rate plus conséquents que dans le cas de liposomes neutres ou chargés positivement. Cette relation entre potentiel de surface (ou potentiel de zêta) et phagocytose est confirmée avec des particules d'albumine et des micro-sphère de cellulose neutres (Wilkins et Meyers, 1966)

3.3. Influence de l'injection d'une forte dose de particules

Afin d'augmenter la rémanence vasculaire des systèmes particuliers, certains chercheurs ont envisagé de bloquer le système phagocytaire mononucléaire (SPM) en injectant des doses importantes de matériel. La présence d'un grand nombre de particules peut affecter les taux de clairance initial, cependant la distribution à l'intérieur du SPM ne semble pas altérée. Par contre, l'injection d'une large dose ou de plusieurs doses répétées peut permettre de saturer le SPM. Récemment, Dousset et ses collaborateurs ont constaté que l'injection d'une large dose d'AMI-227 (300 $\mu\text{mol/Kg}$) chez des rats lewis augmente considérablement la demi-vie des USPIO dans le système sanguin (de 5 à 6 heures à en comparaison avec les doses humaines recommandées en lymphographie (45 $\mu\text{mol/Kg}$ de corps) (Dousset et *al.*, 1985). Toutefois, cette approche ne peut pas être utilisée en clinique, car elle peut causer des effets plus ou moins graves comme l'atténuation de l'activité du système immunitaire, la création d'embolies du fait de l'adsorption locale sur les parois des vaisseaux capillaires de particules sous forme d'agrégats, la toxicité due à une surdose de fer biodégradé... ((Illum et *al.*, 1986).

4. Applications thérapeutiques des micro- et nano- médicaments

4.1. Les nano-médicaments pour le traitement du cancer

Récemment, il a été montré que la vectorisation permettait également de contourner une résistance importante de certaines tumeurs: la résistance multi-drogue. C'est cette résistance qui fait que de nombreux cancers, d'abord sensibles aux médicaments, finissent par développer des résistances aux chimiothérapies. Elle est en fait due à la présence de «glycoprotéines» au sein de la membrane des cellules cancéreuses. Ces pompes d'efflux, comme la P-glycoprotéine (P-gp), prennent en charge les molécules de médicament, puis les

expulsent à l'extérieur de la cellule. Cela s'assimile à un mécanisme de défense naturelle de la cellule cancéreuse qui se «détoxifie». Le raisonnement consiste alors à se dire que, si l'on enrobe ce médicament anti cancéreux dans une nanomatrice de polymère biodégradable telle que le poly(hexylcyanoacrylate) (PHCA), on va le rendre invisible pour la P-gp, qui ne pourra donc pas la reconnaître ni l'expulser (Barraud et *al.*, 2005).

Des tests ont été menés *in vivo* sur un hépatocarcinome multirésistant chez la souris transgénique. Les mesures ont montré que seules les nanoparticules de PHCA chargées en doxorubicine conduisent à une apoptose des cellules cancéreuses, alors que l'introduction de doxorubicine sous forme d'une simple solution conduit à un niveau d'apoptose faible, similaire à celui observé lors de l'administration de nanoparticules sans anticancéreux ou lors de l'administration d'un placebo sous forme d'une solution aqueuse de glucose à 5 %. Ces exemples montrent que les nano-médicaments peuvent, dans certaines circonstances, permettre de contourner des mécanismes de résistance naturelle des cellules aux médicaments (Figure 38). Néanmoins, les résultats précédents ne concernent que des pathologies tumorales localisées dans le foie. Il est donc intéressant de savoir si l'activité anticancéreuse peut être étendue à d'autres organes (Barraud et *al.*, 2005).

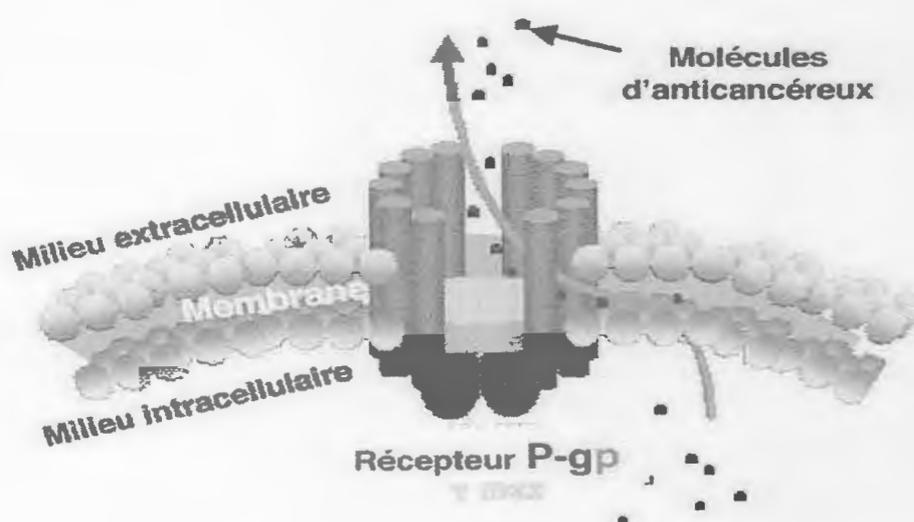


Figure 38. Représentation schématique de glycoprotéine P-gp qui expulse le médicament anticancéreux vers l'extérieur. (Barraud et *al.*, 2005).

Bien que le champ des applications thérapeutiques soit vaste, il est incontestable que le traitement du cancer constitue une indication prioritaire pour l'utilisation des nanotechnologies comme vecteurs de médicaments. En effet, les traitements actuels font appel à des molécules souvent peu spécifiques qui, en se distribuant dans les tissus sains, induisent des toxicités importantes, souvent rédhibitoires. D'autre part, de nombreuses pathologies néoplasiques s'avèrent résistantes aux traitements ce qui, dans certains cas, prive les patients de toute possibilité thérapeutique. L'association d'une molécule à activité anticancéreuse à

des nanotechnologies « nano-médicaments » permet de cibler les tumeurs et d'y libérer la molécule active en évitant ainsi les tissus sains (Brigger et *al.*, 2002).

Les nano-médicaments anticancéreux peuvent aussi transporter simultanément deux composés ayant une activité pharmacologique complémentaire. Le vecteur peut, par exemple, être construit à partir d'un noyau à base d'un polymère biodégradable et d'une enveloppe constituée d'un lipide. Ce nano-composite est capable d'induire la libération programmée de deux molécules anticancéreuses: l'enveloppe lipidique libérera d'abord un agent antigénique liposoluble (la combrestatine) capable de causer des dommages vasculaires, le noyau délivrera ensuite un agent cytotoxique (la doxorubicine) dès que le vecteur aura atteint le cœur du tissu tumoral à la suite de la détérioration des vaisseaux par l'agent anti antigénique (Brigger et *al.*, 2002). L'adressage tumoral peut se faire de différentes manières :

- Si la tumeur est localisée au niveau hépatique, l'administration intraveineuse du nano-médicament anticancéreux permettra le ciblage direct de ce tissu (Dubernetat *al.*, 1997)
- Si la tumeur est localisée dans un autre territoire tissulaire, il faut alors recouvrir les nanovecteurs de polymères hydrophiles et Flexibles (par exemple, des polyéthylenglycols ou PEG) pour les rendre invisibles par le foie.
- Enfin, il est possible d'équiper ces nano-médicaments de molécules ligands, Capables de reconnaître des antigènes ou récepteurs tumoraux. Certains de ces marqueurs et/ou récepteurs sont maintenant bien décrits et leurs ligands ont été identifiés (Couvreur et *al.*, 2006)

4.2. Adressage de médicaments au cerveau

Le traitement des maladies cérébrales est, en effet, extrêmement difficile en raison du faible passage de nombreux médicaments à travers la barrière hémato-encéphalique (BHE), constituée principalement des cellules endothéliales cérébrales. La perméabilité réduite de la BHE est due à la présence de jonctions serrées entre ces cellules qui constituent la paroi des capillaires cérébraux et isolent ainsi le tissu cérébral de la circulation sanguine. Le développement de nanovecteurs capables de passer la barrière hémato-encéphalique et de libérer des principes actifs au niveau du cerveau constitue donc un challenge qui peut ouvrir des perspectives nouvelles dans le traitement des maladies cérébrales (maladies neurodegeneratives, gliomes cérébraux, ischémie cérébrale, etc.).

Dans ce but, des nanoparticules recouvertes de polysorbate 80 ont montré leur capacité à véhiculer avec succès des molécules à activité antalgique (Dalargin, Loperamide) qui ne diffusent pas sous forme libre au niveau du système nerveux central. Des effets anti-nociceptifs notoires ont, en effet, pu être obtenus après administration intraveineuse de ces nanoconstructions (Kreuter et *al.*, 1995). D'autre part, il a été suggère que plusieurs cibles localisées à la surface des cellules endothéliales cérébrales pouvaient être mises à profit pour favoriser le passage de nanovecteurs chargés en médicaments. Ainsi, des ligands tels que la transferrine ou des anticorps dirigés contre ce récepteur ont été greffés à la surface de nanoparticules ou de liposomes afin de permettre le passage de ces vecteurs à travers la BHE (Kim et *al.*, 2007).

4.3. Utilisation des nanotechnologies dans l'imagerie

Afin de vérifier le bon cheminement des nanoparticules jusqu'à la tumeur, de comprendre leur mécanisme d'action, d'évaluer l'efficacité des traitements anti-angiogéniques ou bien de détecter précocement le développement d'une tumeur, il est primordial que le vecteur soit visible. Pour cela, les chercheurs ont mis au point des systèmes combinés où la nanoparticule est couplée à la fois à : un agent de ciblage angiogénique qui va permettre de diriger le vecteur jusqu'à la zone tumorale et un agent d'imagerie qui va permettre de visualiser les zones ciblées (Cai et Chen, 2008). Le domaine de l'imagerie étant vaste, nous présentant la technique d'imagerie IRM.

L'IRM est une technique d'imagerie médicale récente, non invasive, basée sur le phénomène de résonance magnétique nucléaire (RMN). Cette technique permet de sonder les propriétés d'une molécule et de son environnement chimique *via* l'interaction d'un champ magnétique avec les moments magnétiques nucléaires de certains atomes, elle permet de prendre des images de la vascularisation tumorale, notamment à l'aide de nanoparticules offrant un signal amplifié. De nombreuses études ont employé des nanoparticules paramagnétiques pour traquer l'angiogenèse en ciblant les intégrines $\alpha\beta_3$. Ainsi, des liposomes chélatant du gadolinium (Gd^{3+}) ont été couplés à un anticorps monoclonal des intégrines (LM609) (Sipkins *et al.*, 1998). Les quantum dots peuvent être modifiés avec des lipides paramagnétiques contenant du gadolinium (Gd-DTPA) jouent un double rôle, celui de vecteur et celui d'agent d'imagerie. Oostendorp *et al.* ont développé des quantum dots paramagnétiques liant un peptide cyclique cNGR (Asn-Gly-Arg). Ce ligand présente une forte affinité pour le facteur de nécrose tumorale TNF- α entraînant une augmentation de l'activité anti-tumorale. Après injection intraveineuse de cNGR-pQDs dans des souris portant des tumeurs implantées, des images réalisées en IRM ont permis une localisation précise et une quantification de l'activité angiogénique tumorale (Oostendorp *et al.*, 2008).

4.4. Nano-médicaments et thérapie génique

La thérapie génique consiste à considérer un gène comme un médicament qu'il s'agisse de remplacer la fonction d'un gène défectueux ou de commander la synthèse dans l'organisme d'une protéine thérapeutique quelconque. Par extension, la thérapie génique est également considérée comme l'administration à un patient d'ADN (ou d'ARN) dans un but préventif, curatif ou diagnostique (Friedmann, 1989). L'un des aspects essentiels du transfert de gènes à visée thérapeutique est la vectorisation de l'ADN par un transporteur jusqu'à la cellule cible. En effet, l'ADN est une molécule anionique, hydrophile et de masse moléculaire très élevée (par exemple, 3 millions pour un plasmide de 5 kb) et n'est donc pas une molécule propice au passage des membranes biologiques. C'est pourquoi, dans la plupart des cas, l'ADN doit être introduit dans la cellule, soit à l'aide d'une technique physique ou chimique fragilisant les membranes cellulaires, soit combiné à un vecteur. Quel que soit le transporteur utilisé, les particules contenant l'ADN doivent successivement: (1) s'associer aux cellules, de manière spécifique ou non ; (2) pénétrer dans le cytoplasme de la cellule, soit par fusion directe avec la

membrane plasmique, soit après rupture de vésicules intracellulaires (endosomes, lysosomes), (3) permettre l'entrée de l'ADN dans le noyau de la cellule (Ali et *al.*, 1994).

4.5. L'utilisation des nano-technologies pour le traitement des infections intracellulaires

Lorsqu'ils se trouvent dans le compartiment sanguin, de nombreux parasites et bactéries sont également opsonines puis captés par les macrophages du système réticulo-endothélial. Dans certaines situations (immunodépression, maladies opportunistes etc.), les lysosomes de ces macrophages constituent des sanctuaires pour la multiplication des ces microorganismes intracellulaires. Or beaucoup de composés à activité antibactérienne ou antiparasitaire sont peu actifs sur ces germes à localisation intracellulaire soit parce qu'ils sont dégradés dans le milieu intracellulaire, soit parce qu'ils diffusent mal à l'intérieur des cellules ou encore parce qu'ils n'atteignent pas les compartiments intracellulaires infectés (endosomes/lysosomes). Le tropisme des nanovecteurs pour les macrophages du système réticulo-endothélial et pour les endosomes et lysosomes de ces cellules en font donc des navettes de choix pour la délivrance intracellulaire de ces composés à activité antimicrobienne. Ainsi, l'administration systémique de médicaments anti-infectieux à l'aide de liposomes ou de nanoparticules a été proposée pour le traitement d'infections bactériennes (listérioses, salmonelloses, tuberculose etc.), parasitaires (leishmaniose viscérale, malaria) ou pour le ciblage intracellulaire de mycoses profondes. Dans tous ces cas, la forme vectorisée de l'antibiotique s'est avérée beaucoup plus efficace que le médicament administré sous une forme galénique conventionnelle. L'administration pulmonaire d'antibiotiques à l'aide de nanovecteurs est également une approche qui a permis d'améliorer le traitement de la tuberculose (Couvreur, 1993)

La toxicité des agents antimicrobiens actifs contre les mycoses sévères, les parasites, les bactéries intracellulaires ou les virus constitue un autre obstacle au traitement efficace de ces maladies. Or, il a été démontré que l'association de ces composés à des nanotechnologies permettait d'en réduire considérablement la toxicité. Par exemple, la toxicité de l'amphotéricine B a pu être réduite d'un facteur 50 à 70 après encapsulations dans des liposomes. Ce type de nano-formulation permet donc d'augmenter l'activité antifongique de l'amphotéricine B grâce à l'administration de doses plus importantes que celles administrées sous les formes galéniques habituelles (Couvreur, 1993).

3.6. Utilisation des micro- et nano-technologies dans la vaccination

Les micro- et nano- technologies peuvent également être utilisées pour la formulation de vaccins afin d'accroître la réponse immunitaire systémique ou induire une réponse muqueuse. L'utilisation de nanotechnologies permettra donc, à l'avenir, le développement de vaccins non injectables, administrés par voie muqueuse (nasale ou orale), plus confortable pour le patient (Couvreur, 2010).

3.7. Nano-médicaments et Sida

La technologie des nano-médicaments squalénisés a également fait ses preuves dans le domaine du Sida. Par exemple, un médicament anti- VIH, la didanosine (ddI), a été squalénisé et le nano-médicament ainsi obtenu a été testé sur des lymphocytes humains originaires de

trois donneurs différents et infectés par le VIH. Sur une souche sensible, on observe que les nanoparticules de ddI-squalène sont quatre fois plus efficaces comparativement à la ddI incubée sous forme libre. Plus intéressante encore est l'observation qui a été faite avec des souches résistantes de VIH pour laquelle l'incubation de la ddI sous forme de nanoparticules squalénisées conduit à une efficacité dix fois plus importante que la ddI sous forme libre (Couvreur, 2010).

Conclusion

Il ressort de cette recherche bibliographique que la vectorisation a fait des progrès considérables. Aujourd'hui elle constitue une discipline scientifique à part entière, pluridisciplinaire, qui offre des possibilités nouvelles pour l'administration des médicaments. Un des objectifs de la vectorisation est donc d'améliorer la biodisponibilité du principe actif en le protégeant du milieu vivants et en contrôlant sa distribution spatiale mais aussi dans le temps.

Malgré les grands progrès réalisés, un certain nombre de verrous technologiques très importants demeurent. Si tout se passait comme prévu, le principe actif serait bien piégé à l'intérieur d'une nanoparticule pour être vectorisé. En réalité, une fraction du médicament est effectivement encapsulée, mais une autre, parfois plus importante, va s'adsorber en surface. En conséquence, lorsque l'on va administrer cet ensemble par voie intraveineuse, il y aura une libération immédiate et totalement incontrôlée du principe actif.

Un autre inconvénient, probablement plus important, et qui limite d'autant plus les possibilités de ces technologies est le taux de charge. En effet, il est important de pouvoir estimer quel poids de médicament il est possible d'introduire par rapport au poids du vecteur. Bien souvent, il s'avère que la valeur de 8 % est très satisfaisante, alors qu'il est souvent difficile de dépasser les 1 ou 2 %. Cette limitation pose un problème important puisqu'alors, soit la quantité de médicament injectée est insuffisante, et donc l'efficacité est faible, soit il va être nécessaire d'administrer des grandes quantités de matériel vecteur, ce qui provoquera l'apparition d'effets secondaires, en particulier liés à la toxicité par accumulation intracellulaire de matériel polymère.

Un gros travail reste donc à faire par les chimistes, pour développer des nanotechnologies qui résoudront ces deux problèmes, en particulier celui du taux de charge, afin de pouvoir améliorer l'index thérapeutique des médicaments et éventuellement de contourner des phénomènes de résistance.

Références Bibliographiques

Aiache JN., Amdidouche HD., Arnud PH. Pharmacie galénique: formulation et technologie pharmaceutique, *Maliame*, 2007. pp: 221-246.

Aitken RJ., Creely KS. and Tran CL. Nanoparticles: an occupational hygiene review. *Sudbury, Suffolk, Grande-Bretagne*, 2004, (274): 100.

Alexiou C., Arnold W., Klein R. and Parak J. Locoregional cancer treatment with magnetic drug targeting, *Cancer Res*, 2000, 60 (23): 6641–6648.

Allemann E. and Gravel P. "Kinetics of blood component adsorption on poly(D,L-lactic acid) nanoparticles: evidence of complement C3 component involvement." *J Biomed Mater Res*, 1997, (37): 229-234.

Allen TM. "Ligand-targeted therapeutics in anticancer therapy." *Nat. Rev. Cancer*, 2002, 2: 750-763.

Ali M., Lemoine R. and Ring CJ. The use of DNA viruses as vectors for gene therapy. *Gene Ther*, 1994, (1): 367-384.

Andreas BS. and Hand S. Drug delivery system for the release of a-lipoic acid in the colon containing chitosan. *US*, 2004: 108-779.

Anthonsen MW., Varum KM. and Smidsrod O. Solution properties of Chitosans: conformation and chain stiffness of chitosans with different degrees of N-acetylation. *Carbohydrate polymers*, 1993, 22(3): 193-201.

Arayne MS. and Sultana N. Porous nanoparticles in drug delivery systems. *Pak J Pharm Sci*, 2006, (19): 158-169.

Asif M., Arayne MS., Sultana N. and Hussain F. Fabrication of nanoparticles within polymeric pores for controlled release of drug. *Pak J Pharm Sci*, 2006, (19): 73-84.

Baban DF. and Seymour LW. Control of tumour vascular permeability. *Adv Drug Deliv Rev*, 1998, (34): 109-119.

Bangham AD., Standish MM. and Watkins JC. Diffusion of univalent ions across the lamellae of swollen phospholipids, *J Mol Biol*, 1965, (13): 238-52.

Barraud L., Merle P., Soma E., Lefrançois L. Increase of doxorubicin sensitivity by doxorubicin loading into nanoparticles for hepatocellular carcinoma cells *in vitro* and *in vivo*. *J. Hepatology*, 2005, (42): 736-743.

Bareford LM. and PW. Swaan . "Endocytic mechanisms for targeted drug delivery." *Adv. Drug Delivery Rev*, 2007, 59: 748-758.

Baudys M., Letourneur D., Liu F. and Mix D. Extending insulin action in vivo by conjugation to carboxymethyl dextran. *Bioconjugate chemistry*, 1998, 9(2): 176-183.

Benoit JP., Couvreur P., Devissaguet JP. and Fessi H. Les formes "vectorisées" ou "à distribution modulée", nouveaux systèmes d'administration des médicaments. *J. Pharm. Belg*, 1986, (11): 319-329.

Berg UE., Kreuter J., Speiser PP. and Soliva M. Preparation and in vitro investigation of adjuvants for vaccines. *Pharmazeutische Industrie*, 1986, 48(1): 75-79.

Berkland C., King M., Cox A. and Kim K. Precise control of PLG microsphere size provides enhanced control of drug release rate, *J. Control. Release*, 2002, (43): 47-58.

Berkland C., Kim K. and Pack DW. PLG microsphere size controls drug release rate through several competing factors, *Pharm. Res*, 2003, (20): 1055-1062.

Blanco MD., Sastre RL., Teijon C. and Olmo R. Degradation behavior of microspheres prepared by spray-drying poly(L-lactide) and poly(D,L-Lactide-co-glycolide) polymers *International Journal of Pharmaceutics*, 2006, 326(1-2): 139-147.

Bowersock TL. and Hogenesch H. Oral immunization using microparticles. *Controlled Drug Delivery*, 1997: 269-288.

Brigger I., Dubernet C. and Couvreur P. Nanoparticules in cancer therapy and diagnosis. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2002, 54(5): 631-651.

Brighet A. Strategies d'adressage des nanoparticules a base de dextrane dirigées contre les récepteurs au VEGF. Thèse de doctorat, Université Henri Poincaré-Nancy1. 2010. P: 75.

Bryjes L. Etude d'un procédé de microencapsulation par évaporation de solvant, application à l'encapsulation d'un biocide, Thèse de doctorat, Université de Nantes, 1996.P: 34-35

Bulte JW., Hoekstra Y., Kamman R L. and Magin R. The, Specific MR imaging of human lymphocytes by monoclonal antibody-guided dextran-magnetite particles, *Magn. Reson. Med*, 1992, 25 (1): 148-157.

Cai W and Chen X. Multimodality molecular imaging of tumor angiogenesis, *The Journal of Nuclear Medicine*, 2008, (49): 113-128.

Chan P., Kurisawa M., Chung JE. and yang YY. Synthesis and characterization of chitosan-g-poly(ethylene glycol)-folate as a non-viral carrier for tumor-targeted gene delivery. *Biomaterials*, 2007, 28(3): 540-549.

Capan Y., Woo BH., Gebrekidan S. and Ahmed S. Influence of formulation parameters on the characteristics of poly(D,L-lactide-co-glycolide) microspheres containing poly(L-lysine) complexed plasmid DNA, *J. Control. Release*, 1999, (60): 279-286.

Chauvierre C., vauthier C., Laborre. and Hommel H. Evaluation of the surface properties of dextran-coated poly(isobutyl cyanoacrylate) nanoparticles by spin-labelling coupled with electron resonance spectroscopy. *Colloid and polymer Science*, 2004, 282(9): 1016-1025.

Cirstoiu HA., Bossy L., Buchegger F. and Gurny R. Differential tumor cell targeting of anti-HER2 (Herceptin) and anti-CD20 (Mabthera) coupled nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*, 2007, 331(2): 190-196.

Conner SD. and Schmid SL . "Regulated portals of entry into the cell." *Nature*, 2003, 422: 37-44.

Couvreur P.,Tulkens P., Roland M. and TouretA. Nanocapsule A new type of lysosomotropic carriere, *FEBS Lettre*. 1977, (84): 323-326.

Couvreur P., Roland M . and Speiser P. Submicroscopic biodegradable particles containing a biologically-active substance. 1979, BE 869107.

Couvreur P. and Puisieux F. Nano-and microparticules for the delivery of polypeptides and proteins. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 1993, (10): 141-162.

Couvreur P., Dubernet C. and Puisieux F. Controlled drug delivery with nanoparticles : current possibilities and future trends, *Eur. J. Pharm. Biopharm*, 1995, (41): 2-13.

Couvreur P. and Vauthier C. Nanotechnology: intelligent design to treat complex disease. *Pharm Res*, 2006, (23): 1417-1450.

Couvreur P. Nanotechnologies pour la conception de nouveaux médicaments,Thèse de doctorat, Université Paris-Sud. 2010. PP: 12-25.

Dass CR. and Choong PF. Targeting of small molecule anticancer drugs to the tumour and its vasculature using cationic liposomes: lessons from gene therapy. *Cancer Cell Int* ,2006:6-17.

D'Emanuele A. and Attwood D. Dendrimer-drug interactions. *Advanced drug delivery reviews*, 2005,(57): 2147-2162.

Derfus AM., Chen AA., Min DH. and Ruoslahti E. Targeted quantum dot conjugates for siRNA delivery. *Bioconjug Chem*, 2007, (18): 1391-1396.

Deshayes S. Synthèse de nanoparticules spécifiques pour le ciblage et l'imagerie de l'angiogenese tumorale. Thèse de doctorat, Université Bordeaux I. 2009 . P: 33.

Diab R. Vectorisation des analogues de nucléosides pour le traitement des métastases.thèse de doctorat, Universite claudes bernard-Lyon1-LYON 1. 2009. pp: 21-22.

Dirksen A., Langereis S., Waal BF. and Genderen MH. supramolecular approach to multivalent target-specific MRI contrast agents for angiogenesis. *Chem Commun*, 2005: 2811-2813

Draget KI., Steinsvag K., Onsoyen E. and Smidsrod O. Monovalent alginate counterions; effects on Ca²⁺-mediated gelation. *Annual Transactions of the Nordic Rheology Society*, 1997, (5): 26-30

Dreher MR., Liu WG., Michelich CR. and Dewhirst MW. Tumor vascular permeability, accumulation, and penetration of macromolecular drug carriers. *J Natl Cancer Inst*, 2006, (98): 335-344.

Domard A. and Domard M. Chitosan: structure-properties relationship and biomedical applications. *Polymeric biomaterials*, ed. S. Dumitriu. Marcel Dekker. 2001:187-212.

Dombu- Youta CL. Utilisation de nanoparticules pour délivrer des protéines dans les épithéliums respiratoires. Caractérisation des mécanismes impliqués. Thèse de doctorat, Université de Lille 2.2012.P: 23.

Dousset N., Douste-Blazy L. Méthodes de préparation des liposomes. In :Puisieux F., Delattre J.eds. *Les liposomes (applications thérapeutiques)*, Edition TEC& DOC (Lavoisier), Paris. 1985: 41-72.

Fang J. Nakamura H and Maeda H, The EPR effect: Unique features of tumor blood vessels for drug delivery, factors involved, and limitations and augmentation of the effect. *Adv Drug Deliv Rev*, 2011, (63): 136-151.

Farokhzad OC., Cheng J. et al. "Targeted nanoparticles-aptamer bioconjugates for cancer chemotherapy *in vivo*." *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A*, 2006, 103: 6315-6320.

Fessi H., Devissaguet J. and Puisieux F.. Process for the preparation of dispersible colloidal systems of a substance in the form of nanocapsules. *US patent*, 1991, (5): 32-49.

Fessi H., Devissaguet J., and Puisieux F. Process for the preparation of dispersible colloidal systems of a substance in the form of nanoparticles. *US patent*, 1992, (5) 118 -128.

Fluckiger L. Intérêt des noosphères comme forme orale a libération modifiée pour améliorer la biodisponibilité et le profil pharmaco-dynamique de l'isradipine. Thèse, Université Henri Poincare-Nancy I. 1999. PP: 19-20.

Friedmann T . Progress toward human gene therapy. *Science*, 1989, (244): 1275-1281.

Gao H., Yang W., Min K. and Zha L. Thermosensitive poly(Nisopropylacrylamide) nanocapsules with controlled permeability, *Polymer*, 2005, (46): 1087-1093.

Gingras M., Raimundo JM. and Chabre YM. Cleavable dendrimers. *Angewandte Chemie International Edition*, 2007, 46: 1010-1017.

Giraud S. Microencapsulation d'un diisocyanate et d'un phosphate d'ammonium Application : élaboration d'un système polyuréthane monocomposant à propriété retardatrice de flamme pour l'enduction textile. Thèse de doctorat, Université des sciences et technologies de Lilli. 2002. pp 29-35.

Grabovac V., Guggi D. and Bernkop S. Comparison of the mucoadhesive properties of various polymers. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2005, 57(11): 1713-1723.

Gregoriadis G. Carrier Potential of Liposomes in Biology and Medicine. *New England Journal of Medicine*, 1976, 295(13): 704-710.

Goutayer M. Nano-émulsions pour la vectorisation d'agents thérapeutiques ou diagnostiques ; étude de la biodistribution par imagerie de fluorescence *in vivo*. Thèse de doctorat, Université Pierre et Marie Curie. 2008. pp: 14-57.

Guery J., Emulsions doubles cristallisables : Stabilité, encapsulation et relargage. Thèse de doctorat, Université Paris VI. 2006. P: 18.

Gupta AK. and Gupta M. Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications, *Biomaterials*, 2005, 26 (18): 3995-4021.

Gutierrez DD., Surtchev M., Eiser E. and Elsevier CJ, Ru(II)-based metallosurfactant forming inverted aggregates", *Nano Lett*, 2006, (6):145-147.

Hammady T. Traitement anti-angiogène .par des vecteurs' nanosphériques bioadhésifs. Thèse de doctorat, Université de Montréal. 2008. P: 27.

Hans ML. and Lowman AM. Biodegradable nanoparticles for drug delivery and targeting, *Current Opinion, solid state and material science*, 2002, (6): 319-327.

Hantz A. contribution à l'étude de charges organiques hydrocarbonées pour matériaux composites. Modification de surface de particules styrénique et encapsulation d'hydrocarbures polycycliques. Thèse de doctorat, Université de Haute-Alsace, 1989. P: 102.

Hocine O. Nanoparticules de silice mésoporeux fonctionnalisée pour la thérapie photodynamique et la vectorisation. Thèse de doctorat, Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou. 2012. P: 15.

Hombreiro PM., Zinutti C., Lamprecht A. and Ubrich, N., Astier The preparation and evaluation of poly(epsilon-caprolactone) microparticles containing both a lipophilic and a hydrophilic drug. *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society*, 2000, (65): 429-38.

Hovgaard L. and Bronsded H. Dextran hydrogels for colon-specific drug delivery, *Journal of Controlled Release*, 1995, 36(1-2): 256-274.

Illum L. and Davis SS. The organ uptake of intravenously administered colloidal particles can be altered using nonionic surfactant (poloxamer 338). *FEBS Lett.* 1984, (167): 79-82.

Illum L. and Hunneyball IM, Davis SS, The effect of hydrophilic coatings on the uptake of colloidal particles by the liver and by peritoneal macrophages. *Int. J. Pharm.*, 1986, (29): 53-65.

Jamees RS., Suma N. and Jayakrishana A. Protein release from poly (epsilon-caprolactone) microspheres prepared by melt encapsulation and solvent evaporation techniques: a comparative study. *Journal of Biomedical Materials Research*, 1997, 8(6): 457-466.

Jain RA. The manufacturing techniques of various drug loaded biodegradable poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) devices. *Biomaterials* , 2000, (21): 2475-2490.

Kabanov AV. and Alakhov VY. Pluronic block copolymers in drug delivery: from micellar nanocontainers to biological response modifiers. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst* , 2002, (19): 1-72.

Kataoka K., Matsumoto T., Yokoyama M. and Okano T. Doxorubicin-loaded poly(ethylene glycol)-poly(beta-benzyl-L-aspartate) copolymer micelles: their pharmaceutical characteristics and biological significance, *J Control Release*, 2000, (64): 143-153

Keshaw H., Forbes A. and Day RM. Release of angiogenic growth factors from cells encapsulated in alginate beads with bioactive glass. *Biomaterials*, 2005, 26(19): 4171-4179.

Khalikova E., Susi P. and Korpela T. Microbial Dextran-hydrolyzing enzymes: Fundamentals and applications. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2005, 69(2): 306-325.

Kim DS. and Ki. "Multicenter phase II trial of Genexol-PM, a novel Cremophor-free, polymeric micelle formulation of paclitaxel, with cisplatin in patients with advanced non-small-cell lung cancer." *Ann. Oncol*, 2007, (18): 2009-2014.

Klose D., Siepmann F., Elkharraz K. and Krenzlin S. How porosity and size affect the drug release mechanisms from PLGA-based microparticles, *Int. J. Pharm.*, 2006, (314): 198-206.

Klose D., Siepmann F. et al. "How porosity and size affect the drug release mechanisms from PLGA-based microparticles." *Int. J. Pharm.*, 2006, 314: 198-206.

Kocbek P., Obermajer N., Cegnar M. and Kos J. Targeting cancer cells using PLGA nanoparticles surface modified with monoclonal antibody. *Journal of Controlled Release*, 2007, 120(1-2): 18-26.

Koo OM., Rubinstein I. and Onyuksel H., Role of nanotechnology in targeted drug delivery and imaging: a concise review, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 2005, 1(3): 193-212.

Kreuter J. Evaluation of nanoparticles as drug-delivery systems. III: materials, stability, toxicity, possibilities of targeting, and use. *Pharmaceutica acta Helvetiae*, 1983, (58): 242-250.

Kreuter J. Nanoparticles, in: J. Kreuter (Ed.), *Colloidal Drug Delivery Systems*, Marcel Dekker, New York, 1994. P: 219-343.

Kreuter J., Alyautdin RN., Kharkevich DA. and Ivanov AA. Passage of peptides through the blood brain barrier with colloidal polymer particles (nanoparticles). *Brain. Res*, 1995, 674(1): 171-174

Kumar C. Biological and Pharmaceutical Nanomaterials. *Nanotechnologies for life science*, 2006, (2): 65-71.

Lagarce F., Garcion E. and Faisant N., Thomas, O., Kanaujia, P., Menei, P. & Benoit, J.P. Development and characterization of interleukin-18-loaded biodegradable microspheres. *International journal of pharmaceutics*, 2006, (314): 179-88.

Lamprecht A., Yamamoto H., Takeuchi H. and Kawashima Y. pH-sensitive microsphere delivery increases oral bioavailability of calcitonin, *J. Control. Release*, 2004, (98): 1-9.

Laurent V., Fraix A., Montier T. and Cammas-Marion, S. Highly efficient gene transfer into hepatocyte-like HepaRG cells: new means for drug metabolism and toxicity studies. *Biotechnol.J*, 2010, (5): 314-320.

Lee JH., Lee HB. and Andrade JD. Blood compatibility of polyethylene oxide surfaces. *Progress in Polymer Science*, 1995, 20(6): 1043-1079.

Lee J., Isobe T. and Senna M. Preparation of ultrafine Fe₃O₄ particles by precipitation in the presence of PVA at high pH, *J. Colloid Interface Sci*, 1996, 177(2): 490-494.

Lee CL., MacKay JA., Fréchet JM. and Szoka JF. Designing dendrimers for biological applications. *Nature biotechnology*, 2005, 23(12): 1517-1526.

Lei PP., Ferrari M., Vogel V. and Baker JR. The frontiers of nanotechnology and nanomedicine, *Information Today Inc, Medford*, 2000, (37): 496-496.

Lenaerts V., Couvreur P., Christiaens LD. and Joiris E. Degradation of poly(isobutyl cyanoacrylate) nanoparticles *Biomaterials*, 1984, 5(2): 65-68.

- Letchford K. and Burt HA. review of the formation and classification of amphiphilic block copolymer nanoparticulate structures: micelles, nanospheres, nanocapsules and polymersomes. *Eur J Pharm Biopharm*, 2007, (65): 259-269.
- Li S. and Vert M. Biodegradable polymers: polyesters. Encyclopedia of controlled drug delivery, ed. E. Mathiowitz. John Wiley & Sons. 1999, (1-2): 71-93.
- Liew CV., Chan LW., Ching AL. and Heng PWS. Evaluation of sodium alginate as drug release modifier in matrix tablets. *International Journal of Pharmaceutics*, 2006, (309): 25-37.
- Lin SY., Chen KS., Teng HH. and Li ML. In vitro degradation and sissomution behaviour of microspheres prepared by three low molecular weight polyesters. *Journal of microencapsulation*, 2000, 17(5): 577-586.
- Liu TC., Galanis E. and Kirn D. Clinical trial results with oncolytic virotherapy: a century of promise, a decade of progress. *Nat Clin Pract Oncol*, 2007, (4): 101-117.
- Liu Y. and Deisseroth A. Tumor vascular targeting therapy with viral vectors. *Blood*, 2007, (107): 3027-3033.
- Mason TG.. Nanoemulsions: formation, structure, and physical properties. *Journal of Physics: Condensed Matter*, 2006, 18(41): 635-666.
- Matschke C., Isele U., van Hoogevest P. and Fahr A. Sustained-release injectables formed in situ and their potential use for veterinary products. *Journal of Controlled Release* , 2002, (85): 1-15.
- Mehvar R. Dextrans for targeted and sustained delivery of therapeutic and imaging agents. *Journal of Controlled Release*, 2000, 69(1): 1-25.
- Merian JM. Développement et caractérisation *in vivo* de nanoparticules lipidiques biocompatibles au moyen des techniques d'imagerie de fluorescence et nucléaire. Thèse de doctorat, Université Paris Descartes. 2012.pp: 37-42 .
- Mitra S., Gaur U. and Ghosh P. Tumor targeted delivery of encapsulated dextranoxorubicin conjugate using Chitosan nanoparticles as carrier, *Journal of Controlled Release*, 2001, 74(1-3): 317-323.
- Montasser I., Briançon S., Fessi H. and Lieto J. Procédé de préparation de systèmes colloïdaux de type nanocapsule par polycondensation interfaciale. Brevet français 0003133. 2000.
- Mukherjee S., Ghosh RN, et al. (). "Endocytosis." *Physiol. Rev*, 1997, 77: 759-803.
- Murugesan S., Mousa SA., O'connor LJ. and Lincoln IDW. Carbon inhibits vascular endothelial growth factor- and fibroblast growth factor-promoted angiogenesis, *FEBS Letters*, 2007, (581): 1157-1160.
-

- Nel AE., Madler L., Velegol D. and Xia T. Understanding biophysicochemical interactions at the nano-bio interface. *Nat Mater*, 2009, (8): 543-557.
- Nicolas J. and Couvreur P. Synthesis of poly(alkyl cyanoacrylate)-based colloidal nanomedicines. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol*, 2009, (1): 111-127.
- Nouvel C. Synthèse contrôlée de copolymères dexrane-g-polyactide : de leur utilisation comme surfactifs biodégradables à la mise en œuvre de système de vectorisation particulaire. Thèse de l'Institut National Polytechnique de Lorraine, 2002: 226.
- Ogier J. Evaluation de Nanobagues comme Vecteurs de Délivrance de Médicaments. Thèse de doctorat, Université Paris XI Orsay.2008. pp: 59-62.
- Oostendorp M., Douma K., Hackeng TM.and Dirksen A. Van Zandvoort and W.H. Backes, Quantitative molecular magnetic resonance imaging of tumor angiogenesis using cNGR-labeled paramagnetic quantum dots, *Cancer Research*, 2008, 68: 7676-7683.
- Pankhurst QA., Connolly J., Jones S. K. and Dobson J. Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine, *J. Phys. D: Appl. Phys*, 2003, (36): 167-181.
- Paillard A., Passirani C., Saulnier, P. and Kroubi, MPositively-charged, porous, polysaccharide nanoparticles loaded with anionic molecules behave as 'stealth' cationic nanocarriers. *Pharm Res*, 2010, (27): 126-133.
- Park JH., Ye M. and Park K. Biodegradable polymers for microencapsulation of drugs. *Molecules*, 2005, (10): 146-161.
- Peer DJ. and Karp M., et al. "Nanocarriers as an emerging platform for cancer therapy." *Nat. Nanotechnol* 2007, (2): 751-760.
- Perrier T. Modifications de nanocapsules lipidiques par des procédés post-formulation. Elaboration de vecteurs multifonctionnels de médicaments. Thèse de doctorat, Université d'Angers.2009 .P : 17.
- Petros R A. and DeSimone JM . "Strategies in the design of nanoparticles for therapeutic applications." *Nat. Rev. Drug Discovery*, 2010, 9: 615-627.
- Pinto RC., Neufeld RJ., Ribeiro AJ. and Veiga F. Nanoencapsulation I. Methods for preparation of drugloaded polymeric nanoparticles, *Nanomedicine. Nanotech., Biology and Medic*, 2006,(2): 8-21.
- Rawat A., Vaidya., B.; Khatri K. and Goyal AK.; GuptaS. Targeted intracellular delivery of therapeutics: an overview. *Pharmazie*, 2007, (62): 643-658.
-

Read TA., Stensvaag V., Viandenes H. and Ulvestad E. Cells encapsulated in alginate: a potential system for delivery of recombinant proteins to malignant brain tumors. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 1999, 17(5-6): 653-663.

Reimer P. and Balzer T. Ferucarbotran (Resovist): a new clinically approved RESspecific contrast agent for contrast-enhanced MRI of the liver: properties, clinical development, and applications, *Eur. Radiol*, 2003, 13(6): 1266–1276.

Reiss P., Protiere M. and Li L. Core/Shell semiconductor nanocrystals, *Small*, 2009, 5 (2), 154–168.

Robello DR., Eldridge TD. and Swanson MT. Degradation and stabilization of polycyanoacrylates. *Journal of polymer Science, Part A : polymer Chemistry*, 1999, 37(24) : 4570-4581.

Roux E., Stomp R. et al. "Steric stabilization of liposomes by pH-responsive Nisopropylacrylamide copolymer." *J. Pharm. Sci*, 2002 ,91: 1795-1802.

Samad A., Sultana Y. and Aqil M. Liposomal drug delivery systems: an update review. *Curr Drug Delivery*, 2007, (4): 297-305.

Sansdrap P. and Moes AJ. Influence of manufacturing parameters on the size characteristics and the release profiles of nifedine from poly(D,L-lactide-co-glycolide) microspheres, *Int. J. Pharm*, 1993, (98): 157-164.

Sauer M., Streich D. and Meier W. pH-sensitive nanocontainers, *Adv. Mater*, 2001, (13): 1649-1651.

Scholes GD. Controlling the optical properties of inorganic nanoparticles *Advanced Functional Materials*, 2008, 18(8):1157-1172.

Shlunk FF. and Lombardi B. Lipoprotein metabolism and liposome concept. *Bulletin of Pathology*, 1969, (10): 17.

Shah SS., Cha Y. and Pitt CG. Poly(glycolic acid-co-D,L-lactic acid) : diffusion or degradation controlled drug delivery, *J. Control. Rel*, 1992, (18): 261-270.

Shi H., Xu Y., Wang Y. and Song W. Assembly of ferrocenylhexanethiol functionalized gold nanoparticles for ascorbic acid determination", *Microchim Acta*, 2010, (171): 81-89.

Siepmann J., Faisant N., Akiki J. and Richard J. Effect of the size of biodegradable microparticles on drug release: experiment and theory, *J. Control. Release*, 2004, (96): 123-134.

Simard P. and Leroux JC. "In vivo evaluation of pH-sensitive polymer-based immunoliposomes targeting the CD33 antigen." *Mol. Pharmaceutics*, 2010, 7: 1098-1107.

Sonneville-Aubrun O., Simonnet JT. and L'Alloret F. Nanoemulsions: a new vehicle for skincare products. *Advances in Colloid and Interface Science*, 2004, 108-109: 145-149.

Sipkins DA., Cheresch D., Kazemi MR. and Nevin L.M. Detection of tumor angiogenesis *in vivo* by -targeted magnetic resonance imaging, *Nature Medicine*, 1998, (4): 623-626.

Socha M. Apport des nanotechnologies dans le domaine des peptides et des protéines application à l'absorption par voie orale et la furtivité. Thèse de doctorat, Université -Nancy I Henri Poincare. France. 2008. P : 12-17.

Sonvico F., Mornet S., Vasseur S. and Dubernet C. Folate-conjugated iron oxide nanoparticles for solid tumor targeting as potential specific magnetic hyperthermia mediators: synthesis, physicochemical characterization, and *in vitro* experiments. *Bioconjug Chem*, 2005, (16): 1181-1188.

Torchilin VP. Fluorescence microscopy to follow the targeting of liposomes and micelles to cells and their intracellular fate. *Adv Drug Deliv Rev*, 2005,(57): 95-109.

Texier I., Goutayer M., Da Silva A. and Guyon L. Cyanine-loaded lipid nanoparticles for improved *in vivo* fluorescence imaging, *in J Biomed Opt*, 2009, p: 11.

Thanou M. and Junginger HE. Pharmaceutical applications of chitosan and derivatives. Polysaccharides: structural diversity and functional versatility, ed. S. *Dumitriu. Marcel Dekker*, 2004: 661-678.

Torchilin VP. Targeted pharmaceutical nanocarriers for cancer therapy and imaging. *Aaps J* 2007, (9): 128-147.

Ubrich N., Bouillot P., Pellerin C. and Hoffman M. (Preparation and characterization of propranolol hydrochloride nanoparticles: a comparative study. *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society*, 2004, (97): 291-300

Vautier C., Couvreur P., and Dubernet C. Poly(alkylcyanoacrylate). Surfactant Science Series, ed. Elaissari A. Marcel Dekker., Vol. *Colloidal biomolecules, biomaterials, and biomedical applications*, 2003, (116): 349-370.

Vauthier C., Labarre D. and Ponchel G. Design aspects of poly(alkylcyanoacrylate) nanoparticles for drug delivery. *J Drug Target*, 2007, (15): 641-663.

Vauthier C. and Bouchemal K. Methods for the preparation and manufacture of polymeric nanoparticles. *Pharm Res*, 2009, (26): 1025-1058.

Xu ZP., Zeng QH., Lu GQ. and Yu AB., Inorganic nanoparticles as carriers for efficient cellular delivery. *Chemical Engineering Science*, 2006, (61): 1027-1040

- Wang N. and Wu XS. A novel approach to stabilization of protein drugs in poly(lactic-co-glycolide acid) microspheres using agarose hydrogel. *International Journal of Pharmaceutics*, 1998, (166): 1-14.
- Weber C., Coester C. and Kreuter J. Desolvation process and surface characterisation of protein nanoparticles, *International Journal of Pharmaceutics*, 2000, (194): 91-102.
- Weissleder R. and Stark DD., Engelstad BL. and Bacon BR. Superparamagnetic iron oxide: pharmacokinetics and toxicity, *AJR*, 1989, 152 (1): 167–173.
- Weissleder R., and Kelly K. "Cell-specific targeting of nanoparticles by multivalent attachment of small molecules." *Nat. Biotechnol*, 2005, (23): 1418-1423.
- Wilkins DJ. and Myers PA. Studies on the relationship between the electrophoretic properties of colloids and their blood clearance and organ distribution in the rat. *Br. J. Exp. Pathol.* 1966, (47): 568-576.
- Wissing SA., Kayser O. and Mueller RH. Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2004,(56) : 1257-1272.
- Wu H., Seki T., Dmitriev I. and Uil TT. Double modification of adenovirus fiber with RGD and polylysine motifs improves coxsackievirus-adenovirus receptor-independent gene transfer efficiency. *Hum Gene Ther*, 2002, (13):1647-1653.
- Wu M. Synthèse de nanoparticules à propriétés de surface contrôlées par polymérisation en miniémulsion pour la vectorisation de molécules actives. Thèse de doctorat, Nancy-université. 2007. P: 21.
- Zhang H. and Gao S. Temozolomide/PLGA Microparticules and antitumor activity against Glioma C6 cancer cells in vitro. *International Journal of Pharmaceutics*, 2007, 329(1-2): 122-128.
-

Micro- et nano- particules pour la vectorisation et le ciblage des molécules biologiquement actives

RESUME

L'adressage ou délivrance spécifique de molécules thérapeutiques vers un organe, un tissu ou une cellule malade constitue actuellement un défi majeur pour le traitement des maladies humaines, notamment infectieuses, cancéreuses ou d'origine génétique. Le développement des technologies permet aujourd'hui de proposer l'idée de «vectorisation» des médicaments qui consiste à moduler et contrôler la distribution du principe actif vers la cible biologique. Elle permet d'améliorer les caractéristiques pharmacocinétiques du principe actif vectorisé, de le protéger et de réduire ses effets toxiques. Les chercheurs s'appliquent à mettre au point des systèmes particuliers ou submicroniques pour la vectorisation et le transport des médicaments. La conception des micro- et nano- particules au cours des dernières années a une importance considérable dans le diagnostic et le traitement de pratiquement toutes les maladies et plus particulièrement, celles qui accablent l'humanité (cancer, sida, maladies neurodégénératives, ... etc).

Mots clés: Vectorisation, Vecteurs, micro- et nano- particules, principe actif, ciblage.

SUMMARY

The address or specific delivery of therapeutic molecules to an organ, tissue or diseased cell is currently a major challenge for the treatment of human diseases, including infectious, cancerous or genetic. Today, technology development allows proposing the idea of drugs "vectorization" which consist to modulate and control the active molecules distribution to the biological target. It improves the pharmacokinetic characteristics of vectorized active molecules, protect and reduce its toxic effects. Researchers apply to develop submicronic or particular systems for drug transport and vectorisation. In recent years, micro-and nano-particles design has considerable importance in diagnosis and treatment of diseases, especially those that afflicts humanity (cancer, AIDS, neurodegenerative diseases, etc ...).

Keywords: Vectorization, vectors, micro-and nano-particles, active molecules, targeting.

ملخص

الاستهداف أو الإرسال الموجه للجزيئات العلاجية نحو خلية، نسيج، أو عضو مصاب يشكل حالياً، تحدياً كبيراً في علاج الأمراض البشرية، سيما المعدية، السرطانية أو ذات الأصل الوراثي. حالياً، أتاح التطور التكنولوجي اقتراح فكرة "توجيه" الأدوية، والتي تهدف إلى تعديل ومراقبة توزيع المادة النشطة. باتجاه الهدف البيولوجي. كما تسمح بتحسين المميزات الحركية الصيدلانية للمادة الفعالة الموجهة، حمايتها وكذا التقليل من أثارها السامة. ثابر الباحثون في وضع الأنظمة الجزيئية أو التحت المجهرية من أجل توجيه ونقل الأدوية. تعتبر الجزيئات الميكرونية والنانوية، في السنوات الأخيرة، ذات أهمية بالغة في تشخيص ومعالجة معظم الأمراض خصوصاً تلك التي ترهق البشرية (السرطان، السيدا، والأمراض العصبية...الخ).

الكلمات المفتاحية: التوجيه، ناقل، الجزيئات الميكرونية و النانوية، المادة النشطة، إستهداف .