



Université de Strasbourg
FACULTÉ DE PHARMACIE

N° d'ordre: _____

MÉMOIRE DE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

**L'intérêt de l'utilisation des nanoparticules à base de lipides
dans la formulation des médicaments**

Présenté par

CARLOS William

Soutenu le 24 novembre 2023 devant le jury constitué de

Monsieur Pascal DIDIER Professeur de Biophotonique, **Président**

Monsieur Nicolas ANTON Maître de conférences en Pharmacie Biogalénique, **Directeur de thèse**

Monsieur Jérémy HENOCQUE Docteur en Pharmacie et Monsieur François LAEMMEL

Docteur en Pharmacie, **Autres membres du jury**

Approuvé par le Doyen et
par le Président de l'Université de Strasbourg



Doyen	Esther KELLENBERGER
Directeurs adjoints	Julien GODET Béatrice HEURTAULT Emilie SICK
Directeur adjoint étudiant	Léo FERREIRA-MOURIAUX

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT

Professeurs :

Philippe BOUCHER	Physiologie
Nathalie BOULANGER	Parasitologie
Line BOUREL	Chimie thérapeutique
Pascal DIDIER	Biophotonique
Saïd ENNAHAR	Chimie analytique
Valérie GEOFFROY	Microbiologie
Philippe GEORGEL	Bactériologie, Virologie
Jean-Pierre GIES	Pharmacologie moléculaire
Béatrice HEURTAULT	Pharmacie galénique
Esther KELLENBERGER	Bio-Informatique
Maxime LEHMANN	Biologie cellulaire
Eric MARCHIONI	Chimie analytique
Francis MEGERLIN	Droit et économie pharm.
Yves MELY	Physique et Biophysique
Jean-Yves PABST	Droit Economie pharm.
Françoise PONS	Toxicologie
Valérie SCHINI-KERTH	Pharmacologie
Florence TOTI	Pharmacologie
Thierry VANDAMME	Biogalénique
Catherine VONTHRON	Pharmacognosie
Pascal WEHRLÉ	Pharmacie galénique

Professeurs-praticiens hospitaliers

Julien GODET	Biophysique - science des données
Jean-Marc LESSINGER	Biochimie
Bruno MICHEL	Pharm. clinique santé publique
Pauline SOULAS-SPRAUEL	Immunologie
Geneviève UBEAUD-SÉQUIER	Pharmacocinétique

Enseignants contractuels

Alexandra CHAMPERT	Pharmacie d'officine
Matthieu FOHRER	Pharmacie d'officine
Philippe GALAIS	Droit et économie pharm.
Philippe NANDE	Ingénierie pharmaceutique
Caroline WILLER - WEHRLÉ	Pharmacie d'officine

Maîtres de Conférences :

Nicolas ANTON	Pharmacie biogalénique
Fareeha BATOOL	Biochimie
Martine BERGAENTZLÉ	Chimie analytique
Elisa BOMBARDA	Biophysique
Aurélie BOURDERIOUX	Pharmacochimie
Emmanuel BOUTANT	Virologie et Microbiologie
Véronique BRUBAN	Physiologie et physiopath.
Anne CASSET	Toxicologie
Thierry CHATAIGNEAU	Pharmacologie
Manuela CHIPER	Pharmacie biogalénique
Guillaume CONZATTI	Pharmacie galénique
Marcella DE GIORGI	Pharmacochimie
Serge DUMONT	Biologie cellulaire
Gisèle HAAN-ARCHIPOFF	Plantes médicinales
Célien JACQUEMARD	Chémoinformatique
Julie KARPENKO	Pharmacochimie
Sonia LORDEL	Chimie analytique
Clarisse MAECHLING	Chimie physique
Rachel MATZ-WESTPHAL	Pharmacologie
Cherifa MEHADJI	Chimie
Nathalie NIEDERHOFFER	Pharmacologie
Sergio ORTIZ AGUIRRE	Pharmacognosie
Sylvie PERROTEY	Parasitologie
Romain PERTSCHI	Chimie en flux
Frédéric PRZYBILLA	Biostatistiques
Patrice RASSAM	Microbiologie
Eléonore REAL	Biochimie
Andreas REISCH	Biophysique
Ludivine RIFFAULT-VALOIS	Analyse du médicament
Carole RONZANI	Toxicologie
Emilie SICK	Pharmacologie
Yaouba SOUAIBOU	Pharmacognosie
Maria-Vittoria SPANEDDA	Chimie thérapeutique
Jérôme TERRAND	Physiopathologie
Nassera TOUNSI	Chimie physique
Aurélie URBAIN	Pharmacognosie
Bruno VAN OVERLOOP	Physiologie
Maria ZENIOU	Chimiogénomique

Maîtres de conférences - praticiens hospitaliers

Julie BRUNET	Parasitologie
Nelly ÉTIENNE-SELLOUM	Pharmacologie- pharm. clinique

Assistant hospitalier universitaire

Damien REITA	Biochimie
--------------	-----------

SERMENT DE GALIEN

JE JURE,

en présence des Maîtres de la Faculté,
des Conseillers de l'Ordre des Pharmaciens
et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit
dans les préceptes de mon art et de
leur témoigner ma reconnaissance en
restant fidèle à leur enseignement ;

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique,
ma profession avec conscience et de respecter non
seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles
de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne dévoiler à personne les secrets
qui m'auront été confiés et dont j'aurai eu
connaissance dans la pratique de mon art.

Si j'observe scrupuleusement ce serment,
que je sois moi-même honoré
et estimé de mes confrères
et de mes patients.

REMERCIEMENTS

Tout d'abord je tiens à remercier les membres qui constitue mon jury de thèse :

À Monsieur Pascal DIDIER, c'est un honneur pour moi que vous soyez le président de mon jury de thèse. Je vous en suis infiniment reconnaissant.

À Monsieur Nicolas ANTON, mon directeur de thèse, de vous être rendu disponible afin de m'avoir accompagné et aidé tout au long de ce travail. Soyez assuré de ma profonde reconnaissance et de mon estime.

À Messieurs Jérémy HENOCQUE et François LAEMMEL d'avoir accepté de donner de votre temps pour juger mon travail.

Je tiens ensuite à remercier mes deux meilleurs amis :

Au noyau, pour ces merveilleuses années passées à vos côtés que je ne pourrai oublier. À tous ces bons moments que nous avons pu passer ensemble et à ceux à venir. Merci d'avoir toujours été là pour moi.

Je tiens à remercier ma compagne :

À toi Léa, de m'avoir accompagné, soutenu, réconforté et motivé durant toute cette période de thèse. Je tiens à te remercier de m'avoir épaulé, d'avoir toujours su être là pour moi et de m'avoir rendu meilleur.

Pour finir je tiens à remercier ma famille :

À vous papa, maman, de m'avoir toujours soutenu dans tout ce que j'ai entrepris. D'avoir fait le maximum pour que je sois là où j'en suis. Je n'aurai jamais réussi sans vous. Je tiens à vous dire merci pour tout ce que vous avez fait pour moi. Je vous aime fort tous les deux.

Et bien entendu à toi fréro et à toi petite sœur pour tous ces moments qu'on a passés à rire et à se chamailler. Je vous souhaite de réussir dans tout ce que vous pourrez entreprendre. Sachez que vous pourrez toujours compter sur moi, je vous aime.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS.....	4
TABLE DES MATIÈRES	5
ABRÉVIATIONS	9
FIGURES.....	12
TABLEAUX.....	15
INTRODUCTION	16
DISCUSSION.....	20
Partie I : Le devenir du médicament dans l'organisme	21
I.1. Introduction.....	21
I.2. Le processus ADME.....	21
I.2.1. Absorption	22
I.2.1.1. De la muqueuse buccale à la muqueuse intestinale	23
I.2.1.1.1. Physiologie	23
I.2.1.1.2. Étape de dissolution.....	25
I.2.1.1.3. Étape de résorption :.....	25
I.2.1.2. Biodisponibilité.....	27
I.2.1.3. Les paramètres pharmacocinétiques liées à l'absorption.....	28
I.2.1.4. Les nanoparticules dans l'absorption médicamenteuse	29
I.2.2. La Distribution.....	31
I.2.2.1. La fixation aux protéines plasmatiques	32
I.2.2.2. La fixation des nanoparticules aux protéines plasmatiques.....	33
I.2.2.3. L'irrigation sanguine	34
I.2.2.4. La diffusion tissulaire	34
I.2.2.5. Le paramètre pharmacocinétique liée à la distribution.....	35
I.2.2.6. Influence des nanoparticules dans la distribution médicamenteuse	36

I.2.3. Le Métabolisme	37
I.2.3.1. La phase de fonctionnalisation	37
I.2.3.2. La phase de conjugaison.....	39
I.2.3.3. Métabolisation des nanoparticules.....	39
I.2.4. L'élimination	40
I.2.4.1. La filtration glomérulaire.....	41
I.2.4.2. La sécrétion tubulaire	42
I.2.4.3. La réabsorption tubulaire	42
I.2.4.4. Excrétion par voie biliaire	42
I.2.4.5. Les paramètres pharmacocinétiques liés à l'élimination	43
I.2.4.6. Elimination des nanoparticules.....	44
I.3. Conclusion	44
Partie 2 : Les Nanoparticules lipidiques	47
II.1. Introduction	47
II.2. Les Liposomes.....	48
II.2.1. Compositions et Propriétés.....	49
II.2.2. Structure des liposomes.....	54
II.2.3. Méthode de préparation des liposomes	56
II.2.3.1. Hydratation en couche mince	56
II.2.3.2. Méthode d'évaporation en phase inverse	57
II.2.3.3. Méthode d'injection de solvants.....	58
II.2.3.4. Méthode d'élimination du détergent	59
II.2.4. Chargement des médicaments au sein des liposomes	60
II.2.5. Interaction des liposomes avec les cellules cibles et les systèmes de défense de l'organisme	61
II.2.5.1. Interaction des liposomes avec les cellules cibles et libération du médicament	61
II.2.5.1.1. L'adsorption	62
II.2.5.1.2. L'échange de lipides.....	62

II.2.5.1.3. La fusion.....	62
II.2.5.1.4. L'endocytose	62
II.2.5.2. Interaction des liposomes avec les systèmes de défense de l'organisme.....	63
II.2.6. Comparaison entre une formulation de médicament encapsulé dans les liposomes et une formulation de médicament sans liposomes	66
II.2.6.1 Amélioration des paramètres pharmacocinétiques.....	67
II.2.6.2. Amélioration de l'effet thérapeutique et baisse de la toxicité	69
II.2.7. Conclusion.....	75
II.3. Nanoémulsion.....	75
II.3.1. Composition et Types de nanoémulsions	76
II.3.1.1. Définition.....	76
.....	77
II.3.1.2. Type de nanoémulsions	77
II.3.1.3. Composition et intérêt des composants	78
II.3.1.3.1. Les Huiles et les Lipides	78
II.3.1.3.2. Les agents émulsifiants	78
II.3.2. Mécanisme de déstabilisation des nanoémulsions	80
II.3.2.1. Le murissement d'Ostwald.....	80
II.3.3. Méthodes de productions des nanoémulsions	82
II.3.3.1. Les méthodes à Hautes Energies	82
II.3.3.1.1. Homogénéisation à Haute Pression (HPH).....	82
II.3.3.1.2. Microfluidisation à Haute pression (MHP).....	83
II.3.3.1.3. Sonication.....	84
II.3.3.1.4. Emulsification par membrane	85
II.3.3.2. Les méthodes à basse énergies	85
II.3.3.2.1. L'émulsion spontanée (SE)	86
II.3.3.2.2. La température d'inversion de phase (PIT).....	86
II.3.4. Avantages et Inconvénient des nanoémulsions	87

II.3.5. Comparaison entre une formulation de médicament encapsulé dans les nanoémulsions et une formulation de médicament sans nanoémulsions.....	89
II.3.6. Administration et application des nanoémulsions.....	94
II.3.7. Conclusion.....	98
II.4. Les Nanoparticules Lipidiques Solides (SLN).....	99
II.4.1. Définition et Composition des SLN	100
II.4.1.1. Définition.....	100
II.4.1.2 Composition des SLN	101
II.4.1.2.1. Les Lipides solides	101
II.4.1.2.2. Les Tensioactifs.....	102
II.4.2. Incorporation du principe actif et types de SLN	102
II.4.3. Méthodes de productions des SLN.....	105
II.4.3.1. La méthode à base de microémulsion	106
II.4.3.2. La méthode à fluide supercritique	107
II.4.3.3. La méthode émulsification/évaporation de solvant.....	107
II.4.3.4. La méthode à double émulsion E/H/E.....	108
II.4.3.5. Méthode de séchage par pulvérisation	109
II.4.3.6. Méthode de coacervation.....	109
II.4.4. Avantages et inconvénients des SLN	110
II.4.5. Comparaison entre une formulation de médicament encapsulé dans les SLN et une formulation de médicament sans SLN	112
II.4.6. Administration et applications des SLN.....	120
II.4.7. Conclusion.....	124
PERSPECTIVES ET CONCLUSION.....	126
BIBLIOGRAPHIE	129
RESUME	150

ABRÉVIATIONS

ADN : Acide désoxyribonucléique

ARN : Acide ribonucléique

ARNm : Acide ribonucléique messenger

ARNsi : Petits ARN interférents

ASC ou AUC : Aire sous la courbe

BCS : Système de classification biopharmaceutiques

BHE : Barrière hémato-encéphalique

CC : Candésartan cilexétel

CCN : Nanoémulsion de candésartan cilexétel

CNC-Amb : Nanoémulsion H/E d'amphotéricine B enrobé de chitosane

C_{max} : Concentration plasmatique maximale de médicament

Cl : Clairance

CY : Cytochrome

Da : Dalton

DOPE : 1,2-Dioleoyl-snglycero-3-phosphoethanolamine

DPPC : 1,2-Dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholine

DSPC : 1,2-Distearoyl-sn-glycero-3-phosphocholine

EDTA : Acide éthylènediaminetétraacétique

EEN : Excipient à effet notoire

EGFR : Récepteur du facteur de croissance épidermique

E/H : Eau dans huile

EMF : Forme commercialisée d'éfavirenz

EPH : Effet de premier passage hépatique

EPR : Effet de perméabilité et de rétention

ES : Suspension d'éfavirenz

ESLN : Encapsulation d'éfavirenz dans les SLN

Eto : Etofomate

FDA : Food and Drug Administration

Free-Lut : Lutéloline non encapsulé dans un liposome

Free MIT : Mitoxantrone non encapsulé dans un liposome

Free SBS : Sulfate de salbutamol non encapsulé dans un liposome

GAS : Procédé gaz anti-solvant
GFT : Géfitinib
GUV : Vésicules Unilamellaire Géantes
H/E : Huile dans eau
HPH : Homogénéisation à Haute Pression
Ibu : Ibuprofène
IgG : Immunoglobulines de type G
IgM : Immunoglobulines M
INNTI : Inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse
LAM : Leucémie aigüe myéloblastique
Lipo-Lut : Lutéoline encapsulé dans un liposome
LNP : Nanoparticules à base de lipides
LUV : Grandes Vésicules Unilamellaire
MAC : Complexe Mycobactérium Avérum
MPH : Microfluidisation à haute pression
MLV : Vésicules Multilamellaire
MRT : Temps de séjour moyen
MVV : Vésicules Multivésiculaire
NET-AmB : Nanoémulsion H/E d'amphotéricine B
NLC : Supports lipidiques nanostructurés
nm : Nanomètres
OMS : Organisation mondiale de la santé
PE : Phosphatidyléthanolamine
PEG : Polyéthylène glycol
PC : Phosphatidylcholine
PIC : Composition d'inversion de phase
PIT : Température d'inversion de phase
PGSS : Particules de solution/suspensions saturées de gaz
RES : Système réticulo-endothélial
RESS : Expansion rapide des solutions
SBS : Sulfate de salbutamol
SE : Emulsification spontanée
SFEE : Extraction par fluide supercritique des émulsions
SLN : Nanoparticules lipidiques solides
SLN-Eto : SLN d'étofénamate

SLN-GFT : Géfitinib encapsulé dans une SLN

SLN-Ibu : SLN d'ibuprofène

SNC : Système nerveux central

T_m : Température de transition

T_{max} : Le temps nécessaire pour atteindre C_{max}

T_{1/2} : Temps de demi-vie

ULV : Vésicules Unilamellaire

V_d : Volume de distribution

VIH : Virus de l'immunodéficiency humaine

FIGURES

Figure 1 : Système de classification biopharmaceutique (BCS).....	18
Figure 2 : Les Principes ADME.....	22
Figure 3 : Passage du médicament de son site d'absorption vers la circulation générale	22
Figure 4 : Les étapes du principe actif pour atteindre la circulation sanguine.....	24
Figure 5 : Traverser des membranes de la barrière gastro-intestinale	25
Figure 6 : Formule de la biodisponibilité absolue.....	27
Figure 7 : Complexe médicament-protéine.....	32
Figure 8 : Représentation schématique de la barrière hémato-encéphalique.....	35
Figure 9 : Métabolisation hépatique des médicaments	37
Figure 10 : Les cytochromes P450.....	38
Figure 11 : Métabolisation de l'enalapril en enaprilat par hydrolyse	38
Figure 12 : Représentation schématique du néphron	41
Figure 13 : Représentation schématique de cycle entero-hépatique	43
Figure 14 : Graphique comparant le nombre de publication sur la nanotechnologie entre la période 1961-2000 et la période 2000-2023.....	47
Figure 15 : Formulation liposomale de doxorubicine (Doxil®)	49
Figure 16: Représentation schématique d'un phosphoglycéride	49
Figure 17 : Structure du liposome.....	50
Figure 18 : Structure du cholestérol.....	51
Figure 19 : Structure d'un liposome dans lequel du cholestérol a été incorporé.....	52
Figure 20 : Structure d'un liposome PEGylés	52
Figure 21 : Greffage de chitosan sur la barrière lipidique du liposome.....	53
Figure 22 : Variation de phase des phospholipides en fonction de la température.....	54
Figure 23 : Les différentes classes de liposomes	55
Figure 24 : Préparation de liposome par méthode d'hydratation en couche mince	56
Figure 25 : Préparation de liposome par méthode d'évaporation en phase inverse.....	57
Figure 26 : Préparation de liposome par méthode d'injection de solvants	58
Figure 27 : Préparation de liposome par méthode d'élimination de détergent.....	59
Figure 28 : Les différents types d'interactions entre le liposome et les cellules cibles.....	61
Figure 29 : Représentation schématique de la phagocytose d'un liposome par un macrophage	64

Figure 30 : Courbe représentant la concentration plasmatique en lutéoline en fonction du temps après administration d'une dose intraveineuse unique de 50 mg/kg de Free-Lut ou Lipo-Lut à des souris ...	67
Figure 31 : Activités comparatives de la gentamicine non encapsulé et de la gentamicine encapsulée dans des liposomes contre l'infection au MAC	70
Figure 32 : Comparaison de la prophylaxie par la gentamicine non encapsulée et la gentamicine encapsulée dans un liposome contre l'infection au MAC	70
Figure 33 : Comparaison de l'efficacité d'une double administration hebdomadaire de gentamicine non encapsulé dans un liposome par rapport à sa forme encapsulé sur la diminution de l'infection au MAC	71
Figure 34 : Comparaison de l'efficacité pharmacologique des traitements sur le taux de cellules leucémiques CCRF-CEM présentent dans la moelle osseuse du fémur des souris Rag 2-M	72
Figure 35 : Histopathologie des coupes transversales du fémur chez les souris Rag 2-M	73
Figure 36 : Structure d'une nanoémulsion	77
Figure 37 : Classification des émulsions simples	77
Figure 38 : Structure chimique du sefsol-218	78
Figure 39 : Les différents types de tensioactifs.....	79
Figure 40 : Schéma d'une émulsion de Pickering et d'une émulsion classique	79
Figure 41 : Représentation du mécanisme de maturation d'Ostwald.....	81
Figure 42 : Illustration du phénomène de mûrissement d'Ostwald dans une émulsion H/E.....	81
Figure 43 : Principe de fonctionnement d'un homogénéisateur à Haute Pression	83
Figure 44 : Principe de fonctionnement d'un microfluidiseur	84
Figure 45 : Principe de fonctionnement d'un homogénéisateur à ultrasons.....	84
Figure 46 : Principe de fonctionnement de l'émulsification par membrane	85
Figure 47 : Représentation schématique du mécanisme de l'émulsification spontanée.....	86
Figure 48 : Préparation de nanoémulsions par la méthode de température d'inversion de phase	87
Figure 49 : Les différentes voies d'administrations utilisables pour les nanoémulsions	89
Figure 50 : Profils de libération in vitro du CCN dans le liquide gastrique artificiel et du suc intestinal artificiel	90
Figure 51 : Perméabilité effective du CCN dans des segments intestinaux de rats comparée à celle d'une solution de CC libre	90
Figure 52 : Toxicités mitochondriales des formulations chargées en AmB et comparaison avec celles des formulations commerciales Fungizone et AmBisome contre les macrophages J774A après 24 h d'incubation	93

Figure 53 : Courbes dose-réponse in vitro de NET-AmB et CNC-AmB chargés d'AmB, Fungizone, AmBisome et NET et CNC sans AmB contre les macrophages infectés par les amastigotes de <i>L. donovani</i> et observés après 48 h d'incubation.....	93
Figure 54 : Activités antileishmaniennes in vitro (IC 50 et IC 90) de NET-AmB et CNC-AmB comparées à celles de Fungizone et AmBisome dans les macrophages infectés par les amastigotes de <i>L. donovani</i> , observées après 48 h d'incubation.....	94
Figure 55 : Amélioration de l'absorption des médicaments par nanoémulsion	96
Figure 56 : Les nombreuses applications pharmaceutiques des nanoémulsions	98
Figure 57 : Représentation schématique d'une nanoparticule lipidique solide	100
Figure 58 : Liste non exhaustive des lipides qui peuvent être utilisé dans la formulation des SLN ...	101
Figure 59 : Liste non exhaustive des tensioactifs qui peuvent être utilisé dans la formulation des SLN	102
Figure 60 : Classification de trois types de nanoparticules lipidiques solides classiques que sont la solution solide, l'enveloppe enrichie en médicament et le noyau enrichi en médicament	104
Figure 61 : Illustration schématique de nanoparticules lipidiques solides (SLN) à gauche et d'un transporteur lipidique nanostructuré (NLC) à droite.....	104
Figure 62 : Classification des trois types de transporteur lipidique nanostructuré (NLC)	105
Figure 63 : Préparation des SLN basée sur la formation d'une microémulsion	106
Figure 64 : Principe de fonctionnement de la méthode à fluide supercritique	107
Figure 65 : Principe de fonctionnement de la méthode émulsification/évaporation de solvant	108
Figure 66 : Principe de fonctionnement de la méthode à double émulsion E/H/E	108
Figure 67 : Principe de fonctionnement de la méthode de séchage par pulvérisation	109
Figure 68 : Principe de fonctionnement de la méthode de coacervation	110
Figure 69 : Résumé des avantages et des inconvénients des nanoparticules lipidiques solides (SLN) à gauche et des transporteurs lipidiques nanostructurés (NLC) à droite	112
Figure 70 : libération in vitro de médicaments par les SLN, l'ES et le EMF	114
Figure 71: Profils de concentrations plasmatiques des formulations en fonction du temps	115
Figure 72 : Inhibition de l'œdème de la patte (%), 5 h après l'injection de carraghénane dans les différents groupes testés : animaux induits non traités (contrôle négatif), gel de référence à l'étofénamate (Gel Eto Market-Reumon® Gel 5%), l'hydrogel étofénamate-SLN (Gel SLN Eto), le gel de référence ibuprofène (Gel Ibu Market-Ozonol® 5%) et l'hydrogel ibuprofène-SLN (Gel SLN Eto)	117
Figure 73 : Cytotoxicité cellulaire in vitro du GFT pur et du GFT-F4-SLN contre les cellules MCF-7	119
Figure 74 : Profils de libération in vitro de SLNs chargés de GFT	120
Figure 75 : Les différentes applications des SLN.....	124

TABLEAUX

Tableau 1 : Liste non exhaustive des facteurs qui influencent l'absorption des médicaments.	28
Tableau 2 : Liste non exhaustive des facteurs qui influencent la distribution des médicaments.....	35
Tableau 3 : Liste non exhaustive des facteurs qui influencent la métabolisation des médicaments.....	39
Tableau 4 : Liste non exhaustive des facteurs qui influencent l'élimination des médicaments.	44
Tableau 5 : Paramètre pharmacocinétique du Doxil [®] et de l'adriamycine.....	68
Tableau 6 : Paramètres pharmacocinétiques après administration orale du sulfate de salbutamol encapsulé ou non dans des liposomes	69
Tableau 7 : Efficacité antitumorale des formulations de mitoxantrone dans le modèle de tumeur ascitique L1210.	74
Tableau 8 : Epaisseur auriculaire chez les souris après 6 h de traitement	91
Tableau 9 : Concentration des cytokines TNF- α et des interleukines IL-1 α dans les tissus auriculaires des souris après 6 h de traitement	92
Tableau 10 : Concentrations plasmatiques d'alpha, gamma et delta-tocophérol (ng/mL) chez les souris 6 heures après traitement.....	92
Tableau 11: Caractérisation physique des différentes formulations d'ESLN	113
Tableau 12 : Caractérisation physique de ESLN-3 après des études de stabilité	114
Tableau 13 : Études pharmacocinétiques des formulations sélectionnées.....	115
Tableau 14 : Efficacité de piégeage des SLN-GFT	119

INTRODUCTION

L'homme n'a jamais cessé de trouver des remèdes pour soulager ou guérir de ses maux et cela depuis les temps les plus reculés. D'abord dans la nature (Papyrus d'Ebers^[1]) puis dans la chimie, l'homme a su extraire, développer, synthétiser et utiliser les principes actifs nécessaires à l'amélioration de ses fonctions physiologiques.

Le médicament, qui se compose d'un ou plusieurs principes actifs et d'un ou plusieurs excipients, est actuellement défini par l'OMS comme étant une « substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que toute substance ou composition pouvant être utilisée chez l'homme ou chez l'animal ou pouvant leur être administrée, en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique »^[2]. Ainsi, le rôle du médicament est de faire face à une pathologie permettant la guérison totale du patient ou du moins l'amélioration de l'état physiologique ou physique de celui-ci.

Cette prise en charge de la maladie repose sur l'administration d'un médicament de manière efficace au site ciblé, en minimisant la dégradation prématurée de celui-ci garantissant alors des résultats thérapeutiques optimaux et une prévention des effets secondaires nocifs liés à la prise du médicament. Cependant, les formulations conventionnelles des médicaments actuellement présents sur le marché ne permettent pas toujours de garantir la prise en charge thérapeutique d'une maladie de manière efficace. Cela est notamment dû aux nombreuses limitations que présentent ces systèmes classiques d'administration de médicaments telles qu'une faible absorption (concentration insuffisante de médicament dans le plasma en raison d'une faible perméabilité), une faible solubilité aqueuse du médicament, une faible biodisponibilité, une métabolisation et élimination rapide associées à une toxicité médicamenteuse accrue^[3]. Ce qui aboutit à une fluctuation des niveaux en médicament avec un risque accru de sous dosage associé à des effets secondaires nocifs.

Aujourd'hui on considère que plus de « 75 % des candidats-médicaments potentiels » pour une administration par voie orale, « ont une faible solubilité dans l'eau et appartiennent aux classes II et IV du système de classification biopharmaceutique »^[4](BCS) (**figure 1**). Ce système de classification permet, selon leur solubilité aqueuse et leur perméabilité intestinale de classer les composés pharmaceutiques. En le combinant avec les caractéristiques de dissolution in vitro, on prend en compte les trois facteurs prédominants dans l'absorption des formes orales solides que sont : la solubilité, la

vitesse de dissolution de la forme galénique et la perméabilité intestinale. Ainsi, la BCS met en lumière l'importance du choix de la formulation galénique dans l'administration des composés.

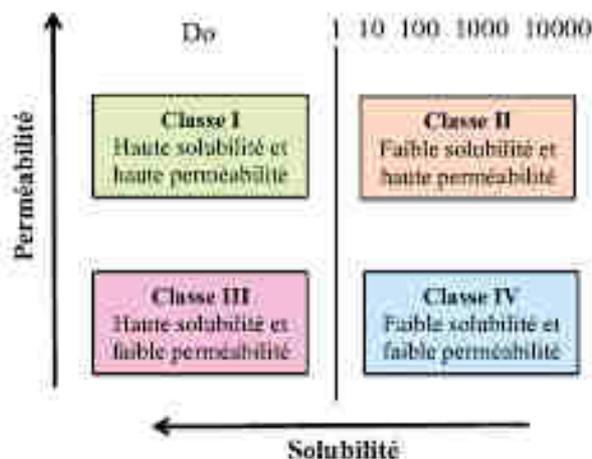


Figure 1 : Système de classification biopharmaceutique (BCS).^[5]

Afin de surmonter les problèmes mentionnés ci-dessus, le développement de systèmes de transport de médicaments appropriés s'est vu être une solution prometteuse. En effet, l'incorporation de molécules bioactives dans des supports inertes et biodégradables permet non seulement d'améliorer grandement la solubilité et la biodisponibilité de ces molécules bioactives mais surtout d'augmenter leurs efficacités thérapeutiques et d'atténuer leurs toxicités^[6]. À l'heure actuelle, il existe de nombreux systèmes de transports de molécules bioactives et un des systèmes le plus prometteur sont les nanoparticules et plus précisément les nanoparticules à base de lipides.

Véritable révolution dans le transport de molécules, les nanoparticules à base de lipides (LNP) ont su se démarquer des autres transporteurs médicamenteux de par leurs compositions, leurs biocompatibilités au système biologique humain et la facilité qu'elles ont à être modifiables. En effet, la force de ces systèmes de taille nanométriques (10 à 1000 nm) réside non seulement en tant que support médicamenteux afin d'améliorer la solubilité et donc la biodisponibilité du médicament mais aussi en tant que systèmes non toxiques pour l'homme de par leur constitution^[7].

Ce mémoire a pour objectif de montrer l'intérêt de l'utilisation des nanoparticules lipidiques dans la formulation des médicaments en réalisant un état de l'art scientifique.

Pour ce faire, nous décrirons dans un premier temps, de manière générale, le devenir du médicament dans l'organisme. Nous verrons comment le médicament est intégré dans l'organisme et les différents problèmes auxquels sont confrontées les formulations conventionnelles. Cette partie nous permettra d'introduire les nanoparticules et l'intérêt qu'elles apportent en tant que transporteur médicamenteux.

Puis dans un second temps nous nous intéresserons à un type de nanoparticules, les nanoparticules à base de lipides. Nous verrons les différentes voies d'administration auxquelles elles peuvent être administrées et nous nous focaliserons surtout sur l'avantage qu'apporte un tel système par rapport au médicament libre (qui correspond au principe actif non incorporé dans la nanoparticule à base de lipide). Et nous finirons cet état de l'art par les avancées scientifiques médicales qui pourront apporter une meilleure compréhension de ce système.

DISCUSSION

Partie I : Le devenir du médicament dans l'organisme

I.1. Introduction

Dans cette partie, nous nous intéresserons au devenir du médicament, de son absorption à son élimination. En effet, la compréhension des différents mécanismes et réactions que subit le médicament une fois administré dans l'organisme permet de mieux comprendre pourquoi les médicaments présentent une faible biodisponibilité, une métabolisation et une élimination rapide associée à une toxicité accrue. Cette connaissance des mécanismes permettra donc de développer des systèmes qui sauront faire face aux obstacles que présente l'organisme et ainsi assurer l'efficacité thérapeutique du médicament tout en atténuant considérablement sa toxicité.

Pour rappel un médicament est constitué d'un ou plusieurs principes actifs et d'un ou plusieurs d'excipient. Le principe actif correspond à la substance active du médicament qui confère à celui-ci ses propriétés curatives ou préventives. L'excipient, quant à lui, correspond à toutes les substances autres que le principe actif qui entre dans la composition d'un médicament pour permettre d'incorporer le ou les principes actifs. Ils ont pour fonction de faciliter la mise en forme et l'administration du médicament, d'améliorer l'aspect ou le goût ainsi que d'assurer la conservation de ce dernier. Les excipients doivent être bien tolérés cependant certains peuvent entraîner des intolérances individuelles, ce sont les excipients à effet notoire (EEN)^[8].

I.2. Le processus ADME

Lorsque le médicament est administré dans un organisme vivant, il va être défini par une durée de vie biologique.

La pharmacocinétique est la science qui étudie le devenir du médicament dans l'organisme^[9] et elle est primordiale afin de définir les modalités d'administration du médicament, à savoir la voie d'administration, la dose et le rythme d'administration. L'acronyme qui lui est associé est ADME et va être composé de 4 étapes (**figure 2**) :

- L'absorption

- La distribution
- Le métabolisme
- L'élimination

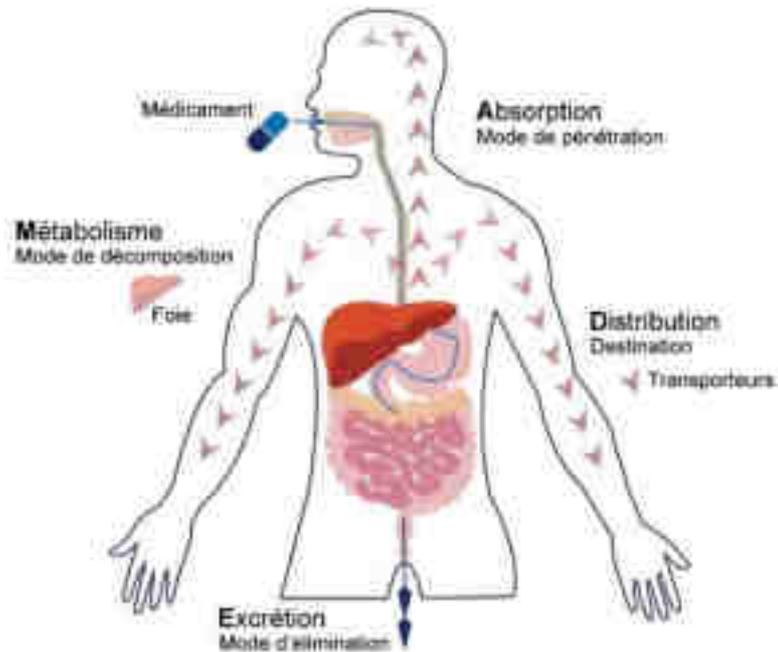


Figure 2 : Les Principes ADME. Une fois administré, le médicament va être absorbé (étape d'absorption (A)) afin d'être distribué dans l'organisme (étape de distribution (D)) puis subira une métabolisation (étape de métabolisation(M)) pour finalement être éliminé (étape d'élimination (E)).^[10]

I.2.1. Absorption

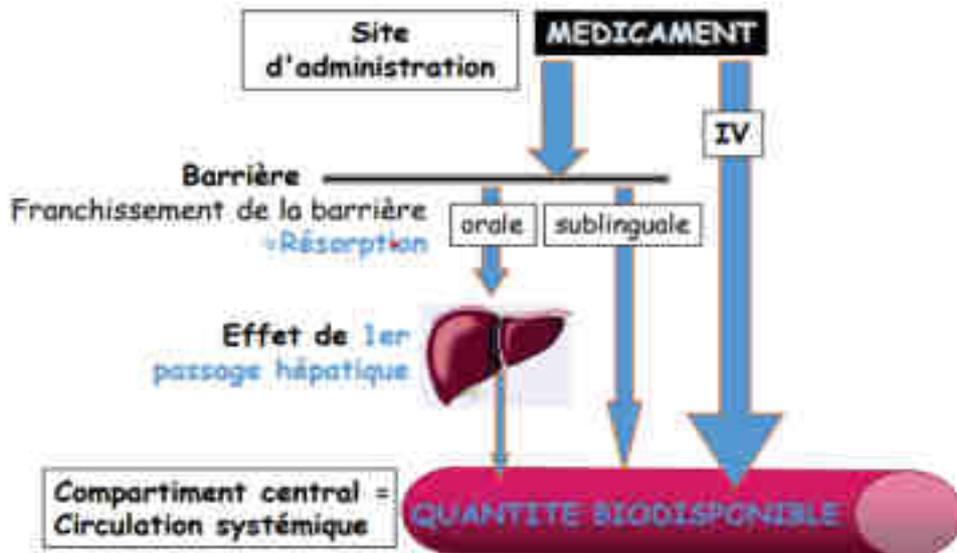


Figure 3 : Passage du médicament de son site d'absorption vers la circulation générale.^[11]

L'absorption est la première étape du devenir du médicament chez l'homme et correspond au passage du médicament de son site d'administration vers la circulation générale (**figure 3**).

Comme montré dans la figure ci-dessus le passage du médicament de son site d'administration à la circulation générale nécessite le passage au travers de nombreuses barrières physiologiques. Ce passage n'est pas aisé et à moins d'être administré par voie intraveineuse, une grande partie du médicament se voit devenir biodégradable et éliminé. L'absorption constitue donc une étape importante à prendre en compte lors de la formulation du médicament puisqu'elle va être à l'origine d'une variabilité importante de la réponse de celui-ci notamment par le biais d'interactions médicamenteuses significatives. À noter que selon la voie d'administration choisie, le médicament ne réagira pas de la même manière. En effet, à l'heure actuelle il existe de nombreuses voies d'administrations de médicaments qui présentent chacune des avantages et des inconvénients. La voie utilisée sera donc déterminée en fonction de l'effet thérapeutique recherché mais aussi par les caractéristiques physico-chimiques du médicament et physiologiques du patient.

Pour illustrer les différentes problématiques que posent les formes médicamenteuses conventionnelles et l'avantage qu'apporterait une formulation à base de nanoparticules, nous avons fait le choix de ne décrire que l'absorption par voie orale puisqu'elle concerne l'administration de la majorité des médicaments présents sur le marché. En effet, celle-ci concernent près de 70 % des médicaments et est particulièrement appréciée par le patient, de par sa facilité d'usage, et par les laboratoires puisqu'elle est généralement moins sujette au risque et moins coûteuse que les autres voies^[12].

Le médicament ingéré par voie orale va subir un nombre d'étapes importantes avant de pouvoir remplir son rôle. Ces étapes peuvent être stressantes pour la stabilité du médicament et impacter grandement son absorption. C'est ce que nous allons décrire et mettre en avant ci-dessous.

I.2.1.1. De la muqueuse buccale à la muqueuse intestinale

I.2.1.1.1. Physiologie

Après administration par voie orale, le médicament est directement mis en contact avec la muqueuse buccale qui est composée de la langue, du plancher de la langue, de la face interne des joues, des lèvres, du palais, du voile du palais et des gencives. À cet endroit on peut déjà avoir une absorption et un passage dans la circulation sanguine (**figure 4**). C'est le cas notamment des médicaments à voie sublinguale (correspond à l'absorption du médicament à travers la muqueuse située sous la langue (ex : Métopimazine)).

Le médicament traverse ensuite l'œsophage afin d'atteindre l'estomac, qui est situé avant le duodénum (lieu où commence l'absorption vers la circulation sanguine) (**figure 4**).

Au niveau de l'estomac, de nombreux paramètres peuvent fortement affecter le médicament. En effet, l'estomac de par sa forte acidité (pH situé entre 1.5 et 5 selon le moment de la journée et la prise d'un repas)^[14] et ces sécrétions gastriques peut considérablement diminuer la stabilité du médicament et diminuer son temps de présence ainsi que sa durée d'action.

Du fait de sa forte vascularisation et de sa grande surface, l'absorption des médicaments se fait principalement au niveau de l'intestin grêle (**figure 4**). Avant d'atteindre la circulation sanguine, les médicaments doivent traverser la barrière digestive. Pour ce faire, de nombreux mécanismes (que nous verrons par la suite) vont alors entrer en jeu.

Une fois la barrière digestive traversée, les médicaments atteignent le foie par la veine porte. C'est au niveau du foie qu'une partie du médicament peut être transformé par les systèmes enzymatiques des hépatocytes ce qui aboutit à une diminution considérable de la quantité de médicament initiale puisque le foie transforme ce dernier. Cette transformation est appelée l'effet de premier passage hépatique.

Le médicament est ensuite dirigé vers la circulation sanguine.

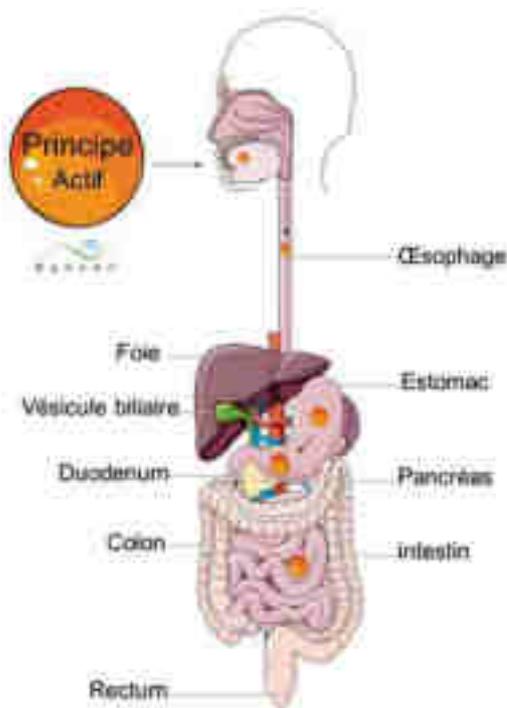


Figure 4 : Les étapes du principe actif pour atteindre la circulation sanguine.^[13]

Ainsi, l'absorption par voie orale est divisée en deux étapes que sont l'étape de dissolution et l'étape de résorption.

I.2.1.1.2. Étape de dissolution

Cette étape correspond à la dissolution de la forme solide d'une molécule en une forme résorbable pour l'organisme. Cette dissolution se fera plus ou moins rapidement en fonction de la solubilité aqueuse du médicament ainsi que de sa forme galénique. Afin d'améliorer cette dissolution, des modifications de la forme galénique du médicament peuvent se faire en amont afin de contrôler la durée de la libération du principe actif, ainsi que la vitesse de l'absorption. En effet, la modification de la formulation galénique d'un médicament va pouvoir ralentir l'absorption avec une mise en solution plus lente, et ainsi permettre de prolonger l'effet du médicament dans le temps, de réduire le nombre de prises quotidiennes et d'éviter les effets de pic de concentration [15].

I.2.1.1.3. Étape de résorption :

Comme nous l'avons énoncé ci-dessus, une fois dissout, le médicament doit traverser plusieurs membranes cellulaires semi-perméables au niveau de l'intestin avant d'atteindre la circulation générale. Ces membranes sont pour la plupart composées essentiellement d'une matrice lipidique qui détermine les caractéristiques de perméabilité. Le passage à travers cette barrière lipidique peut se faire soit par diffusion passive, soit par diffusion facilitée, soit par phénomène de transport actif [15](**figure 5**).

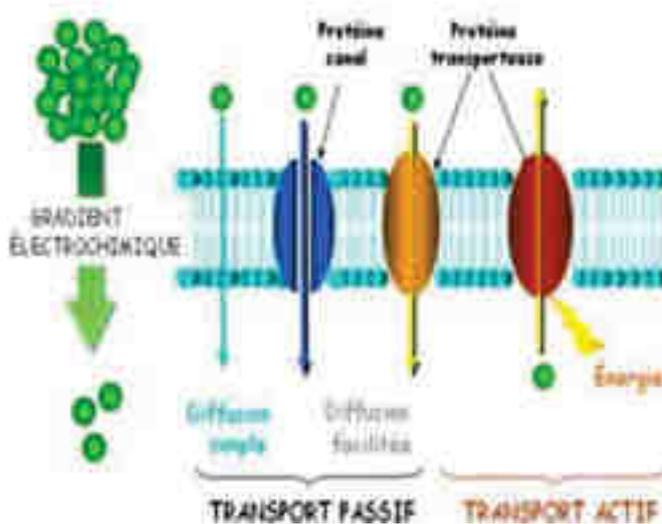


Figure 5 : Traverser des membranes de la barrière gastro-intestinale.[16]

I.2.1.1.3.a) La diffusion passive

Les médicaments vont diffuser à travers la barrière lipidique selon un gradient de concentration, d'une région de forte concentration à une région de faible concentration (**figure 5**). Cette diffusion va être régie par les caractéristiques physico-chimiques des médicaments. En effet, en fonction de sa taille, de sa liposolubilité (caractéristique importante pour le médicament administré par voie orale puisque la membrane gastro-intestinale est une membrane lipidique), de son pKa, de son degré d'ionisation et de la surface d'absorption, le médicament va diffuser plus ou moins rapidement à travers la barrière lipidique. Ainsi les médicaments liposolubles de petite taille vont diffuser plus rapidement que les médicaments hydrosolubles et de grande taille.

Les médicaments sont des acides ou des bases faibles qui en milieux aqueux vont exister sous deux formes, ionisé et non ionisé or seule la forme non ionisée va traverser la barrière lipidique. Or la concentration de la forme ionisée va dépendre du pKa du médicament ainsi que du pH du milieu. Si le pH du milieu est inférieur au pKa du médicament, alors c'est la forme non ionisée d'un acide faible et la forme ionisée d'une base faible qui va prédominer. En revanche si le pH du milieu est supérieur au pKa du médicament, c'est la forme non ionisée de la base faible et la forme ionisée d'un acide faible qui va prédominer. Cela veut dire que les médicaments acides faibles seront majoritairement absorbés au niveau de l'estomac (forme non ionisée due au pH faible de l'estomac), favorisant donc la diffusion à travers la muqueuse gastrique. Quant à eux, les médicaments à base faible seront absorbés dans l'intestin où le pH plus basique de celui-ci favorise la forme non ionisée des bases faibles.

1.2.1.1.3.b) diffusion facilitée

La diffusion facilitée correspond au passage spontané des médicament selon un gradient de concentration, au travers des membranes à l'aide d'une molécule de transport, la perméase. Ce processus ne consomme pas d'énergie. C'est le mécanisme utilisé pour les médicaments peu solubles dans les lipides et trop gros pour passer par diffusion passive.

1.2.1.1.3.c) Le Transport actif

Le transport actif correspond au passage du médicament à travers la membrane gastro-intestinale contre le gradient de concentration. Pour ce faire, le médicament forme un complexe avec un transporteur membranaire ce qui va lui permettre de passer à travers la membrane lipidique en consommant de l'énergie. Ce type de mécanisme possède plusieurs désavantages tels que le fait qu'il soit saturable, spécifique et subit des phénomènes de compétition. Cela a pour conséquence d'être à l'origine d'une variation plus ou moins importante de la quantité de médicaments absorbée.

I.2.1.2. Biodisponibilité

Pour rappel, la biodisponibilité est un paramètre essentiel de l'absorption puisqu'elle correspond à la fraction du médicament qui atteint la circulation sanguine sans subir de métabolisation et sa vitesse d'accession à la circulation générale^[17]. Cela revient à dire qu'elle est égale au rapport F « entre la comparaison de l'aire sous la courbe de la concentration plasmatique du médicament en fonction du temps (ASC ou AUC en anglais pour « Area Under Curve ») pour la formulation extravasculaire et l'ASC pour la formulation intravasculaire »^[18](**figure 6**). La biodisponibilité va donc varier entre 0 et 100 %.

À noter que seule la voie intraveineuse offre une biodisponibilité égale à 100 % puisqu'il y a pénétration directe du médicament dans le sang évitant ainsi l'effet de premier passage hépatique et gastrique.

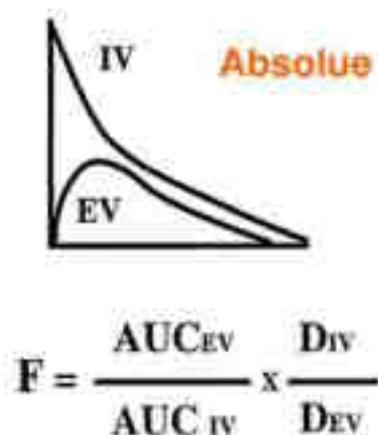


Figure 6 : Formule de la biodisponibilité absolue. F correspond à la fraction de la dose administrée qui atteint la circulation générale. AUC_{EV} correspond à l'aire sous la courbe du médicament injecté par voie extravasculaire. AUC_{IV} correspond à l'aire sous la courbe du médicament injecté par voie intraveineuse. D_{IV} correspond à la dose de médicament réellement administré par voie intraveineuse. D_{EV} correspond à la dose de médicament réellement administré par voie extravasculaire.^[17]

Lorsque l'on parle de biodisponibilité, on peut aussi bien faire référence à la biodisponibilité absolue, qui comme nous l'avons vu correspond au pourcentage de la dose administré qui atteint la circulation générale, qu'à la biodisponibilité relative qui elle implique la comparaison de deux formulations.

Dans ce deuxième cas, l'objectif sera de comparer deux biodisponibilités en vue de choisir la modalité d'administration par exemple^[19].

I.2.1.3. Les paramètres pharmacocinétiques liées à l'absorption

Afin de déterminer si un médicament présente ou non une bonne absorption, nous devons nous intéresser à deux facteurs principaux qui sont :

- La quantité du médicament sous forme inchangée qui arrive dans la circulation générale
- La vitesse à laquelle il arrive dans la circulation générale soit la vitesse d'absorption

Ces deux facteurs vont être déterminés par trois paramètres pharmacocinétiques :

- La concentration plasmatique maximale de médicament (C_{max})
- Le temps nécessaire pour atteindre C_{max} (T_{max})
- Aire sous la courbe (ASC)

La C_{max} et le T_{max} reflètent la vitesse d'absorption tandis que l'ASC reflète quant à elle la quantité du médicament sous forme inchangée qui arrive dans la circulation générale c'est-à-dire la biodisponibilité. Ainsi, afin d'améliorer la quantité du médicament qui va être absorbé, il est essentiel de prendre en compte les paramètres physico-chimiques du médicament mais également les paramètres externes (**tableau 1**).

Tableau 1 : Liste non exhaustive des facteurs qui influencent l'absorption des médicaments.

Facteurs liés aux médicaments	Facteurs liés au terrain	Facteurs liés à la forme galénique et à la voie d'administration
Hydrosolubilité, pKa et pH, poids moléculaire, taille, liposolubilité, stabilité en milieu acide	Âge, pathologies associées, EPH, effet de premier passage intestinale, polymorphisme génétique, le pH gastrique et intestinal, la vitesse de vidange gastrique, la surface du site de résorption, prise associée de médicaments, la présence d'aliments dans le tube digestif	Vitesse de libération, vitesse de dissolution, passage ou non par le foie, passage ou non par l'estomac

I.2.1.4. Les nanoparticules dans l'absorption médicamenteuse

La quantité de médicaments absorbés par voie orale va alors dépendre de plusieurs facteurs. En effet, pour être absorbés par voie orale les médicaments doivent être assez lipophiles pour passer au travers de la matrice lipidique et assez hydrosolubles pour être dissous de manière optimale. Le non-respect de ces deux critères peut amener le médicament à avoir une présence insuffisamment longue dans le tube digestif, ce qui peut aboutir à une variation de la biodisponibilité du médicament.

Cependant les propriétés physico-chimiques du médicament ne sont pas la seule source de variation de la biodisponibilité du médicament. Comme nous l'avons vu, une fois la membrane gastro-intestinale traversée, les médicaments vont être dirigés vers le foie (où ils vont subir l'EPH) par la circulation portale avant d'atteindre la circulation générale. Ainsi, une quantité importante de médicaments peut être métabolisée avant d'atteindre la circulation générale. La présence d'aliments et/ou d'autres médicaments dans le tube digestif peuvent également modifier la quantité de médicaments.^[14]

Finalement, le patient lui-même est une source de variation de la biodisponibilité du médicament. En effet, son âge, son sexe, ses activités physiques, ses facteurs génétiques, son stress et ses pathologies sont des facteurs qui peuvent modifier le pH gastrique et donc la biodisponibilité du médicament.

Devant toutes ces problématiques, le choix d'une formulation adéquate est primordial afin de permettre au médicament de jouer son rôle. Les nanoparticules se sont vues être une formulation intéressante. En effet, ces dernières peuvent favoriser le passage du médicament de son site d'administration à la circulation sanguine^[20]. De plus, combinées à des formulations entérosolubles, la traversée de l'estomac peut être réalisée sans dégradation des médicaments pH-sensibles^[21].

Pour ce faire, différentes modifications structurelles doivent être apportées aux nanoparticules telles que :

- L'ajout d'un revêtement de protection^[22] : Elles peuvent être recouvertes de couches protectrices qui les isolent de l'environnement acide de l'estomac. Ces revêtements peuvent être composés de matériaux spécifiques qui ne réagissent pas (ou sont insolubles) avec un pH gastrique, tels que des polymères résistants à l'acidité ou des lipides stables. Ces couches empêchent directement l'acide de réagir avec la surface des nanoparticules ce qui améliore la stabilité chimique. Par exemple, des nanoparticules composées de métaux nobles comme l'or^[23] ou des

oxydes métalliques résistants à la corrosion peuvent conserver leur structure même en présence d'acide^[24].

- Le choix des matériaux de fabrications : Les matériaux utilisés pour fabriquer les nanoparticules peuvent être conçus pour avoir une résistance alimentée à l'acidité. Par exemple, certains matériaux polymères ou composites peuvent être développés pour résister aux conditions acides sans subir de dégradation significative^[24].

Concernant la résorption au niveau intestinal, la taille réduite des nanoparticules^[25] est un avantage crucial qui facilite leur passage à travers la muqueuse intestinale, ce qui leur permet de pénétrer dans la circulation sanguine ou d'atteindre d'autres tissus cibles. Ce processus implique plusieurs mécanismes et facteurs, et il est important de noter que la traversée de la muqueuse intestinale par les nanoparticules peut être complexe et dépendant de multiples facteurs^[26] :

- Diffusion passive : De par leurs petites tailles elles peuvent traverser la paroi intestinale à travers les espaces intercellulaires.
- Transport actif : La présence de ligands spécifiques sur les nanoparticules peut faciliter leur liaison aux transporteurs actifs ou sur des tissus cibles qui surexpriment le récepteur associé au ligand, ce qui améliore leur absorption et ainsi délivrer de manière plus efficace le médicament encapsulé.
- Endocytose : Les nanoparticules peuvent être internalisées par les cellules épithéliales de la muqueuse intestinale par un processus appelé endocytose. Cela implique que les cellules enveloppent les nanoparticules dans des vésicules pour les incorporer à l'intérieur de la cellule. Une fois à l'intérieur, les nanoparticules peuvent être transportées à travers la cellule et finalement relâchées de l'autre côté de la barrière intestinale.
- Paracellulaire : Les espaces entre les cellules épithéliales de la muqueuse intestinale permettent également un passage direct des nanoparticules, c'est ce qu'on appelle le passage paracellulaire. Les nanoparticules peuvent glisser entre les jonctions serrées entre les cellules, en utilisant des mécanismes tels que la diffusion ou la convection, pour passer d'un côté à l'autre.

- Interaction avec les muqueuses : Les nanoparticules peuvent interagir avec les glycoprotéines et les mucines présentes à la surface de la muqueuse intestinale. Ces interactions peuvent faciliter l'adhésion des nanoparticules à la muqueuse et éventuellement favoriser leur passage à travers celle-ci.
- Taille et forme : La taille et la forme des nanoparticules peuvent influencer leur capacité à traverser la muqueuse intestinale. Les nanoparticules de petites tailles ont plus de chances de passer à travers les espaces entre les cellules, tandis que certaines formes spécifiques peuvent favoriser leur internalisation par endocytose.

Il est ainsi important de noter que la résistance des nanoparticules à l'acidité gastrique ainsi que la traversée de la muqueuse intestinale par ces dernières vont donc varier en fonction de nombreux facteurs, tels que leur composition, leur taille, leur structure, les facteurs biologiques, physiologiques et environnementaux. Tous ces facteurs jouent un rôle crucial dans ces processus, et des approches de conception complexes sont nécessaires pour maximiser le potentiel thérapeutique des nanoparticules.

En résumé, les propriétés uniques des nanoparticules en termes de taille, de surface spécifique, de solubilité et de fonctionnalisation, associé à une composition contrôlée, permettent d'améliorer la biodisponibilité des composés, en favorisant leur absorption, leur ciblage spécifique et leur protection contre la dégradation prématurée.

I.2.2. La Distribution

Après avoir été résorbé, le médicament atteint la circulation générale qui va jouer le rôle de transporteur afin de distribuer le médicament aux différents tissus et atteindre les organes cibles. La distribution correspond donc aux processus de répartition du médicament dans l'ensemble des tissus et organes et va être définie par son volume de distribution.

Comme lors de la phase d'absorption, le principe actif doit franchir des membranes cellulaires afin d'être distribué au niveau tissulaire. Des mécanismes de diffusion passive et de transport actif sont donc impliqués, ce qui peut modifier la distribution et donc être considéré comme étant des facteurs limitants.

À noter que l'étape de distribution du médicament est une étape réversible^[27] ce qui veut dire qu'un médicament pourra aussi bien passer du sang aux tissus que des tissus au sang.

I.2.2.1. La fixation aux protéines plasmatiques

Comme expliqué ci-dessus, une fois présent dans la circulation sanguine, les médicaments vont être distribués aux tissus à l'aide du sang qui joue le rôle de véhicule de transport. Les médicaments vont alors exister sous deux formes : la forme libre et la forme liée.

La forme libre correspond à la fraction du médicament qui est dissoute dans le plasma et dépend donc des caractéristiques physico-chimiques du médicament puisque seul une bonne solubilité aqueuse permet au médicament d'être dissous dans le plasma. Le plasma étant un milieu aqueux.

Dans le plasma, la partie liquide du sang, de nombreuses protéines circulantes sont susceptibles de fixer les médicaments, ce sont les protéines plasmatiques. Celles qui sont impliquées dans la fixation des médicaments sont les suivantes : l'albumine, l' α_1 glycoprotéine acide, les lipoprotéines et la γ globuline^[28].

À noter que les deux principales protéines impliquées dans la fixation des médicaments sont l'albumine (impliquée dans la fixation des médicaments acides solubles) et l' α_1 glycoprotéine acide (impliquée dans la fixation des médicaments basiques)^[28].

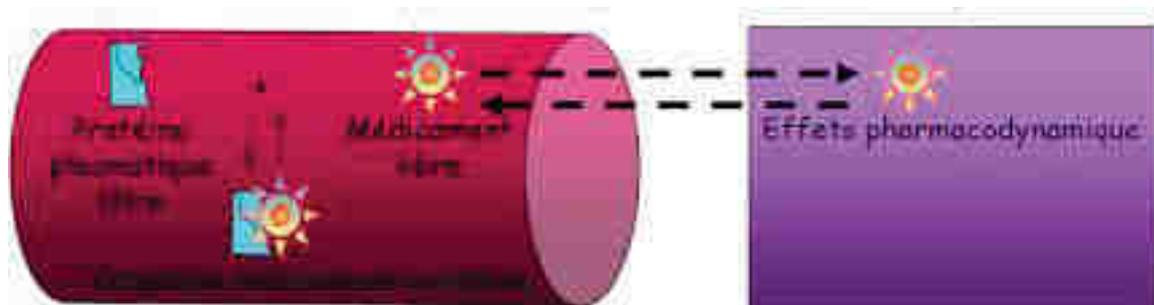


Figure 7 : Complexe médicament-protéine.^[29]

Ces protéines vont donc former un complexe « protéine plasmatique-médicament »^[27] (**figure 7**), ce qui va différencier les médicaments sous forme libre de ceux sous forme liée et ainsi représenter un équilibre entre les formes liées et les formes libres réversibles. À noter que la fixation des médicaments par les protéines est un processus réversible (liaison covalente, ionique, hydrogène et forces de Van der Waals)^[30].

Il est important de bien comprendre que seule la forme libre est active pharmacologiquement et donc diffusable aux tissus. Cependant, elle est soumise au processus de métabolisation et donc d'élimination

ce qui signifie qu'au fur et à mesure que la proportion de forme libre diminue il y a un passage de la forme liée à la forme libre afin de garantir de manière optimale le processus de diffusion et donc l'effet thérapeutique. Ce passage de la forme liée à la forme libre n'est permis que par le fait qu'il existe un équilibre réversible entre les deux types de formes du médicament. La forme liée constitue donc une sorte de réserve provisoire pour réapprovisionner le stock de forme libre.

Cette liaison des médicaments aux protéines plasmatiques va dépendre des caractéristiques physicochimiques du médicament. En effet, tous les médicaments ne vont pas se fixer de la même manière aux protéines plasmatiques cela va dépendre de leur taille, de leur poids moléculaire, de leur état d'ionisation, de leur hydrosolubilité, de leur lipophilie, de leur concentration sous forme libre. En effet, plus la concentration plasmatique du médicament sous forme libre est élevée et plus sa diffusion tissulaire sera importante.

Ainsi, toutes les caractéristiques physicochimiques du médicament font de la fixation aux protéines plasmatiques un des facteurs limitant de la distribution tissulaire.

I.2.2.2. La fixation des nanoparticules aux protéines plasmatiques

Lorsque les nanoparticules sont introduites dans un environnement biologique, comme le corps humain, elles peuvent interagir avec les composants biologiques, tels que les protéines plasmatiques. Comme nous l'avons vu, les protéines plasmatiques sont des protéines présentes dans le plasma sanguin et jouent un rôle essentiel dans le transport de molécules diverses, la régulation de la pression osmotique, la défense immunitaire.

Les nanoparticules peuvent se lier aux protéines plasmatiques de différentes manières. Une interaction courante est l'adsorption^[31], où les protéines se lient à la surface des nanoparticules (en raison des forces électrostatiques, des interactions hydrophobes). Cette adsorption de protéines à la surface des nanoparticules peut modifier les propriétés des nanoparticules, comme leur stabilité en solution, leur biodistribution et leur reconnaissance par les cellules du système immunitaire. Cependant il faut être vigilant puisque le système immunitaire peut reconnaître ces structures modifiées comme étrangères et déclencher ainsi une réponse immunitaire.

Lorsque les nanoparticules se lient aux protéines plasmatiques, elles forment généralement ce qu'on appelle une « couronne protéique »^[32]. Cette couronne protéique peut influencer la manière dont les

nanoparticules sont reconnues et traitées par le système immunitaire, ainsi que leur interaction avec les cellules cibles.

Ces interactions entre les nanoparticules et les protéines plasmatiques ont des implications importantes pour les applications biomédicales, car elles peuvent influencer la distribution, la biodégradation et la sécurité des nanoparticules utilisées à des fins thérapeutiques ou diagnostiques. Comprendre comment les nanoparticules interagissent avec les protéines plasmatiques est donc crucial pour évaluer leur efficacité et leur innocuité dans diverses applications.

I.2.2.3. L'irrigation sanguine

Tout comme la fixation aux protéines plasmatiques, l'irrigation sanguine est un facteur limitant la distribution tissulaire des médicaments.

En effet, tous les tissus ne vont bien évidemment pas être irrigués de la même manière. Nous savons que les tissus du cœur, du rein, du foie, du cerveau, des glandes endocrines ou du poumon vont être plus richement vascularisés que ceux de la peau, des muscles. Les tissus adipeux des os, des dents, des ongles et des ligaments sont quant à eux considérés comme étant les tissus les plus faiblement vascularisés^[33]. Cela signifie que les tissus richement vascularisés reçoivent une plus grande quantité de médicaments que les tissus faiblement vascularisés.

I.2.2.4. La diffusion tissulaire

Le dernier facteur limitant de la distribution tissulaire des médicaments est la diffusion tissulaire. En effet, pour diffuser dans les différents tissus, le médicament doit passer les membranes plasmiques et donc être compatible avec celles-ci. La structure de nombreux organes constitue une véritable barrière pour les médicaments et diminue considérablement leur diffusion.

Le meilleur exemple est celui de la barrière hémato-encéphalique (BHE). En effet, celle-ci est constituée d'un ensemble de cellules endothéliales très serrées et d'astrocytes particulièrement riches en lipides entourant les neurones et les vaisseaux sans laisser de place au liquide interstitiel rendant la diffusion dans le système nerveux central (SNC) difficile^[34] (**figure 8**).

Cette structure complexe rendant particulière difficile la distribution tissulaire ne laisse place qu'aux médicaments extrêmement lipophiles principalement sous forme de solution injectable.



Figure 8 : Représentation schématique de la barrière hémato-encéphalique.^[35]

Pour conclure, la distribution tissulaire des médicaments est inégale compte tenu du fait qu'il existe des différences en termes de fixations aux protéines plasmatiques, d'irrigation sanguine, de pH local et de la perméabilité des membranes cellulaires (**tableau 2**). En effet, la vitesse à laquelle le médicament pénètre dans les tissus va dépendre du débit sanguin irriguant le tissu, du volume tissulaire et de la répartition du médicament entre le sang et le tissu.

Tableau 2 : Liste non exhaustive des facteurs qui influencent la distribution des médicaments

Facteurs liés aux médicaments	Facteurs liés aux tissus ou aux organes
Taille et poids moléculaire, état d'ionisation, hydrosolubilité, lipophilie, concentration sous forme libre, son affinité pour un tissu, sa fixation aux protéines plasmatiques	Structure des capillaires, composition, flux sanguin irriguant, présence de transporteurs, présence d'une barrière à franchir

I.2.2.5. Le paramètre pharmacocinétique liée à la distribution

La distribution des médicaments aux tissus et aux organes est résumée par cette notion qu'est le volume de distribution (Vd). Elle correspond aux « volume théorique de liquide dans lequel la totalité du médicament administré devrait être diluée pour obtenir une concentration plasmatique donnée »^[36]. Ainsi elle est déterminée au divisant la quantité de médicaments administrés par la concentration plasmatique :

$$Vd = \text{Quantité dans l'organisme} / \text{Concentration dans le plasma}$$

I.2.2.6. Influence des nanoparticules dans la distribution médicamenteuse

Les nanoparticules offrent un potentiel considérable pour améliorer la distribution des médicaments dans l'organisme. Leur taille nanométrique et leurs propriétés de surface modifiables leur permettent de surmonter certains défis ce qui peut conduire à une meilleure efficacité thérapeutique et à une réduction des effets secondaires indésirables^[37].

En effet, les nanoparticules peuvent être fonctionnalisées avec des ligands spécifiques (comme des anticorps^[38], des peptides^[39] ou des aptamères^[262]) qui ciblent les récepteurs exprimés à la surface de certaines cellules ou tissus. Cela permet de diriger les médicaments directement vers les zones où ils sont nécessaires, limitant ainsi les effets secondaires et améliorant l'efficacité thérapeutique. C'est notamment le cas dans les tumeurs et dans certains tissus inflammatoires où les nanoparticules vont profiter de l'effet de perméabilité et de rétention améliorées^[40] afin de s'accumuler passivement dans les tissus tumoraux. Les vaisseaux sanguins qui alimentent ces régions présentent une perméabilité accrue en raison de l'activité pathologique^[41], ce qui permet aux nanoparticules de pénétrer plus facilement dans les tissus cibles. Une fois à l'intérieur, les nanoparticules peuvent s'accumuler davantage en raison de l'absence de drainage lymphatique efficace et être libérées lentement, améliorant ainsi l'efficacité de la thérapie.

Comme nous l'avons déjà mentionné plusieurs fois dans ce mémoire, de nombreux médicaments thérapeutiques ont des propriétés hydrophobes ce qui rend leur distribution difficile. Les nanoparticules, en particulier les nanoparticules lipophiles, peuvent encapsuler ces médicaments insolubles, les protégeant ainsi dans la circulation sanguine et facilitant leur transport vers les sites d'actions. À noter que des nanoparticules bien conçues peuvent offrir une distribution plus uniforme des médicaments dans les tissus cibles, entraînant ainsi la concentration excessive dans certaines zones et la sous-distribution dans d'autres.

Les nanoparticules peuvent être fonctionnalisés de telle sorte à contourner les problèmes de distribution tissulaire engendrés par la constitution de certaines barrières biologiques, telles que la barrière hémato-encéphalique^[42], permettant ainsi la délivrance de médicaments au cerveau^[43] ou à d'autres zones difficilement accessibles.

En résumé, les nanoparticules offrent une plateforme polyvalente pour améliorer la distribution des médicaments dans l'organisme en surmontant plusieurs limitations des méthodes d'administrations

traditionnelles. Cependant, il est essentiel de mener des recherches approfondies pour évaluer leur sécurité, leur efficacité et leur comportement à long terme dans le corps humain avant de les utiliser à grande échelle dans des applications médicales.

I.2.3. Le Métabolisme

Le métabolisme correspond à la transformation enzymatique irréversible d'un médicament en un ou plusieurs métabolites, augmentant ainsi son hydrosolubilité, afin de favoriser son élimination au niveau rénal ou au niveau biliaire^[45](**figure 9**). Cette transformation, plus communément appelée biotransformation, se fait principalement dans le foie. Cependant, il existe également un métabolisme intestinal, rénal ou pulmonaire.

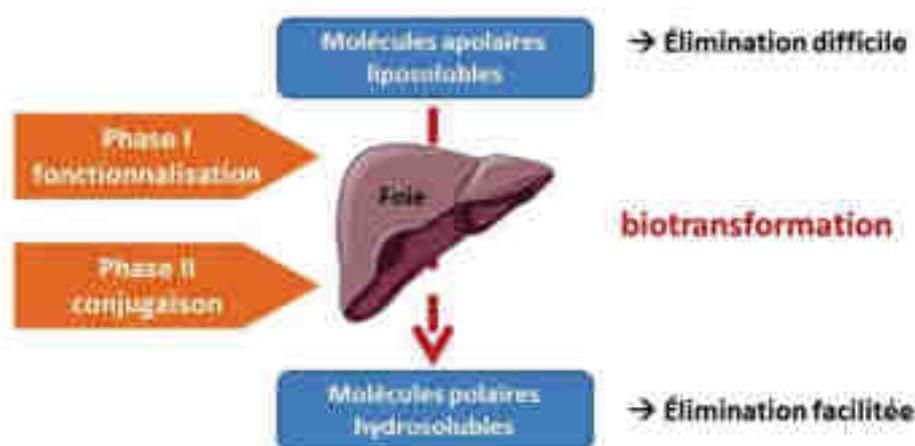


Figure 9 : Métabolisation hépatique des médicaments.^[44]

Chaque métabolite formé va alors avoir ses propres caractéristiques physico-chimiques, pharmacocinétiques et pharmacodynamiques. Il peut être pharmacologiquement inactif, plus actif ou moins actif que le médicament. De plus, sa toxicité va également changer en le rendant plus ou moins toxique que le médicament. Cependant, comme il s'agit d'un processus détoxifiant, en général les métabolites formés sont moins actifs et moins toxiques que le médicament.

La transformation du médicament en métabolite va passer par deux phases : la phase de fonctionnalisation et la phase de conjugaison.

I.2.3.1. La phase de fonctionnalisation

Première phase de la biotransformation des médicaments, la fonctionnalisation également appelée réaction de phase 1 va être médiée par des hémoprotéines, les cytochromes (CY) P450 (**figure 10**).

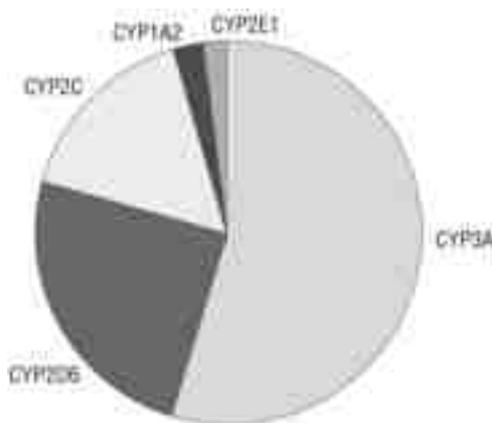


Figure 10 : Les cytochromes P450.^[46]

Les trois cytochromes P450 hépatiques suivants sont importants dans le métabolisme des médicaments: le CYP 3A4, le CYP 2D6 et le CYP 2C9^[47].

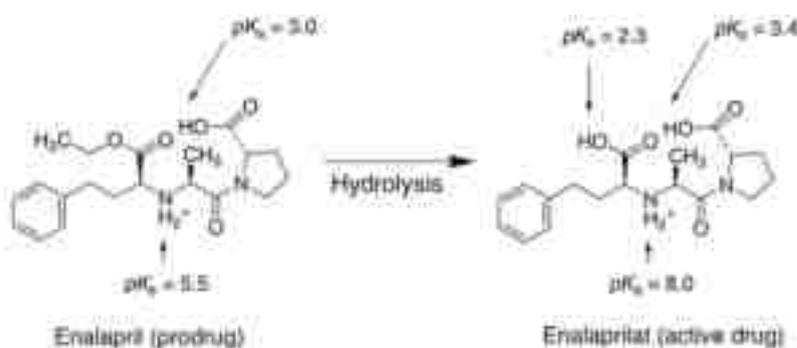


Figure 11 : Métabolisation de l'enalapril (prodrug) en enalaprilat (forme active) par hydrolyse.^[48]

Ces cytochromes permettent de modifier le médicament en métabolites inactifs, actifs ou toxiques par des réactions d'oxydations, d'hydroxylations, de désalkylations et de désaminations. En effet, la majorité des biotransformations ont pour but de transformer les médicaments en des métabolites moins toxiques ou moins actifs, cependant dans certains cas, la biotransformation du médicament peut engendrer des métabolites encore plus actifs ou toxiques que le médicament lui-même. On appelle prodrug, un médicament inactif qui après biotransformation devient actif (**figure 11**).

Les cytochromes sont une grande famille d'iso enzyme qui sont majoritairement présent dans le foie mais qui est également présent au niveau intestinal (CYP3A4)^[47].

Les cytochromes peuvent être induits ou inhibés ce qui va se traduire par des variations dans le métabolisme des médicaments. En effet, lorsque qu'il y a une induction des CYP P450, on aura une accélération du métabolisme des médicaments ce qui va se traduire par une diminution des effets des

métabolites inactifs et une augmentation des effets ou de la toxicité des métabolites actifs. Inversement, si les CYP450 sont inhibés on aura une diminution du métabolisme des médicaments qui va se traduire par une augmentation des effets thérapeutiques ou toxiques de molécules actives avant biotransformation ou une diminution des effets pour les molécules prodrug.

I.2.3.2. La phase de conjugaison

Cette deuxième phase va consister à obtenir des métabolites hydrosolubles afin qu'ils soient éliminés par le rein. Pour ce faire, les réactions de conjugaison vont être médiées par des enzymes cytosoliques présentes au niveau du foie, des poumons et du rein. Il existe quatre réactions de conjugaison : la glucuroconjugaison (acide glucuronique), la sulfoconjugaison (sulfate), la glycoconjugaison (glycine) et ceux avec des radicaux libres^[49].

Tout comme l'absorption et la distribution, le métabolisme des médicaments peut être impacté par plusieurs facteurs physio-pathologiques tels que l'alimentation, l'insuffisance hépatique, l'insuffisance rénale ou même la grossesse (**tableau 3**).

Tableau 3 : Liste non exhaustive des facteurs qui influencent la métabolisation des médicaments.

Facteurs liés aux médicaments	Facteurs liés au terrain
Taille et poids moléculaire, état d'ionisation, hydrosolubilité, lipophilie, concentration sous forme libre	Flux sanguin hépatique, pathologies hépatiques, polymorphisme génétique, état nutritionnel, induction ou inhibition des enzymes du CYP450, compétition médicamenteuse.

Ainsi, de manière générale, les différentes phases que constitue le métabolisme contribuent à rendre les médicaments moins actifs ou moins toxiques et plus hydrosolubles afin d'être facilement éliminés par le rein. À noter que certains médicaments ne subissent pas de biotransformations, ils sont alors éliminés principalement par forme inchangée.

I.2.3.3. Métabolisation des nanoparticules

En règle générale, les nanoparticules vont subir les mêmes étapes de métabolisation que celle que nous avons décrite pour le médicament conventionnel. En effet, une fois dégradées par les enzymes présentes

dans le foie et dans d'autres organes, les composants des nanoparticules (lipides, tensioactif, polymères etc.) vont se décomposer en métabolites ce qui va altérer leurs propriétés telles que leur taille, leur structure et leur capacité à transporter des médicaments ou d'autres substances.

Cependant, il est possible de modifier la surface des nanoparticules avec des groupes chimiques spécifiques afin de ralentir la dégradation enzymatique, ce qui peut prolonger leur circulation dans le corps et donc augmenter leur durée d'action.

De même, en manipulant soigneusement la taille et la composition des nanoparticules, il est possible de prolonger leur circulation dans le système sanguin^[37]. Les nanoparticules de taille nanométrique peuvent échapper à une élimination rapide par le foie, ce qui leur donne plus de temps pour atteindre les tissus cibles.

De plus, en ajustant la charge électrique ou la polarité des nanoparticules, on peut influencer leur interaction avec les protéines plasmatiques et les cellules du système immunitaire, ce qui peut également affecter leur dégradation hépatique.

Il est important de noter que la conception de nanoparticules pour limiter la métabolisation hépatique est un défi complexe et nécessite une compréhension approfondie de la physiologie et de la pharmacocinétique. Des études approfondies sur la sécurité, la biodistribution et la libération sont essentielles pour garantir que les nanoparticules conçues de cette manière n'ont pas d'effets indésirables sur l'organisme. En effet, il ne faut pas oublier, que la décomposition des nanoparticules en métabolites est une étape importante pour éliminer ces particules du corps et maintenir l'homéostasie. Ainsi, nous pouvons modifier la structure des nanoparticules afin de prolonger leur durée d'action mais il faut également faire en sorte qu'elles soient, à une étape donnée, métabolisable.

I.2.4. L'élimination

L'élimination est la dernière étape du devenir du médicament dans l'organisme. Elle permet l'élimination des médicaments sous forme inchangée et des métabolites hydrosolubles qui sont le plus souvent inactifs après les biotransformations subissent lors de leur passage dans le foie. Les médicaments vont emprunter les mêmes voies d'excrétion que celles utilisées physiologiquement par l'organisme pour se débarrasser des autres toxines et déchets métaboliques^[50].

L'élimination rénale va se faire au niveau du néphron (**figure 12**), unité principale du rein, où des phénomènes de filtration glomérulaire (diffusion passive), de sécrétion tubulaire (transport actif) et de

réabsorption tubulaire vont avoir lieu afin d'éliminer les médicaments ainsi que les métabolites hydrosolubles.

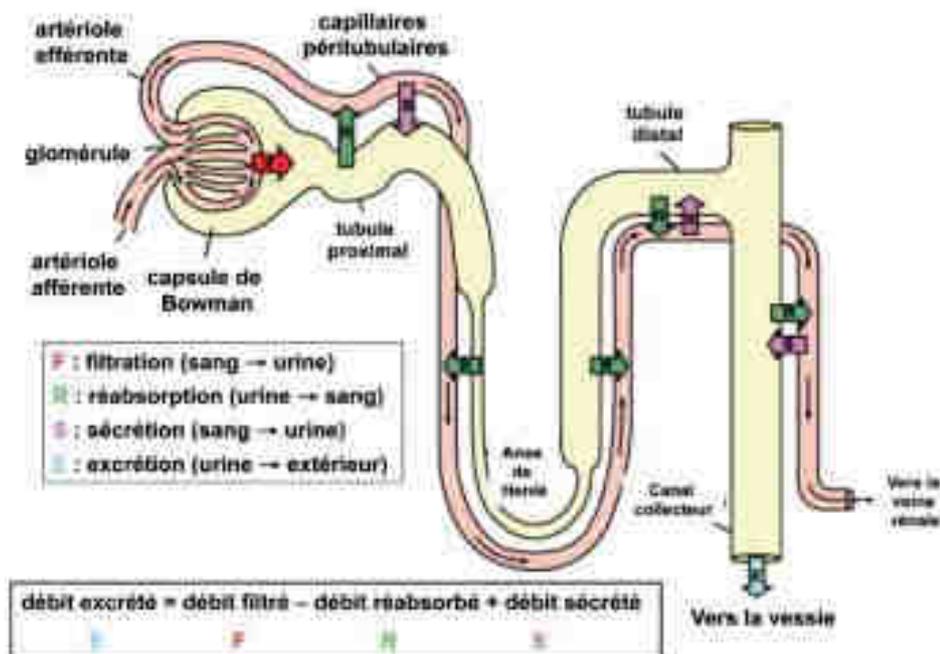


Figure 12 : Représentation schématique du néphron.^[51]

I.2.4.1. La filtration glomérulaire

Le plasma contenant les médicaments et les métabolites va arriver au niveau du glomérule et va être filtré au travers des pores de l'endothélium glomérulaire ce qui va induire la formation d'urine primitive. Ce passage au travers des pores de l'endothélium glomérulaire se fait par diffusion passive.

Cette filtration au niveau des glomérules va être médiée par la clairance rénale qui correspond au volume de plasma épuré par unité de temps par le rein et donc de la capacité du rein à éliminer les médicaments.

Elle va également dépendre de la taille de la molécule (les médicaments dont la taille est supérieure à 65000 Da ne pourront pas être éliminés par filtration glomérulaire) et du pourcentage de fixation des médicaments aux protéines plasmatiques (les médicaments qui ont un pourcentage de fixation aux protéines plasmatique trop important seront moins éliminés par filtration glomérulaire puisque la part de fraction libre sera trop faible).

Ainsi, seules les molécules suffisamment lipophiles, apolaires, de taille ne dépassant pas 65000 Da (dalton) et avec un pourcentage de fixations aux protéines plasmatiques faibles pourront être excrétées par filtration glomérulaire.

I.2.4.2. La sécrétion tubulaire

Les médicaments peuvent être éliminés dans l'urine par sécrétion tubulaire. Les médicaments vont être transportés du liquide pérیتubulaire au liquide tubulaire au niveau tube contourné proximal. En effet, les médicaments sont captés au niveau de la membrane baso-latérale et sécrétés dans la lumière tubulaire. La sécrétion tubulaire est un mécanisme actif (transport actif) et saturable puisqu'il va consommer de l'énergie. Cependant, il y a une compétition qui peut s'installer entre différentes molécules. Ce type d'interaction peut être exploité afin de prolonger l'effet thérapeutique d'un médicament.

Cependant, il y a un risque d'accumulation de médicament et de toxicité rénale s'il y a captation du médicament par la cellule tubulaire mais qu'on a une absence d'excrétion dans la lumière rénale.

I.2.4.3. La réabsorption tubulaire

Elle correspond au passage du médicament ou du métabolite de la lumière tubulaire du néphron vers les capillaires pérیتubulaires. Ce passage est assuré par un mécanisme actif (consomme de l'énergie) et passif. Le mécanisme actif concerne les médicaments dont la structure est proche de celle des acides aminés et le mécanisme passif concerne les médicaments basiques.

Une fois dans la circulation sanguine, si les molécules sont toujours actives, l'organisme sera alors à nouveau exposé à leur effet thérapeutique ou indésirable. Cela n'est envisageable que pour les molécules suffisamment lipophiles et apolaires.

I.2.4.4. Excrétion par voie biliaire

Comme cité précédemment, les médicaments et les métabolites peuvent également être éliminés par voie biliaire.

En effet, au niveau hépatique, un phénomène de transport actif va faire passer les molécules présentes dans le sang dans la bile. Ils retournent alors dans la lumière du tube digestif et sont éliminés dans les fèces. Cependant, une partie des molécules est susceptible, lors de ce nouveau passage dans l'intestin, d'être réabsorbée. Ces composés se retrouvent alors à nouveau dans la circulation plasmatique, en direction du foie, c'est ce qu'on nomme le cycle entéro-hépatique (**figure 13**).

Ainsi, l'élimination est principalement rénale cependant il semblerait que d'autres voies peuvent participer à l'élimination des médicaments tels que la voie biliaire, pulmonaire (pour les anesthésiques volatils), intestinale, sudorale, salivaire, peau et phanère (pour les médicaments thioloprives et les métaux lourds), les dents (pour les médicaments qui ont une affinité forte en calcium), les cheveux (par exemple l'arsenic) même le lait maternel.

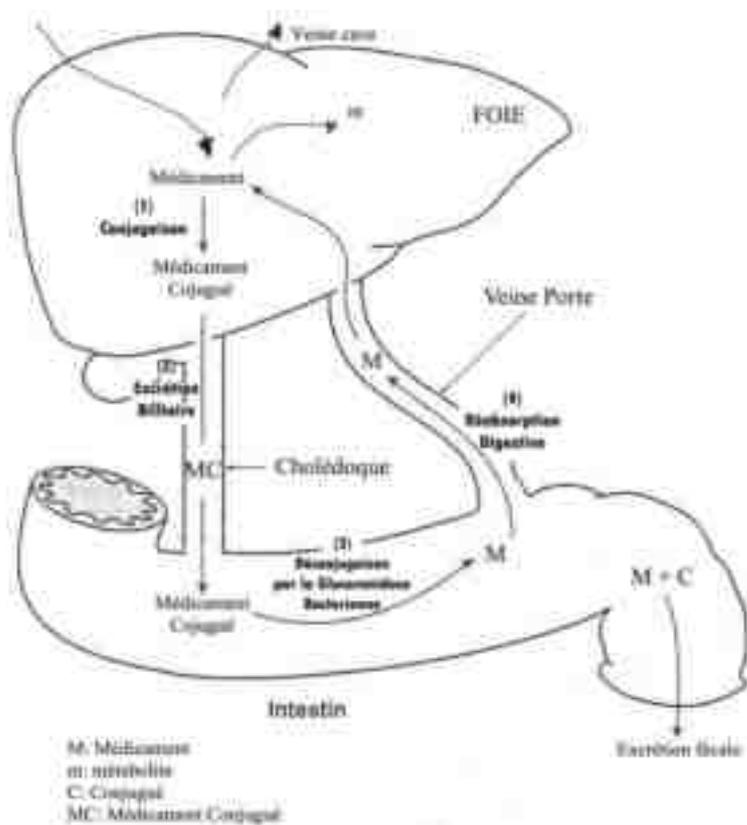


Figure 13 : Représentation schématique de cycle entero-hépatique.^[52]

I.2.4.5. Les paramètres pharmacocinétiques liés à l'élimination

Le processus d'élimination des médicaments comprend à la fois l'étape de métabolisation et l'étape d'élimination des molécules.

Il y a deux paramètres pharmacocinétiques associés à ce processus globale d'élimination :

- La clairance (Cl) qui correspond au volume de liquide (sang ou plasma) complètement épuré du médicament par unité de temps c'est-à-dire la capacité d'un tissu, d'un organe ou d'un organisme à éliminer un médicament. On peut avoir une clairance globale ou une clairance par organe.
- Le temps de demi-vie ($T_{1/2}$) qui correspond au temps nécessaire à éliminer la moitié de la concentration plasmatique d'un médicament. On considère qu'il faut près de 5 $T_{1/2}$ pour avoir une élimination totale du médicament.

Tableau 4 : Liste non exhaustive des facteurs qui influencent l'élimination des médicaments.

Facteurs liés aux médicament	Facteurs liés au terrain
Taille et poids moléculaire, état d'ionisation, hydrosolubilité, lipophilie, concentration sous forme libre	pH urinaire, le débit urinaire, pathologies , passage ou non par le cycle entéro-hépatique, compétition

I.2.4.6. Elimination des nanoparticules

L'élimination des nanoparticules du corps peut se faire de plusieurs manières, notamment par les reins, le foie, les voies biliaires, le système lymphatique et d'autres mécanismes. La manière dont les nanoparticules sont éliminées dépend de leur taille, de leur composition, de leur surface et de leur fonctionnalité^[26].

En fonction de leur taille, les nanoparticules sont soit filtrées par les reins et excrétées dans l'urine, soit éliminées du sang par le foie ou la rate. Cela peut entraîner leur accumulation dans l'organisme et/ou une élimination via les voies biliaires et une excrétion dans les selles.

Les nanoparticules peuvent également être capturées par les macrophages et autres cellules du système réticulo-endothélial (composé principalement du foie, de la rate et de la moelle osseuse) ce qui a pour conséquence de diminuer leur temps de résidence sanguine dans le corps et influencer leur biodistribution.

La conception des nanoparticules peut influencer leur élimination du corps. Par exemple, des revêtements spécifiques (par exemple des PEG^[26]) peuvent être utilisés pour prolonger la circulation dans le sang, des ligands de ciblage peuvent être ajoutés pour diriger les nanoparticules vers des tissus spécifiques, et des propriétés de surface peuvent être modifiées pour éviter la capture par le système réticulo-endothélial.

I.3. Conclusion

Dans cette partie nous avons pu voir que la voie orale est actuellement la voie la plus utilisée pour l'administration des médicaments. Facile d'accès, elle est bien acceptée par le patient ce qui facilite

grandement son observance c'est-à-dire sa capacité à prendre correctement son traitement. Cependant nous avons pu voir qu'une grande partie du médicament pris par voie orale est résorbé et éliminé par le foie (EPH). En complément, les autres facteurs tels que la galénique du médicament, les propriétés moléculaires du médicament ainsi que les facteurs liés au terrain (âge, sexe, activité physique, facteurs génétiques, stress, pathologies) mettent en évidence la faible biodisponibilité de la plupart des médicaments sur le marché.

Nous avons vu qu'une fois absorbés, la plupart des médicaments ne se répartissent pas de manière égale dans tout l'organisme. En effet, les médicaments régis par leurs propriétés physico-chimiques vont pénétrer les différents tissus à des vitesses différentes en fonction de leur capacité à traverser les membranes et en fonction de l'irrigation des tissus. Les médicaments vont soit diffuser rapidement soit s'accumuler dans les tissus. Cette accumulation peut être intéressante lorsque l'on veut constituer un « réservoir » de médicament supplémentaire permettant d'éviter que sa présence dans le sang ne chute rapidement. Cependant cette accumulation peut avoir de lourdes conséquences pour le patient, puisqu'une distribution lente implique la présence du médicament dans les tissus et dans le sang durant un laps de temps élevé favorisant ainsi le risque d'effets secondaires.

La biotransformation n'est pas obligatoire pour tous les médicaments cependant lorsqu'elle a lieu elle va induire la formation de métabolites. Nous avons vu que la biotransformation est médiée par les cytochromes P450 qui assurent la transformation des médicaments en métabolites inactifs. Cependant, la présence d'autres médicaments ou de nourriture va affecter les enzymes du cytochrome P450 provoquant soit une diminution de leurs fonctions ce qui va diminuer la capacité des enzymes à dégrader un médicament et par conséquent augmenter ses effets indésirables, soit augmenter la capacité des enzymes à dégrader un médicament et donc diminuer fortement son effet thérapeutique.

De plus, les facteurs liés au patient jouent un rôle important à ce niveau tant dans l'adaptation des doses administrées que dans la façon dont certains médicaments sont transportés dans le foie ou en sortent, augmentant alors le risque d'effets secondaires des médicaments et de tendre vers une dégradation hépatique. Nous avons vu que la majorité de l'élimination médicamenteuse est rénale. Le médicament sera soit éliminé après avoir subi une altération chimique soit sous forme intacte. Cependant, plusieurs facteurs peuvent influencer sur la capacité du rein à excréter les médicaments. En effet, l'élimination va bien entendu dépendre des propriétés physico-chimiques des médicaments mais également de l'état des reins, du flux d'urine et du flux sanguin passant par les reins. Ces derniers sont quant à eux dépendant du patient. En effet, un médicament administré se doit d'être efficace et peu toxique cependant le manque de spécificité croissant des nouveaux médicaments mis sur le marché nous oblige à trouver une solution.

Aujourd'hui il est plus que primordial pour les industriels de prendre en compte tous ces facteurs afin d'élaborer une formule qui permet à la fois de répondre à tous les critères pharmacocinétiques que nous avons détaillés ci-dessus et d'assurer un effet thérapeutique adapté à chaque patient. En effet, c'est en combinant ces deux aspects que nous réussirons à diminuer le risque d'effet indésirable car à l'heure actuelle il existe encore trop de médicaments qui présentent de nombreux effets secondaires.

Il semblerait que l'utilisation des nanoparticules dans un but thérapeutique représentent le candidat idéal à l'administration médicamenteuse. En effet, les propriétés uniques des nanoparticules en termes de taille, de surface spécifique, de forme, de solubilité et de fonctionnalisation leur permettent de pallier à de nombreuses contraintes physiologiques.

Elles peuvent être conçues de manière à limiter l'élimination prématurée du médicament, ce qui permet de maintenir une concentration thérapeutique efficace du médicament dans le corps pendant une durée prolongée.

Cependant, il est important de noter que la conception des nanoparticules pour limiter la dégradation ainsi que l'élimination médicamenteuse prématurés est un équilibre subtil. Trop retarder l'élimination peut augmenter le risque d'accumulation excessive et de fuite. Par conséquent, la conception précise des nanoparticules et une compréhension approfondie de leur pharmacocinétique sont essentielles pour garantir leur efficacité et leur sécurité.

Partie 2 : Les Nanoparticules lipidiques

II.1. Introduction

Les nanomatériaux font partie intégrante de la nature. Cependant, la science autour des nanomatériaux n'est quant à elle que récente. En effet, il a fallu attendre 1959^[53], lors du discours de Richard Feynman intitulé « il y a de la place tout en bas » pour que l'homme s'intéresse au monde de l'infiniment petit, le nanomonde. Dans ce discours assez visioniste pour l'époque, Richard Feynman énonce le fait « qu'entre notre monde à l'échelle métrique et le monde de l'atome, il y a beaucoup d'ordres de grandeurs, d'échelles de longueurs, ce qui fait que rien n'empêche en théorie de réaliser des petites machines complexes, invisibles pour nous, mais qui accompliraient déjà des tâches très complexes »^[53]. C'est en 1974 que le scientifique, Norio Tanigushi, énonce pour la première fois le terme de « nanotechnologie »^[54]. Il faut cependant attendre les années 2000 pour que le monde scientifique s'intéresse pleinement à ce domaine. En effet, le graphique ci-dessous compare le nombre de publications qu'il y eut entre 1961 à 2000 et de 2000 à aujourd'hui (**figure 14**). Ce graphique a été obtenu en mettant en barre de recherche le terme « nanotechnologie » sur le site Pub Med.



Figure 14 : Graphique comparant le nombre de publication sur la nanotechnologie entre la période 1961-2000 et la période 2000-2023.

Les nanotechnologies peuvent être définies comme étant « l'ensemble des études et des procédés de fabrication et de manipulation de structures (physiques, chimiques ou biologiques), de dispositifs et de systèmes matériels à l'échelle du nanomètre (nm), qui est l'unité la plus proche de la distance entre deux atomes »^[55]. Elles comprennent donc l'étude des nanoparticules.

Les nanoparticules sont des « nano-objet »^[56] dont les dimensions sont inférieures à 1000 nm^[57]. Elles sont soit naturelles soit artificielles et leur très petite taille leur confère des comportements particuliers et des propriétés très différentes des matériaux à plus grande échelle. À l'heure actuelle, il existe un grand nombre de nanoparticules dont l'utilisation est infinie. En effet, elles peuvent être aussi bien utilisées en automobile^[58] qu'en cosmétique^[59], en textile^[60], en chimie^[61], en agroalimentaire^[62] et bien entendu en santé. C'est ce dernier point que nous verrons dans ce mémoire.

Suscitant un grand intérêt au cours des trois dernières décennies, les nanoparticules à base de lipides sont préférées aux autres nanoparticules telles que les nanoparticules à base de polymères, nanoparticules inorganiques ou nanoparticules à base de carbone.

En effet, contrairement aux autres types de nanoparticules, les nanoparticules à base de lipide ne sont pas contraintes par des problèmes de cytotoxicité ou de fabrication à grande échelle. De plus, elles peuvent incorporer des molécules hydrophiles et hydrophobes, y compris de l'ARNm^[63], de l'insuline^[64], des protéines^[65], des enzymes^[66], de l'ARNsi^[67]. Ce qui rend ce transporteur comme étant un des transporteurs les plus propices à l'administration de médicaments.

Les nanoparticules à base de lipides peuvent être divisées en deux grandes familles de vecteurs : les liposomes et les particules de lipides qui comprennent les nanoémulsions, les nanoparticules lipidiques solides (SLN), les supports lipidiques nanostructurés (NLC) et les niosomes^[68].

Dans cette partie nous nous intéresserons à l'intérêt qu'apporte l'encapsulation des médicaments au sein des nanoparticules à base de lipide tels que le liposome, la nanoémulsion et la nanoparticule lipidique solide, dans leur administration et leur efficacité thérapeutique.

II.2. Les Liposomes

La première description des liposomes remonte à 1965 dans les travaux de Bagham *et al.*^[69] dans lesquels les auteurs ont volontairement fabriqué des liposomes. Depuis, l'intérêt pour ses structures dans la vectorisation des médicaments n'a cessé de grandir jusqu'à devenir le système d'administration à base de nanoparticules le plus important. En effet, leur facilité de fabrication, leur capacité à encapsuler une grande variété de molécules et de médicaments et leur biocompatibilité font de ce système une référence dans la vectorisation du médicament au site cible.

À ce jour, les liposomes ont fait l'objet de nombreuses recherches pharmaceutiques en tant que systèmes d'administration de médicaments et continuent de faire l'objet d'études approfondies. Leur caractère amphiphile dû à leurs compositions phospholipidiques leur permet d'imiter les membranes cellulaires qui composent le corps humain ce qui rend compte d'une excellente interaction avec les membranes cellulaires favorisant ainsi l'absorption cellulaire efficace^[70]. Le médicament encapsulé dans le liposome est protégé contre les événements physiologiques, tels que la dégradation enzymatique, l'inactivation chimique, la dégradation immunologique et la clairance plasmatique rapide contribuant ainsi à l'amélioration et à l'augmentation de son action.

Comme le médicament est à l'intérieur du liposome, son exposition aux tissus sains est minimisée ce qui réduit considérablement la survenue d'effets secondaires indésirables par rapport à la forme non encapsulé du médicament.

Le premier médicament qui a été encapsulé dans une nanoparticule à base de lipide et mis sur le marché est le Doxil[®] (**figure 15**), une formulation liposomale de doxorubicine. Cet anticancéreux utilisé en chimiothérapie a été approuvé par la FDA (Food and Drug Administration) et commercialisé en 1995^[72].

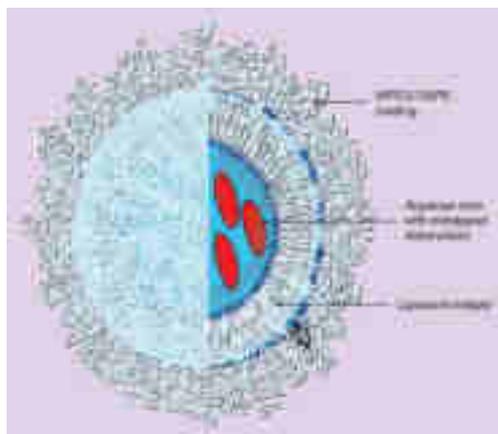


Figure 15 : Formulation liposomale de doxorubicine (Doxil[®]).^[71]

II.2.1. Compositions et Propriétés

Les liposomes peuvent être définis comme étant des structures colloïdales formées par l'auto assemblage de molécules lipidiques amphiphiles en solution, telles que les phospholipides.

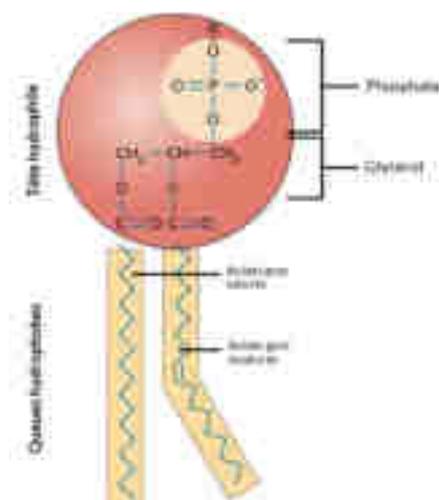


Figure 16: Représentation schématique d'un phosphoglycéride.^[73]

Les phospholipides, plus précisément les phosphoglycérides (**figure 16**), sont des lipides amphiphiles composés d'un résidu de glycérol lié à deux chaînes d'acides gras (saturé ou insaturé) et d'un

groupement phosphate. Ils sont constitués d'une tête polaire qui comprend le glycérol et le phosphate, c'est la partie hydrophile, et d'une queue apolaire qui comprend la chaîne d'acide gras, c'est la partie hydrophobe^[74].

Pour permettre la formation des liposomes, de nombreuses interactions vont avoir lieu^{[74][75]}.

- Des interactions hydrophiles entre les têtes polaires des phosphoglycérides
- Des interactions de Van der Waals (= interaction électrique entre deux atomes ou molécule) entre les chaînes d'hydrocarbures
- Des liaisons hydrogène avec les molécules d'eau.

Ces interactions permettent aux molécules d'eau de repousser les chaînes hydrophobes ce qui va aboutir à l'auto assemblage spontané des liposomes dans une bicouche fermée.

Au sein des liposomes, la membrane lipidique peut être composée d'une ou plusieurs bicouches phospholipidiques organisées autour d'un noyau aqueux interne, avec les groupes de tête polaires orientés vers les phases aqueuses interne et externe^[74].

Cette structure unique permet de charger et de délivrer des molécules de solubilité différente. Les molécules hydrophiles sont présentes dans le noyau aqueux interne tandis que les molécules hydrophobes sont localisées dans la bicouche lipidique et les molécules amphiphiles quant à elles sont à l'interface noyaux aqueux/barrière lipidique^[77](**figure 17**).

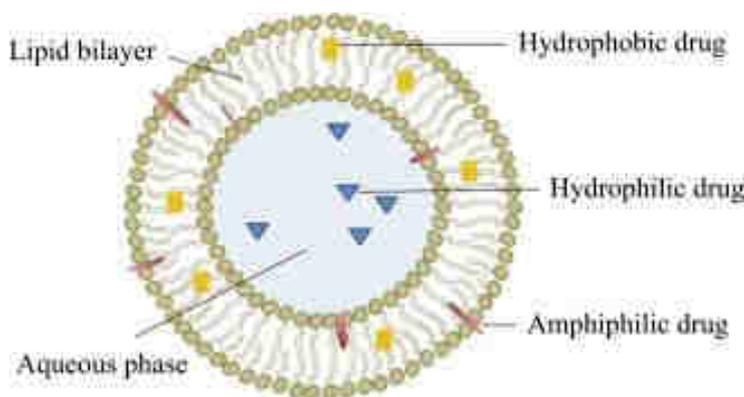


Figure 17 : Structure du liposome.^[76]

Les phosphoglycérides responsables de la formation des liposomes peuvent être soit naturels soit synthétiques. Dans les naturels, nous retrouvons la phosphatidylcholine et la phosphatidyléthanolamine plus communément appelées PC et PE^[78]. Les synthétiques sont fabriqués par des modifications

chimiques spécifiques des régions non polaires et polaires des phospholipides naturels et sont donc plus stables. Nous retrouvons le 1,2-Distearoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (DSPC), 1,2-Dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (DPPC), 1,2-Dioleoyl-snglycero-3-phosphoethanolamine (DOPE)^[74].

Cependant, même si le processus d'auto-assemblage reste similaire, tous les liposomes n'ont bien évidemment pas les mêmes propriétés. De nombreux facteurs permettent d'influencer les propriétés finales des liposomes, c'est ce que nous verrons ci-dessous.

Les caractéristiques des phosphoglycérides influencent les propriétés finales des liposomes. Des variations dans les groupes de tête, les chaînes aliphatiques et dans la saturation des acides gras vont donner des fonctionnalités très différentes aux liposomes. Par exemple, selon la tête des phosphoglycérides, les liposomes vont acquérir des charges positives, négatives ou neutres. Des phosphoglycérides avec des queues plus longues et de faibles degrés d'insaturation avec présence de liaisons éther vont rendre plus stable les liposomes. Des phosphoglycérides avec des chaînes d'hydrocarbures saturés plus longues auront quant à eux une plus grande capacité à interagir les uns avec les autres et ainsi former des structures bicouches rigide et ordonnées. Au contraire, des phosphoglycérides avec des chaînes hydrocarbonées insaturées plus courtes vont former des liposomes avec des bicouches fluides et désordonnées^[79].

L'incorporation de composants au sein des liposomes va également influencer les propriétés des liposomes. Ces composants tels que le cholestérol (**figure 18**), les glycols ou même les polymères vont avoir un rôle crucial dans la stabilité des liposomes.

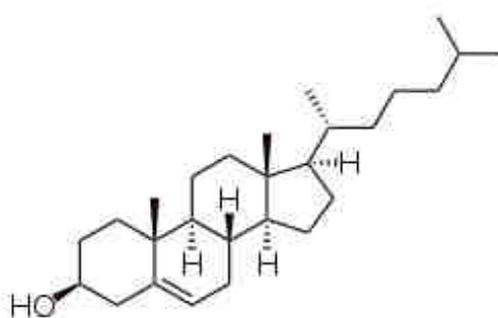


Figure 18 : Structure du cholestérol.^[80]

En effet, l'incorporation de cholestérol est un bon moyen d'augmenter la stabilité in vivo et in vitro des liposomes^[81]. Pour ce faire, les molécules -CH qui compose la structure du cholestérol vont se loger dans la bicouche phospholipidique (**figure 19**), en se liant au groupement hydroxyle des

phosphoglycérides proche de la région hydrophile et ses anneaux aromatiques parallèles aux chaînes d'acides gras^[83]. À noter que la fonction -CH du cholestérol est cruciale pour la stabilité du liposome puisque sans elle, les liposomes vont interagir avec les protéines du système sanguin, que nous avons vu dans la première partie de ce mémoire. Ces interactions déstabilisent grandement la membrane lipidique du liposome diminuant alors son rôle de vecteur médicamenteux.

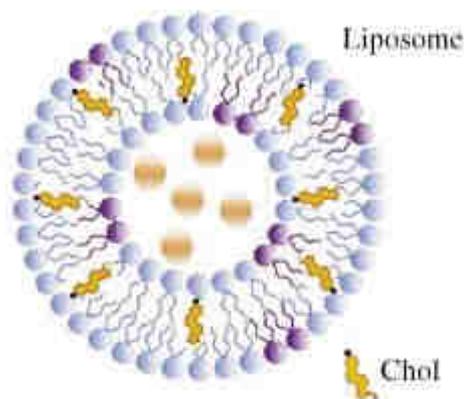


Figure 19 : Structure d'un liposome dans lequel du cholestérol a été incorporé.^[82]

L'incorporation de glycol est un autre moyen d'augmenter considérablement la stabilité du liposome. Des études menées par Elmoslemany *et al.*^[84] et Manconi *et al.*^[85] ont montré que l'incorporation de propylène glycol dans les liposomes permettait d'améliorer l'administration cutanée des médicaments.

L'utilisation de PEG, un autre glycol, à la surface des liposomes (**figure 20**) permet d'augmenter considérablement la demi-vie des liposomes dans la circulation sanguine passant ainsi de quelques minutes à quelques heures^[87]. En effet l'un des inconvénients majeurs des liposomes conventionnels, c'est-à-dire qui ne subit aucune modification, réside dans le fait qu'ils se retrouvent rapidement absorbés par le système réticulo-endothélial (RES) des tissus du foie et de la rate diminuant alors leur temps de circulation dans l'organisme^[88]. L'incorporation de PEG à la surface des liposomes va pallier à ce problème.

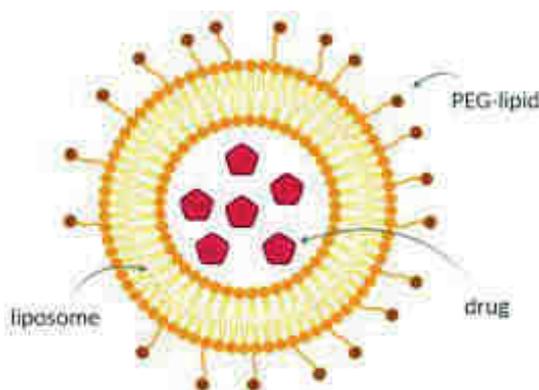


Figure 20 : Structure d'un liposome PEGylé.^[86]

Le temps de circulation sanguine des liposomes est directement dépendant de la quantité de PEG greffé et du poids moléculaire de celui-ci. Il a été reporté que les liposomes PEGylés à chaîne longue et de poids moléculaires élevés (PEG 1900 et PEG 5000) ont présenté des concentrations sanguines plus importantes que les liposomes PEGylés à courte chaîne et poids moléculaire faible (PEG 120 et PEG 750)^[79]. Ainsi, les liposomes à forte concentration en PEG (liposomes de 2^{ème} génération) sont plus résistants à la phagocytose et activent peu le système du complément puisque les liposomes ainsi « modifiés » imitent des structures qui sont semblables à de l'eau ce qui empêche l'adsorption des protéines à leur surface et donc leur reconnaissance par les macrophages du système phagocytaire.

Il a été montré que l'incorporation de polymère tel que le chitosan (**figure 21**) à la surface des liposomes forment une « coque »^[90] protectrice qui permet une meilleure absorption des médicaments par voie orale. En effet, les auteurs^[91] ont déterminé que ce type de formulation est capable d'adhérer au mucus intestinal et d'y pénétrer afin d'atteindre l'épithélium intestinal, ce qui augmente l'absorption intestinale.

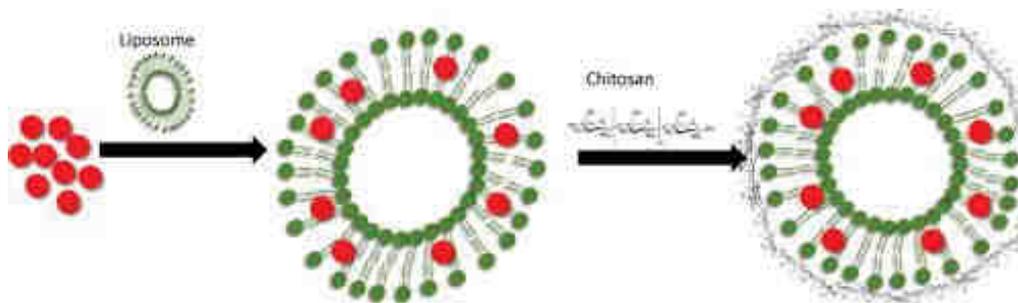


Figure 21 : Greffage de chitosan sur la barrière lipidique du liposome.^[89]

Un autre paramètre important qui entre dans la stabilité des liposomes est la température de transition des phospholipides (T_m). Ce paramètre correspond à la température à laquelle les phospholipides passent de la phase gel à la phase cristalline liquide.

La T_m va dépendre de la longueur des chaînes d'acides gras, du degré de saturation des chaînes d'hydrocarbures, de la force ionique du milieu de suspension et de la nature du groupe de tête polaire. Les bicouches lipidiques composées de phospholipides avec des chaînes d'hydrocarbures longues et saturées vont être rigides et moins perméables ce qui s'explique par des interactions entre les chaînes très fortes et va se traduire par un T_m élevé.

Chaque phospholipide est ainsi caractérisé par sa T_m . À une température inférieure au T_m , les phospholipides sont en phase gel et présentent une faible fluidité et une faible perméabilité, les molécules individuelles au sein de la bicouche se déplacent doucement. À une température supérieure à T_m , les

phospholipides sont en phase cristalline liquide et présentent une grande fluidité et généralement une perméabilité relativement faible, les molécules individuelles au sein de la bicouche lipidique se déplacent rapidement. À une température proche de T_m , la bicouche du liposome augmente considérablement sa perméabilité en raison de la présence de régions interfaciales très perméables entre les domaines co-existants de gel et de phase cristalline liquide (**figure 22**).

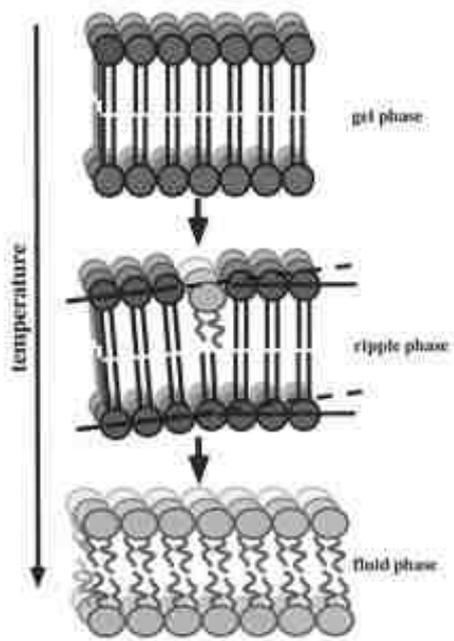


Figure 22 : Variation de phase des phospholipides en fonction de la température.^[92]

Lorsque l'on veut former des liposomes, les phospholipides doivent être en phase gel. Il est donc important de connaître la T_m des phospholipides. Si ces derniers présentent une T_m trop élevée, il en résulte la formation de liposomes rigides qui présentent une faible perméabilité^[79].

II.2.2. Structure des liposomes

Les liposomes sont généralement classés en fonction du nombre de bicouches lipidiques et de la taille des vésicules. On peut alors distinguer 3 catégories de liposomes^{[93][94]} (**figure 23**):

- Les Vésicules Unilamellaire (ULV)
- Les Vésicules Multilamellaire (MLV)
- Les Vésicules Multivésiculaire (MVV)

À noter que les vésicules unilamellaire peuvent être divisées selon leur taille en trois types (**figure 23**) :

- Les Petites Vésicules Unilamellaire (SUV)
- Les Grandes Vésicules Unilamellaire (LUV)
- Les Vésicules Unilamellaire Géantes (GUV)

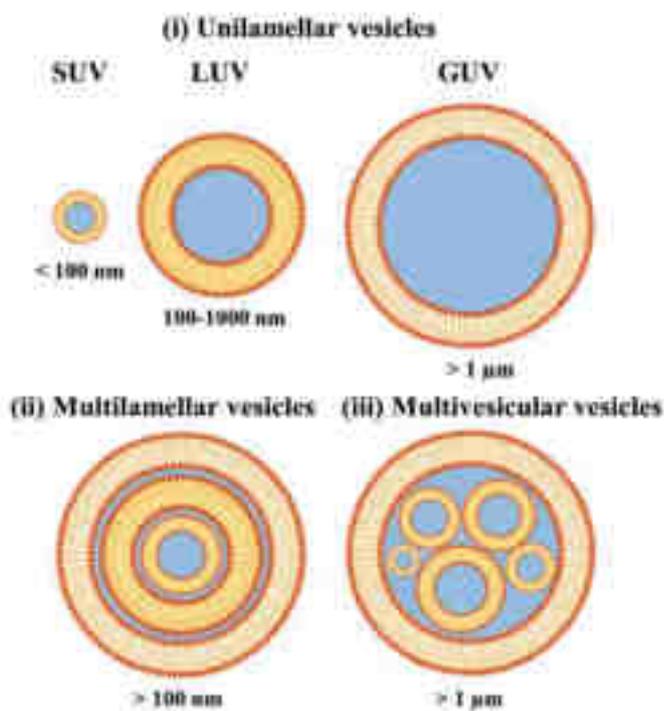


Figure 23 : Les différentes classes de liposomes.^[95]

Les ULV se caractérisent par la présence d'une seule bicouche, avec une capacité d'encapsulation favorable aux molécules ou composés hydrophiles. Les MLV présentent quant à eux deux bicouches lipidiques concentriques ou plus organisées selon une structure en oignon, ce qui est favorable à l'encapsulation de composés lipophiles. Pour finir, les MVV comprennent plusieurs petites vésicules non concentriques piégées dans une seule bicouche lipidique, ce qui est favorable à l'encapsulation de plusieurs composés hydrophile. En général, l'épaisseur de la bicouche phospholipidique est d'environ 4 nm et va dépendre du type de phospholipides, de la température et de la concentration en cholestérol. Nous avons vu précédemment que la composition des liposomes est importante dans le contrôle de la demi-vie de circulation des liposomes cependant la taille et le nombre de bicouches sont également des facteurs importants. En effet, ces deux paramètres vont à la fois affecter la quantité de liposomes présents dans la circulation sanguine et affecter l'administration de médicaments. Il a été montré qu'il est préférable que les vésicules s'étendent entre 50 nm et 150 nm pour l'administration de médicament en raison de leur capacité à pénétrer dans les cellules cibles et de leur stabilité^[96].

II.2.3. Méthode de préparation des liposomes

Il existe un nombre important de méthodes pour préparer des liposomes, il y a les méthodes dites conventionnelles et les méthodes dites mécaniques. Ici, nous nous focaliserons uniquement sur les méthodes conventionnelles puisqu'elles sont les plus courantes. On retrouve l'hydratation en couche mince^[97], l'évaporation en phase inverse^[98], l'injection de solvant^[99] et l'élimination des détergents^[100].

II.2.3.1. Hydratation en couche mince

Cette méthode est la première méthode qui a été utilisée pour la fabrication des liposomes puisque c'est celle-ci qui a été utilisée par Bangham *et al.*^[101](**figure 24**). Cette méthode consiste à dissoudre tous les lipides à l'aide d'un solvant organique (généralement du chloroforme, de l'éther ou du méthanol) dans un ballon à fond rond afin d'obtenir une fine pellicule lipidique par évaporation sous pression réduite du solvant organique. La fine pellicule lipidique est ensuite hydratée, au-dessus de T_m du lipide utilisé, avec une solution tampon aqueuse. Cette solution aqueuse peut contenir un ou plusieurs médicaments hydrophiles à charger dans le noyau des liposomes. Selon les conditions d'hydratation, cette méthode permet de créer des liposomes avec une organisation structurale différente. En effet, une agitation vigoureuse lors du processus d'hydratation va favoriser la formation de MLV de taille hétérogène, tandis qu'une hydratation douce va plutôt former des GUV.

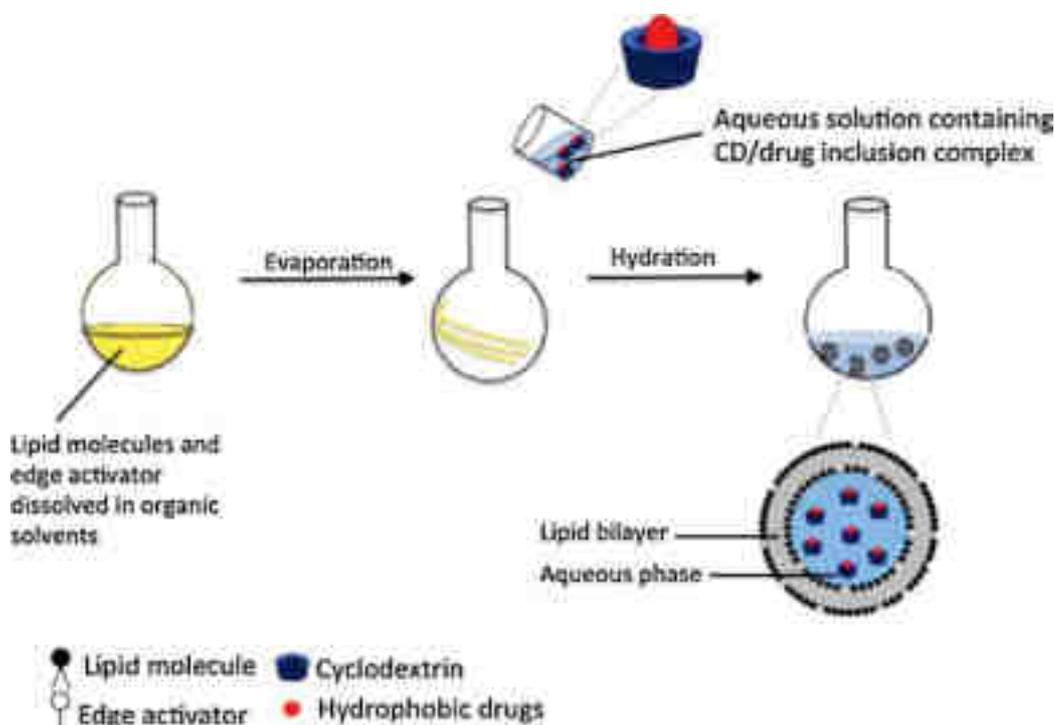


Figure 24 : Préparation de liposome par méthode d'hydratation en couche mince.^[102]

De plus, il est important de noter que c'est le taux d'hydratation qui détermine l'efficacité d'encapsulation du médicament. Ainsi, plus le taux d'hydratation est lent et plus l'efficacité d'encapsulation des médicaments sera élevée.

En général une méthode d'extrusion ou de sonication est ajoutée après l'étape d'hydratation afin de contrôler les dimensions des liposomes, les types de lamellarités et les distributions de particules. Cependant, c'est la méthode d'extrusion qui garantit des liposomes stables avec une efficacité d'encapsulation élevée.

La méthode de sonication permet certes de former des SUV mais elles présentent de nombreux inconvénients. En effet, les liposomes qui sont formés présentent un petit volume interne ce qui implique une encapsulation plus faible. De plus, le risque de dégradation^[103] ou d'hydrolyse^[104] des médicaments et des lipides encapsulés est plus important lorsque la force et la durée de sonication est trop importante. Or ce sont ces deux paramètres qui influencent la taille des vésicules formés. Plus ils sont importants et plus petits seront les liposomes. Dans le cas d'une sonication par sonde à ultrasons, le milieu peut être contaminé par le métal de la sonde.

La difficulté de produire des liposomes grand et hétérogène, une faible capacité de piégeage, une élimination approximative du solvant organique sont les facteurs limitants de cette méthode.

II.2.3.2. Méthode d'évaporation en phase inverse

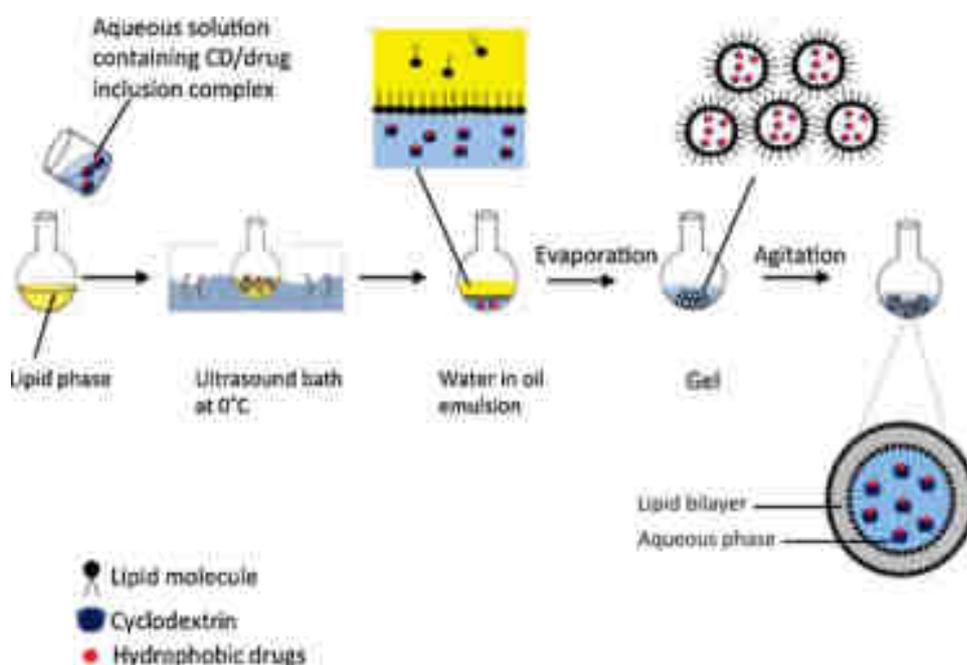


Figure 25 : Préparation de liposome par méthode d'évaporation en phase inverse.^[102]

Une autre méthode qui peut être utilisée pour la préparation de liposomes est la méthode dite d'évaporation en phase inverse (**figure 25**). Tout comme la méthode d'hydratation en couche mince, la première étape de cette méthode consiste à dissoudre les lipides à l'aide d'un solvant organique pour former une fine couche lipidique puis le solvant est éliminé par évaporation. Le film lipidique est ensuite redissous dans un autre solvant organique (l'éther diéthylique et/ou l'éther isopropylique)^[105] puis il y a ajout d'une phase aqueuse, ce qui va entraîner la formation d'une émulsion eau dans huile. Le mélange est alors sonifié pour produire des micelles inversées, formant une émulsion homogène.

Pour finir une dernière évaporation de solvant organique va être réalisée sous pression réduite, ce qui va former un gel visqueux qui se transforme par agitation en suspension liposomale.

Cette méthode permet d'obtenir des liposomes avec un taux d'encapsulation maximale de la phase aqueuse de 65%^[106] (solution présentant de faible force ionique) ce qui permet alors l'encapsulation de macromolécules hydrosolubles de manière efficace. Cependant, l'inconvénient majeur réside dans le contact entre les molécules à encapsuler et le solvant organique et leur exposition à la sonication ce qui peut endommager les brins d'ADN et causer la dénaturation des protéines^[106].

II.2.3.3. Méthode d'injection de solvants

Dans cette méthode (**figure 26**) les lipides sont dissous dans un solvant organique (éthanol ou éther diéthylique) et sont injectés rapidement dans un milieu aqueux. Les solvants sont alors évaporés et il y a formation d'une suspension liposomale.

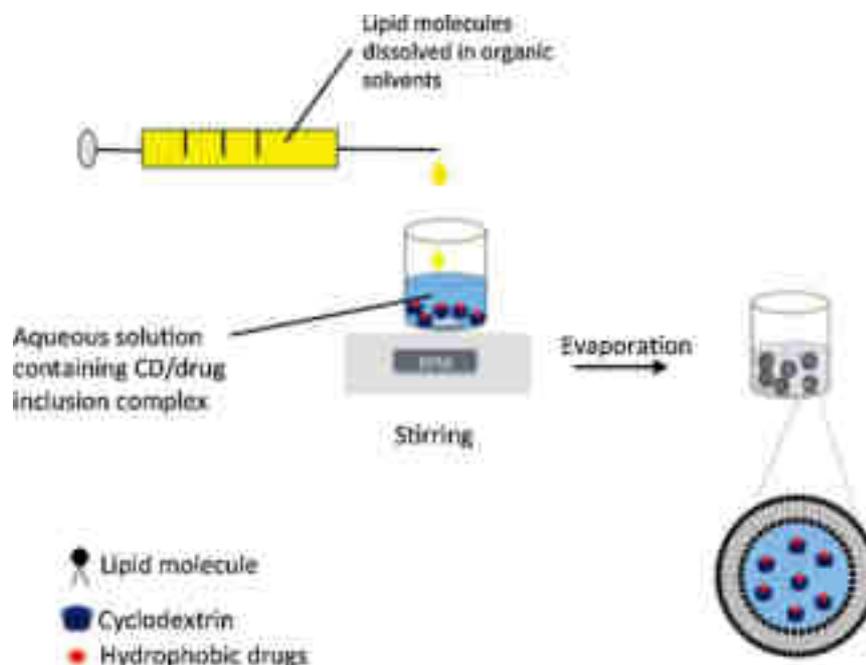


Figure 26 : Préparation de liposome par méthode d'injection de solvants.^[102]

L'ether diéthylique est directement évaporé pendant le processus de mélange à une température supérieure à son point d'ébullition. Concernant l'éthanol, il peut être évaporé sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif, d'une dialyse ou d'un filtrage. La méthode d'injection d'éthanol est préférée dans la production de liposomes en raison de sa simplicité, de sa reproductibilité, de sa rapidité de mise en œuvre et du fait qu'elle ne provoque pas de dégradation des lipides ni d'altérations oxydatives^{[107][108][109]}. Cependant, la faible solubilité de certains lipides dans l'éthanol, l'hétérogénéité des liposomes causée par une mauvaise agitation, la faible efficacité d'encapsulation des molécules hydrophiles dans les liposomes et l'évaporation incomplète de l'éthanol sont les principales limites de la méthode d'injection par éthanol.

Ces inconvénients peuvent être limités en jouant sur de nombreux paramètres tels que la nature des lipides, leur concentration dans l'éthanol, le rapport médicament/lipides, le diamètre de l'orifice d'injection et la vitesse d'injection^{[110][111]}.

II.2.3.4. Méthode d'élimination du détergent

Dans cette méthode, les lipides sont solubilisés avec des tensioactifs à concentration micellaire critique élevés à l'aide d'un solvant organique dans un ballon à fond rond. Un film lipidique est alors formé après évaporation douce du solvant. Il se forme ensuite une solution de micelles mixte en hydratant le film avec une solution aqueuse contenant les molécules thérapeutiques. Les lipides vont alors s'auto assembler après élimination du tensioactif par chromatographie d'exclusion, dialyse ou adsorption sur billes hydrophobes.

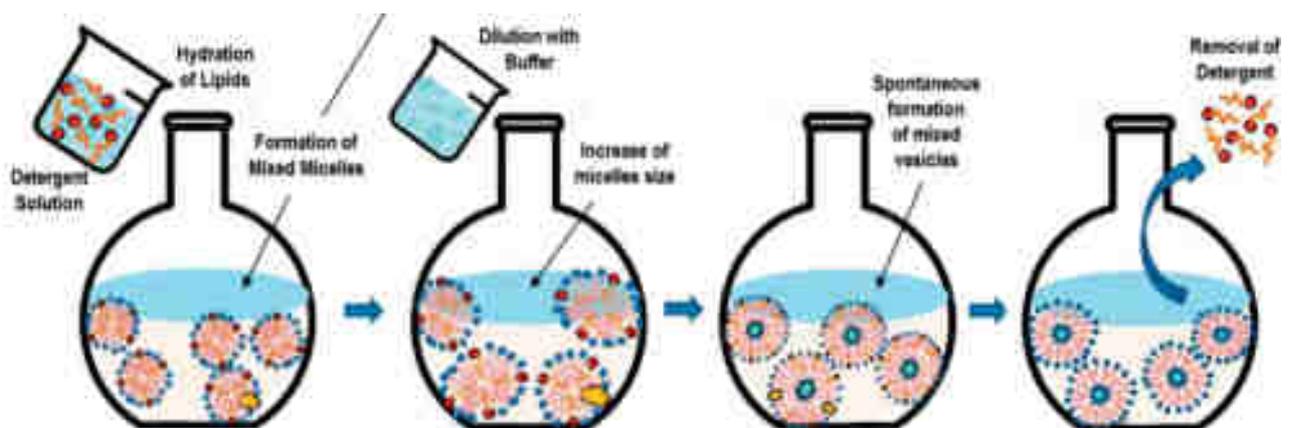


Figure 27 : Préparation de liposome par méthode d'élimination de détergent.^[263]

Tout comme les autres méthodes, cette méthode présente également des inconvénients tels que la séparation des médicaments hydrophiles des liposomes lors de l'étape d'élimination du tensioactif, la

présence d'impureté dans le liposome finale^[112], l'interaction possible entre le tensioactif et le composé thérapeutique encapsulé mais aussi le temps qu'il faut pour réaliser cette méthode.

II.2.4. Chargement des médicaments au sein des liposomes

Comme nous l'avons vu précédemment, les liposomes représentent un bon système d'administration de médicaments en raison de leur capacité à charger des médicaments aux caractéristiques bien différentes. La sélection d'une méthode adéquate pour l'encapsulation des médicaments dans les liposomes va dépendre de plusieurs facteurs tels que les propriétés physico-chimiques de la molécule encapsulée et des composants liposomiques, le rapport médicament/lipide, l'efficacité d'encapsulation, la rétention du médicament au sein du liposome, la stabilité du liposome, la facilité de production ainsi que le coût de production. De plus, la quantité en médicament encapsulé est liée aux propriétés physico-chimiques du médicament, à la composition des liposomes ainsi qu'à la méthode qui sera utilisée pour la production des liposomes. Il existe deux grandes stratégies pour l'incorporation des molécules thérapeutiques au sein des liposomes à savoir les méthodes passives et les méthodes actives^[79].

Dans le point précédent, nous avons vu les différentes méthodes pour la préparation des liposomes et ces méthodes correspondent en réalité à des méthodes passives d'incorporation de médicament. En effet, dans la méthode passive,^[79] les molécules sont encapsulées pendant la préparation du liposome. Les médicaments hydrophiles vont alors être dispersés dans la phase aqueuse (à l'intérieur et à l'extérieur des liposomes) tandis que les médicaments hydrophobes seront situés dans la bicouche lipidique du liposome.

Pour ce faire, dès leur formation les liposomes vont capter le volume aqueux contenant le médicament hydrophile précédemment dissous comme nous l'avons vu précédemment. Par conséquent, la concentration du médicament à l'intérieur du noyau aqueux sera similaire au volume aqueux enfermé par les liposomes. L'efficacité d'encapsulation des médicaments par les liposomes va donc varier en fonction de la solubilité du médicament, de la taille et de la charge des liposomes ainsi que de la concentration en lipides. À noter que la membrane liposomale n'est pas perméable aux ions et aux médicaments chargés. Sinon, les médicaments non chargés peuvent diffuser à travers la membrane lipidique ce qui entraînerait une fuite du médicament. En général, cette approche aboutit à une faible efficacité d'encapsulation impliquant une grande quantité de médicaments non encapsulés et à une forte fuite de médicaments pour les médicaments non encapsulés. Une étape de purification, par chromatographie d'exclusion (méthode la plus couramment utilisée) ou centrifugation par exemple, est alors nécessaire afin d'éliminer les molécules non encapsulées.

La méthode active consiste à encapsuler les médicaments par transport actif dans les liposomes après que ces derniers se soient formés^[113]. Pour ce faire, il y a création d'un gradient transmembranaire de pH ou d'ions qui entraîne efficacement le médicament à travers la bicouche lipidique, ce qui permet d'atteindre pour certains médicaments une encapsulation de la totalité du médicament. Le gradient est créé entre l'intérieur des liposomes intacts (déjà formés) et l'extérieur des liposomes, le milieu aqueux, où le médicament est solubilisé. Comme les médicaments non chargés peuvent se diffuser à travers la membrane lipidique, ils deviennent protonés, ce qui inhibe leur diffusion hors du liposome, augmentant ainsi l'efficacité d'encapsulation et leur rétention à l'intérieur du liposome. Le chargement est le plus efficace lorsque le médicament est une base faible amphipathique ($pK_a \leq 11$) ou un acide faible ($pK_a > 3$).

Il existe plusieurs approches pour réaliser une charge active, telle que le gradient transmembranaire de sulfate d'ammonium pour les bases faibles amphipathiques, le gradient d'acétate de calcium pour les médicaments faiblement acides, la méthode du gradient de phosphate, la méthode du gradient d'acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA) et méthode de chargement d'ionophores.

II.2.5. Interaction des liposomes avec les cellules cibles et les systèmes de défense de l'organisme

II.2.5.1. Interaction des liposomes avec les cellules cibles et libération du médicament

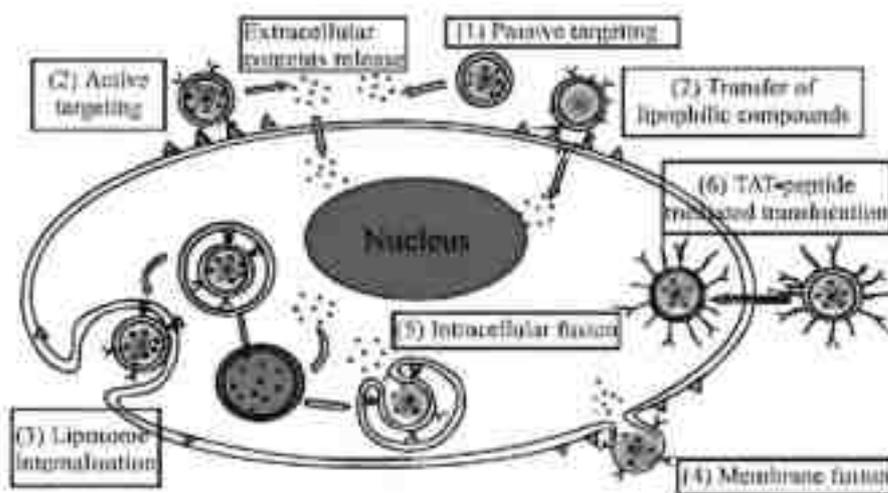


Figure 28 : Les différents types d'interactions entre le liposome et les cellules cibles.^[114]

Une fois arrivé au site cible, le liposome va pouvoir interagir de différentes manières avec les cellules

cibles afin de libérer son contenu. On distingue quatre mécanismes, l'adsorption, l'échange de lipides, la fusion et l'endocytose^[115](**figure 28**).

II.2.5.1.1. L'adsorption

L'adsorption regroupe le ciblage passif et le ciblage actif. Dans le ciblage actif, le liposome va se fixer spécifiquement (c'est le cas pour les liposomes de 3^{ème} génération également appelée les immunoliposomes puisqu'il possède à leur surface des anticorps qui reconnaît les antigènes présents à la surface des cellules cibles) sur les marqueurs de la cellule cible et libérer le médicament sous stimuli ou biodégradation. Dans le ciblage passif, le liposome ne se fixe pas aux cellules cibles, ils vont simplement libérer leur contenu dans la partie extracellulaire. Dans le fond, les deux mécanismes sont à peu près similaires à l'exception que dans le ciblage actif il y a plus de chance que le médicament soit absorbé par la cellule.

II.2.5.1.2. L'échange de lipides

Ce mécanisme d'interaction n'est pas favorable à tous les liposomes. En effet, seuls les liposomes possédant une barrière lipidique plutôt instable peuvent prétendre à ce mécanisme. Une fois que le liposome est suffisamment proche de la cellule, ces têtes de phospholipides et celles de la cellule vont s'attirer ce qui va provoquer une destruction lente de la paroi liposomale. Les phospholipides vont alors quitter le liposome pour aller rejoindre ceux de la cellule. C'est durant cet échange que le médicament peut passer à travers la membrane et se retrouver dans la cellule cible.

II.2.5.1.3. La fusion

Le liposome va se rapprocher de la cellule cible jusqu'à interagir avec elle. Les têtes hydrophiles des phospholipides du liposome et de la cellule cible vont s'attirer ce qui va amener à la rupture de la membrane du liposome pour se fusionner avec celle de la cellule. Le médicament se retrouve alors dans la cellule.

II.2.5.1.4. L'endocytose

Plusieurs mécanismes complexes vont avoir lieu dans ce type d'interaction afin que le liposome puisse être englobé par la cellule. Une fois le liposome internalisé, les enzymes présents dans le cytoplasme

cellulaire vont digérer la paroi lipidique du liposome ce qui va libérer le médicament. C'est en général le mécanisme le plus fréquemment utilisé par les liposomes pour libérer leur contenu puisqu'il permet un taux d'absorption total du médicament.

Après la libération du principe actif, les constituants du liposome et le principe actif suivront des voies différentes de transformation et d'élimination indépendantes les unes des autres.

Cependant, pour que l'interaction entre le liposome et la cellule puisse avoir lieu, il faut avant tout que le liposome se dirige de manière précise vers la cellule mais surtout qu'il échappe aux systèmes de défense de l'organisme.

II.2.5.2. Interaction des liposomes avec les systèmes de défense de l'organisme.

Comme pour toute particule étrangère qui pénètre dans le corps, les liposomes rencontrent de multiples systèmes de défenses qui visent à les reconnaître, à les neutraliser et à les éliminer. Ces systèmes de défenses comprennent le système réticulo-endothéliale (RES), l'opsonisation et l'immunogénicité. Or, pour que le principe actif puisse être actif il doit être libéré au site cible par le liposome et donc ce dernier doit pouvoir échapper à ces systèmes de défenses. C'est pourquoi la formulation liposomale représente un défi majeur dans l'administration des médicaments et est souvent l'étape limitante. Nous décrivons ci-dessous les différentes réactions que subit le liposome une fois administré et nous montrerons comment la modification structurelle des liposomes va leur permettre d'échapper aux nombreux systèmes de défense de l'organisme.

Le RES est le principal site d'accumulation des liposomes suite à leur administration systémique^[116]. Les principaux organes qui sont associés au RES sont le foie, la rate, les reins, les poumons, la moelle osseuse et les ganglions lymphatiques^[117]. Le foie est l'organe qui présente la plus grande capacité d'absorption de liposome et peut accumuler des liposomes jusqu'à 10 fois plus que les autres organes du RES^[118]. L'accumulation des liposomes dans le RES est médiée par le diamètre des pores des capillaires de ce dernier, allant de 100 à 800 nm^[119].

Ce qui est suffisamment grand pour l'extravasation et l'élimination ultérieure de la plupart des liposomes chargés de médicament, puisque nous avons vu que leur taille variait de 50 à 1 000 nm^[119]. Les liposomes vont alors être phagocytés par les macrophages présents dans le RES^[118]. Cependant, leur phagocytose ne sera possible que s'ils ont été au préalable entourés à leur surface par des protéines plasmatiques (protéine C-réactive, fibronectine, facteur du complément 3b, IgG ...) ^[118]. C'est ce que l'on appelle l'opsonisation. Les macrophages possèdent à leur surface des récepteurs qui reconnaissent ces protéines plasmatiques et vont alors pouvoir phagocyter le liposome opsonisé (**figure 29**).

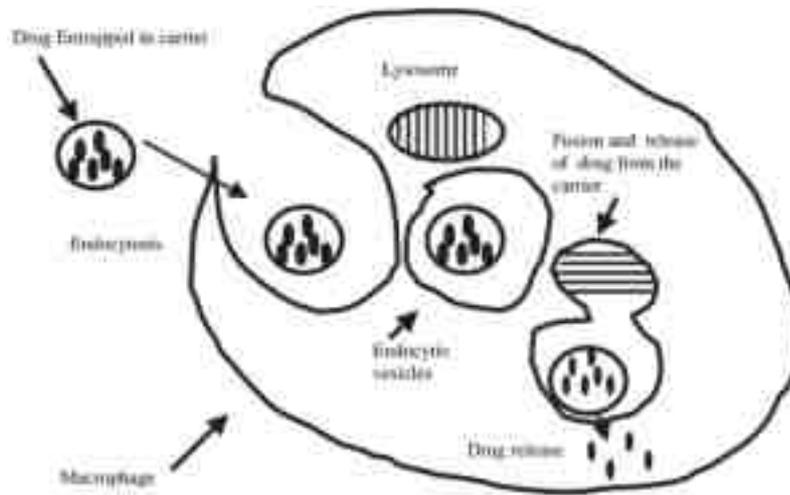


Figure 29 : Représentation schématique de la phagocytose d'un liposome par un macrophage.^[120]

Cependant, des études *in vitro* ont démontré que la clairance du liposome induit par les macrophages peut également se produire en l'absence de protéines plasmatiques^[118].

Ainsi, l'opsonisation des liposomes va considérablement déstabiliser et désorganiser les liposomes ce qui va entraîner la fuite rapide du principe actif. Les cellules sanguines (érythrocytes, plaquettes) interagissent également avec les liposomes par fusion ou échange de phospholipides de la bicouche lipidique ce qui peut entraîner la fuite précoce du contenu du liposome^[79]. Une des solutions à ce processus d'incorporation des liposomes par le RES et donc leur phagocytose est l'ajout à la surface des liposomes d'un polymère, le PEG^[121]. En effet, comme décrit plus haut dans ce mémoire, l'ajout de PEG à la surface des liposomes crée une concentration superficielle locale de groupes hautement hydratés ce qui inhibe stériquement les réactions électrostatiques et hydrophobes avec les protéines plasmatiques et/ou les cellules et réduit ainsi l'absorption liposomale par le RES. Cela aboutit à améliorer les temps de circulation des liposomes et empêcher leur élimination par le RES grâce à la stabilisation stérique. Cependant, il est important de comprendre que l'utilisation de PEG minimise certes l'absorption liposomale par le RES mais ne contourne en aucun cas complètement le RES. D'autres solutions tels que l'augmentation de la dose en liposome^[122], l'utilisation de liposome SUV^[123] ou l'incorporation de cholestérol et phospholipides ayant une T_m élevé^[124] permet d'augmenter considérablement la demi-vie des liposomes.

Le degré d'interaction entre les systèmes d'administration de médicaments liposomaux et les protéines plasmatiques est important pour déterminer la biodistribution, l'efficacité et la toxicité globales des liposomes^[125]. Il a été démontré que les protéines plasmatiques jouent un rôle principal dans la clairance liposomale par le RES via l'opsonisation, ainsi que dans la déstabilisation vésiculaire^[126]. L'opsonisation

des liposomes par les protéines plasmatiques va dépendre de divers facteurs propres à chaque liposome tels que sa taille, sa charge de surface et sa stabilité^[126]. En effet, il a été montré que les petits liposomes ne peuvent pas être opsonisés puisqu'ils sont trop petits ce qui explique qu'en général les gros liposomes non modifiés sont éliminés plus rapidement que les petits liposomes neutres ou chargés positivement^[118]. Néanmoins, la présence d'une charge électrostatique élevée peut encore favoriser l'interaction des liposomes avec des biomolécules pouvant servir d'opsonines. Afin d'éviter cela, l'ajout de cholestérol au sein de la membrane lipidique des liposomes va augmenter leur stabilité et minimiser l'échange de phospholipides ce qui peut prolonger leur temps de circulation de plusieurs heures^[127].

Bien que ces obstacles doivent être contournés pour une fonction optimale des liposomes, d'autres facteurs tels que l'effet de perméabilité et de rétention améliorées (EPR) peuvent être exploités pour améliorer l'administration de médicaments. En effet, les liposomes qui ont échappé à la fois au RES et à l'opsonisation sont soumis à l'effet EPR qui fait référence à la perméabilité accrue du système vasculaire qui alimente les tissus pathologiques (tumeurs et inflammation)^[128]. Au niveau de ces sites, les dérégulations de l'angiogenèse et l'augmentation de l'expression et de l'activation des facteurs de perméabilité vasculaire prédominent ce qui conduit à des fenestrations pouvant aller de 300 à 4700 nm^[129]. Cela permet ainsi aux liposomes de s'extravaser et de s'accumuler par ciblage passif.

Un autre paramètre à prendre en compte est le phénomène de la clairance sanguine accélérée. En effet, l'injection répétée de liposomes PEGylés est associée à une perte progressive de leur propriété ce qui aboutit à leur élimination rapide dans le sang. Ce phénomène est une préoccupation majeure pour l'application clinique des formulations PEGylées qui nécessitent des schémas posologiques multiples. Le mécanisme exact de ce phénomène n'est pas très clair cependant il semblerait qu'il soit affecté par la dose de lipides, la densité de surface du PEG et l'intervalle entre la première injection et les injections consécutives. Il a été démontré que l'injection répétée de liposomes PEGylés vides chez le rat provoque une production marquée d'IgM anti-PEG^[130]. Les auteurs pensent que cette réponse immunitaire est médiée par la rate, car le degré de production d'IgM anti-PEG et le phénomène de clairance sanguine accéléré sont considérablement réduits chez les rats splénectomisés. Cependant, il a été montré que l'administration de doses plus élevées des liposomes PEGylés initiaux réduisait l'ampleur de ce phénomène de clairance rapide^[131]. En effet, Il a été suggéré que l'augmentation de la dose de phospholipides provoque l'apoptose des cellules B réactives au PEG, réduisant la production d'IgM anti-PEG et atténuant ainsi l'élimination des liposomes^[132].

Pour finir, certains systèmes liposomaux sont capables de déclencher une réponse immunitaire innée ce qui va activer le système du complément pour déclencher un syndrome d'hypersensibilité aiguë. Cela va se traduire par une réaction d'hypersensibilité immédiate, non médiée par les IgE, qui implique alors des symptômes tels que l'anaphylaxie, les bouffées vasomotrices, l'enflure du visage, les maux de tête, les frissons et la détresse cardiopulmonaire^[133]. Cette pseudo-allergie est en partie due à l'activation du système du complément avec la génération subséquente de sous-produits C3^[134] et d'anaphylatoxines C3a et C5a^[133]. Il est important de comprendre que tous les liposomes peuvent activer le système du complément. La taille, la morphologie, la charge, la composition lipidique des liposomes, les caractéristiques de surface et la dose lipidique administrée sont tous des facteurs qui régulent l'activation du complément^[135]. Cependant, il a été observé que certaines caractéristiques liposomales augmentent considérablement le risque d'activation du complément. En effet, des facteurs tels qu'une charge de surface positive ou négative, un manque d'homogénéité liposomale, une contamination par des endotoxines, une taille croissante, la présence d'agrégats, la présence de médicaments qui peuvent se lier aux liposomes et aux lipides et les agréger, la présence de cholestérol dans la membrane bicouche à plus de 70%, et une PEGylation avec PEG-PE augmente le risque d'activer le système du complément^[135]. Ainsi, il a été démontré que les petites vésicules unilamellaires neutres sont les liposomes les moins réactogènes^[135]. Des stratégies ont été développées pour minimiser l'immunogénicité des liposomes comme la méthylation de la charge anionique localisée sur l'oxygène phosphate du conjugué mPEG-phospholipide^[136] ou l'utilisation d'autres lipopolymères non ioniques et conjugués lipidiques, tels que mPEG^[135]. Il faut savoir que le développement de réactions immunogènes aux thérapies liposomales peut entraîner une altération de la pharmacocinétique, une perte d'efficacité et une augmentation de toxicités potentiellement graves. Cela doit donc être pris en compte dans la formulation liposomale de médicament.

II.2.6. Comparaison entre une formulation de médicament encapsulé dans les liposomes et une formulation de médicament sans liposomes

De nombreuses études ont été réalisées pour montrer que l'encapsulation des médicaments au sein des liposomes améliore grandement leur biodisponibilité mais également leur effet thérapeutique. Ici, nous décrirons dans un premier temps quelques études qui ont pu démontrer l'amélioration des paramètres pharmacocinétiques liés à l'administration des médicaments encapsulés et dans un second temps les études qui ont montré que l'encapsulation des médicaments au sein des liposomes peut améliorer

grandement leur efficacité thérapeutique et diminuer leur toxicité ce qui prouve que ce système présente un fort potentiel dans la vectorisation médicamenteuse.

II.2.6.1 Amélioration des paramètres pharmacocinétiques

Nous avons vu que les liposomes sont de véritables boucliers contre les différentes réactions que peut subir le médicament. Ils permettent à la fois de réduire la toxicité des médicaments, de les protéger de l'action de l'organisme ou encore d'améliorer leur paramètres pharmacocinétiques.

Une étude concernant l'efficacité que pouvait avoir la lutéoline encapsulée dans un liposome contre le carcinome colorectal a été menée par Guixia *et al.*^[137]. Dans cette étude, les auteurs ont voulu comparer les paramètres pharmacocinétiques et l'effet tumoricide sur les cellules cancéreuses colorectales que présente la forme non encapsulée dans un liposome de lutéoline (nommé Free-Lut dans la publication) par rapport à sa forme encapsulé (nommé Lipo-Lut dans la publication) dans un liposome. Concernant les paramètres pharmacocinétiques, les auteurs ont montré qu'il y avait une différence notable entre ces deux formes concernant leur vitesse d'élimination et leur concentration plasmatique. En effet, Free-Lut a été rapidement éliminé et ces niveaux plasmatiques ont été inférieurs à 50 % de la dose injectée dans les 5 minutes suivant son injection (**figure 30**). Pour Lipo-Lut, sa concentration dans le plasma était presque 10 fois plus élevée que Free-Lut 2 heures après l'injection du médicament. Cette différence est encore plus importante lorsque l'on s'intéresse aux concentrations plasmatiques au-delà d'1 heure après l'injection.

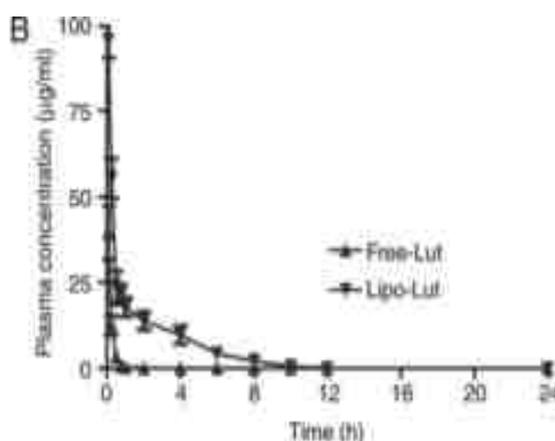


Figure 30 : Courbe représentant la concentration plasmatique en lutéoline en fonction du temps après administration d'une dose intraveineuse unique de 50 mg/kg de Free-Lut ou Lipo-Lut à des souris.^[137]

De nombreuses études ont été portées sur la Doxorubicine, cet antibiotique cytotoxique anthracyclique utilisé en chimiothérapie. Jusqu'au jour où il est apparu sur le marché sous une formule liposomale, le

Doxil[®]. Une des études intéressantes qui a été réalisée est celle de Working *et al.*^[138] qui ont comparé les paramètres pharmacocinétiques et l'efficacité thérapeutique du Doxil[®] par rapport à sa forme non encapsulée, l'adriamycine.

Dans cette étude qui vise à évaluer la pharmacocinétique du Doxil[®] et de l'Adriamycine après l'administration intraveineuse de doses uniques et répétées chez le rat et le chien, les auteurs ont montré que les liposomes de Doxil[®] ont un temps de séjour prolongé dans le plasma, avec des augmentations concomitantes de l'aire sous la courbe (AUC) associée à un temps de demi-vie de distribution et de temps de séjour moyen. La clairance est ainsi réduite en conséquence (**tableau 5**).

Tableau 5 : Paramètre pharmacocinétique du Doxil[®] et de l'adriamycine.^[138]

Paramètre	Doxil	Adriamycine
C _{max} ^b (µg/mL)	15,1	0,007
k _{el} (hr ⁻¹)	0,03	0,36
T _{1/2} (hrs)	27,0	1,9
AUC _{0-∞} (µg·hr/mL)	605,3	0,02
MRT _{0-∞} (hrs)	37,9	2,8
CL (mL/hr)	0,4	10669
V _d (mL)	16,5	30190

La persistance du Doxil[®] dans le plasma se traduit alors par une C_{max} plus élevée et une constante de vitesse d'élimination plus faible par rapport à l'Adriamycine.

Ces observations suggèrent que l'élimination de la doxorubicine encapsulée dans un liposome est contrôlée par son transporteur liposomique.

Lorsque nous nous intéressons à la composition du Doxil[®] nous remarquons que celui-ci contient des chaînes de polyoxyéthylène greffées en surface. Ces chaînes polymères greffées en surface réduisent l'interaction des liposomes avec le système phagocytaire mononucléaire, ce qui explique la longue circulation et la biodistribution altérée des liposomes. Ils réduisent également l'adhérence des liposomes aux cellules, aux parois des vaisseaux sanguins et à d'autres surfaces et entraînent ainsi une augmentation de la perméabilité vasculaire des liposomes par rapport à l'adriamycine. Concernant la toxicité, il a été montré que le Doxil[®] est moins cardiotoxique, myélotoxique et néphrotoxique que l'adriamycine. De plus, il semblerait que l'efficacité accrue de Doxil[®] est liée à son extravasation accrue à travers le système vasculaire tumoral et à son accumulation dans le tissu tumoral^[138].

Une autre étude intéressante est celle menée par Yang *et al.*^[139] dans laquelle ils ont comparé la différence de biodisponibilité et d'efficacité anti-asthmatique après administration orale entre le sulfate de salbutamol (SBS) non encapsulé (Free SBS) et le SBS encapsulé dans un liposome .

Ils ont observé sur des rats que l'AUC de la formulation de liposomes était plus élevée que celle du SBS libre. De plus, ils ont montré à travers la Cmax et le MRT que le SBS liposomal est moins susceptible que le SBS non encapsulé dans un liposome d'induire des effets indésirables puisqu'il présente une Cmax moins élevée associée à un temps de résidence prolongé (**tableau 6**). Ainsi, les auteurs ont conclu que ces données permettraient d'affirmer que la formulation de liposomes améliorerait les paramètres pharmacocinétiques du salbutamol.

Tableau 6 : Paramètres pharmacocinétiques après administration orale du sulfate de salbutamol encapsulé ou non dans des liposomes.^[139]

Parameters		SBS liposome suspension	Free SBS solution
AUC		4.14±0.88	11.82±0.88
K _e	(1/h)	4.28±0.18	10.21±0.31*
T _{1/2α}	(h)	0.21±0.02	0.31±0.02
T _{1/2β}	(h)	0.83±0.19	0.22±0.01**
T _{1/2γ}	(h)	23.85±19.90	15.71±5.94
AUC _{0-∞}	(ng/ml/h)	81.61±34.88	34.81±8.70
K _e	(1/h)	0.27±0.13	0.75±0.11*
MRT	(h)	28.43±7.60	17.44±2.77
CL _s	(L/h)	1.27±0.77	1.86±1.26*
C _{max}	(ng/ml)	8.59±1.28	12.64±2.12*
T _{max}	(h)	1.26±0.08	0.92±0.21*

II.2.6.2. Amélioration de l'effet thérapeutique et baisse de la toxicité

Klemens *et al.*^[140] ont mené une étude sur le traitement de l'infection au Complexe Mycobactérium Avérum (MAC) sur des souris beiges à base de gentamicine encapsulée dans un liposome. Ils se sont intéressés à l'efficacité que pouvait avoir la gentamicine, un antibiotique, dans ce type d'infection et ont comparé l'administration intraveineuse de gentamicine seule par rapport à sa forme encapsulée dans un liposome. Les comparaisons qui ont été faites sont les suivantes :

- Comparaison de l'efficacité entre la gentamicine libre et encapsulée dans les liposomes sur l'infection au MAC (**figure 31**).
- Comparaison de la gentamicine libre par rapport à la gentamicine liposomal sur la prophylaxie de l'infection au MAC (**figure 32**).
- Comparaison de l'efficacité d'une double administration hebdomadaire de gentamicine libre par rapport à sa forme encapsulée sur la diminution de l'infection au MAC (**figure 33**).

Dans la **figure 31** nous remarquons que la gentamicine permet bien de réduire le nombre de cellules viables dans les trois organes étudiés que sont la rate, les poumons et le foie par rapport à une absence de traitement. Cependant, nous remarquons que l'encapsulation de la gentamicine dans un liposome diminue encore plus significativement le nombre de cellules viables dans le foie et la rate mais pas dans les poumons.

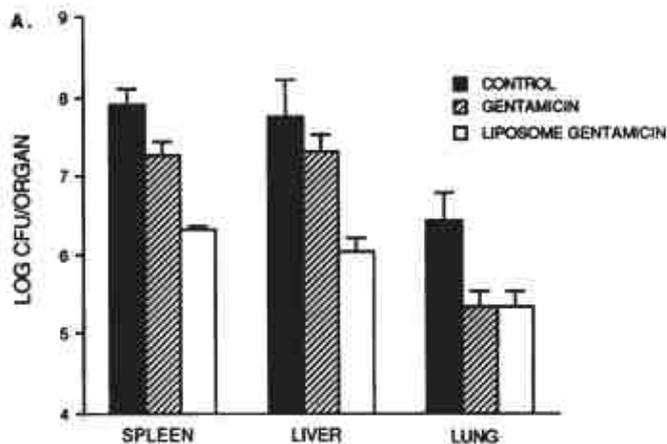


Figure 31 : Activités comparatives de la gentamicine non encapsulé et de la gentamicine encapsulée dans des liposomes contre l'infection au MAC.^[140]

Concernant la prophylaxie (**figure 32**), nous remarquons que la gentamicine seul et la gentamicine liposomale réduisent le nombre de cellules viables dans chaque organe par rapport à l'absence de traitement mais encore une fois la gentamicine liposomale est plus active que le médicament seul.

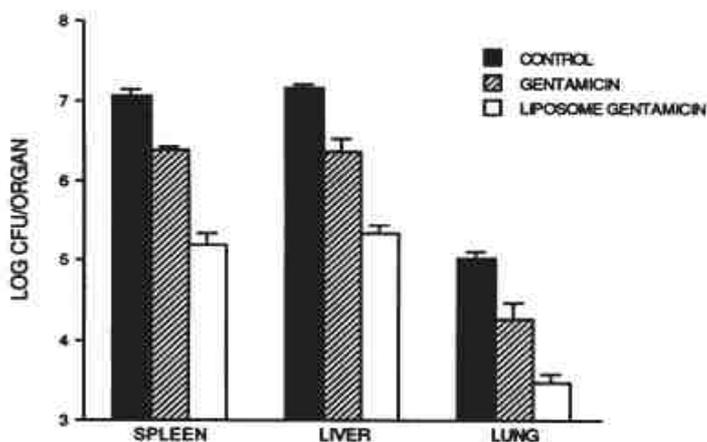


Figure 32 : Comparaison de la prophylaxie par la gentamicine non encapsulée et la gentamicine encapsulée dans un liposome contre l'infection au MAC.^[140]

Pour finir, la double administration de médicament (c'est-à-dire 2 administrations par semaine) révèle que la gentamicine libre réduit considérablement les cellules cancéreuses dans la rate, le foie et les

poumons par rapport à l'absence de traitement cependant la gentamicine liposomale est plus active que le médicament libre contre les organismes de la rate et du foie (**figure 33**).

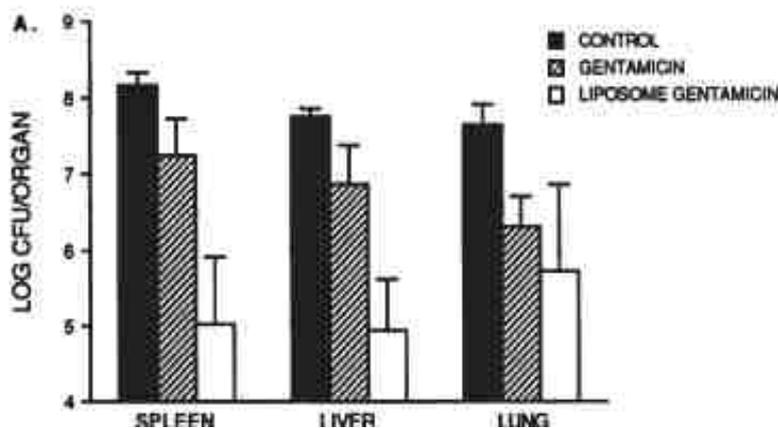


Figure 33 : Comparaison de l'efficacité d'une double administration hebdomadaire de gentamicine non encapsulé dans un liposome par rapport à sa forme encapsulé sur la diminution de l'infection au MAC.^[140]

Ainsi, à travers cette publication, les auteurs ont pu montrer que la formulation liposomale est bien plus efficace que le médicament seul et cela quelle que soit l'étude menée. Mettant ainsi en avant l'intérêt que peut apporter l'encapsulation des médicaments au sein des liposomes sur l'efficacité thérapeutique du médicament.

De nombreuses recherches ont été faites sur la leucémie aigüe myéloblastique (LAM) et plus particulièrement sur la découverte d'une potentielle thérapie. Pour rappel, la LAM est une maladie hétérogène caractérisée par l'expansion de précurseurs myéloïdes malins dans le sang et la moelle osseuse ce qui empêche la production des autres types cellulaires et conduit alors à une anémie et une thrombocytopenie^[141]. Depuis plus de 40 ans, le traitement d'induction de la LAM reposait sur l'administration « 7+3 »^[142] (qui correspond à une perfusion en continu pendant 7 jours de cytarabine avec trois injections une fois par jour d'une anthracycline) d'une combinaison de 2 médicaments, la cytarabine et une anthracycline (famille de médicament anticancéreux d'origine naturelle). Cependant, il a été montré que cette stratégie chez les patients plus âgés et les patients déjà atteints de LAM était associée à des taux de rémission plus faibles, à une mortalité précoce accrue et à des taux de rechute plus élevés que chez les sujets adultes jeunes et les patients âgés récemment atteints par la LAM^[143]. Il était donc urgent de trouver une solution à cela. Une formulation liposomale à double médicament, le CPX 351, (cytarabine / daunorubicine, rapport molaire 5/1) a su se démarquer tant dans sa biocompatibilité avec l'organisme que sa nette amélioration d'absorption et d'efficacité antitumorale par

rapport à la forme libre non encapsulé de cette association^[144]. Actuellement cette formule liposomale a obtenu une autorisation de mise sur le marché (AMM) sous le nom commerciale Vyxeos® dans les « leucémies aiguës myéloïdes avec anomalies associées aux myélodysplasies (LAM-MRC) ou secondaires à un traitement (LAM-t) »^[145].

Ici, nous allons revenir sur l'étude qui a été menée par Lim *et al.*^[146] dans laquelle ils se sont intéressés à comparer l'efficacité thérapeutique du CPX-351 sur un modèle de leucémie CCRF-CEM chez des souris Rag2-M par rapport à la forme libre de cytarabine/daunorubicine.

Les auteurs ont observé que le CPX-351 réduisait nettement les populations totales de cellules de la moelle osseuse et de cellules leucémiques au 7^{ème} jour après le traitement (**figure 34**). A partir du 14^{ème} jour, le nombre de cellules leucémiques a été réduit en dessous des niveaux de détection par cytométrie en flux et la leucémie est ainsi restée indétectable chez les souris traitées avec CPX-351 pendant les 6 semaines suivantes. La re croissance des cellules CCRF-CEM dans la moelle osseuse a été observée 56 jours après le début du traitement au CPX-351 soit 77 jours après l'inoculation de CCRF-CEM. À ce moment, les cellules leucémiques représentent près de 26 % du contenu total des cellules de la moelle osseuse.

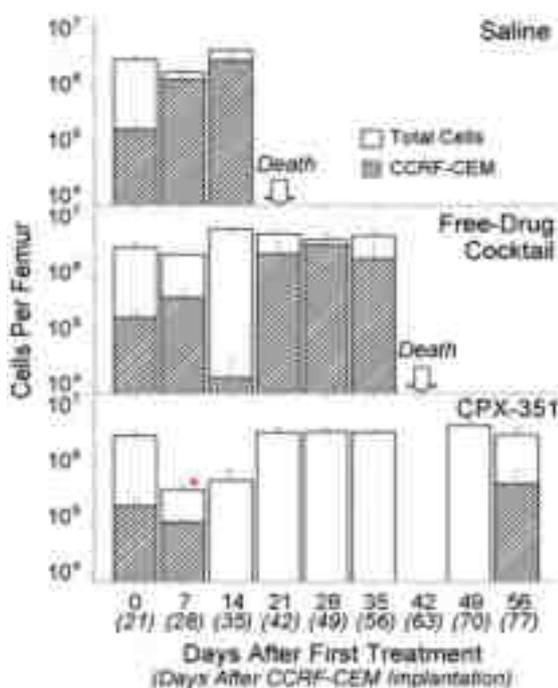


Figure 34 : Comparaison de l'efficacité pharmacologique des traitements sur le taux de cellules leucémiques CCRF-CEM présent dans la moelle osseuse du fémur des souris Rag 2-M.^[146]

En comparaison, 7 jours après le début du traitement par la combinaison de cytarabine/daunorubicine non encapsulé (nommé Free-Drug Cocktail dans la **figure 34**), les auteurs ont observé une réduction

partielle de la population totale de cellules de la moelle osseuse avec environ 17 % de cellules leucémiques CCRF-CEM présentes. Au 14^{ème} jour, la plus grande part de cellules dans la moelle osseuse sont des cellules non leucémiques. Cependant, les cellules leucémiques repeuplent la moelle osseuse chez les souris au 21^{ème} jour après le traitement, ce qui est marqué par une augmentation de la quantité de cellules CCRF-CEM à 41 % de la population totale de moelle osseuse. Aux 28^{ème} et 35^{ème} jours, la charge de leucémie CCRF-CEM dans la moelle osseuse représente près de 82 % des cellules totales présentes et aboutit à la mort des souris au 42^{ème} jour.

La comparaison est encore plus flagrante lorsque l'on s'intéresse à l'histopathologie des coupes transversales du fémur (**figure 35**).

On remarque une absence de leucémie au 14^{ème} jour dans la moelle osseuse des souris traitées par le CPX-351. La cavité de la moelle osseuse chez ces souris est plus hypocellulaire que chez les souris traitées par la forme libre et est occupée par de nombreux adipocytes.

Au 28^{ème} après le traitement, on observe alors une distribution normale des cellules de la moelle osseuse non porteuses de tumeur au niveau des adipocytes chez les souris CPX-351.

Cela est important puisque les adipocytes sont considérés comme essentiels à la régénération hématopoïétique chez les patients atteints de LAM après une chimiothérapie.

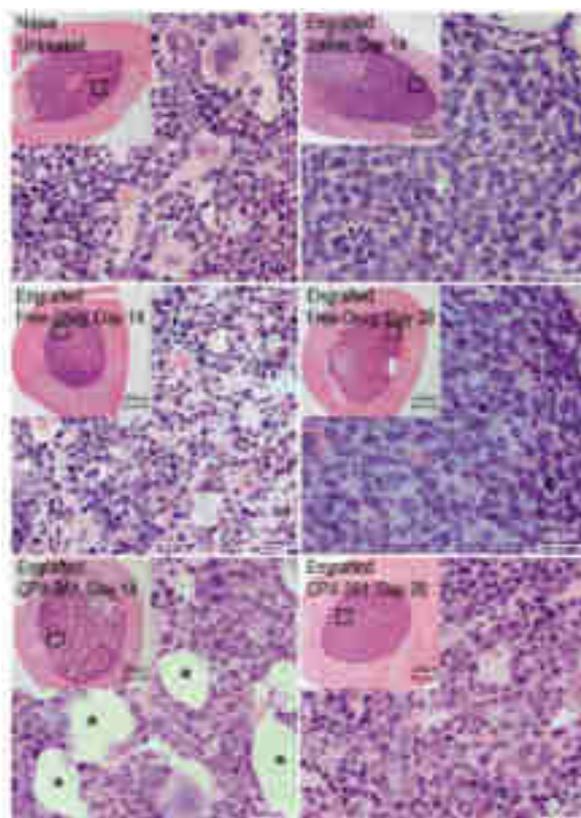


Figure 35 : Histopathologie des coupes transversales du fémur chez les souris Rag 2-M. [146]

Ainsi les auteurs ont pu montrer que l'encapsulation dans un liposomes de cytarabine et de daunorubicine augmente considérablement leur efficacité thérapeutique avec une diminution plus rapide des cellules leucémiques et un retard dans la croissance de ces dernières par rapport à la forme non encapsulée. Ils ont également pu montrer que la diminution considérable de cellules leucémiques par le CPX-351 favorise la présence d'adipocyte qui est essentiel à la régénération hématopoïétique et donc la formation de cellules saines.

Une autre étude qui compare cette fois-ci la toxicité des médicaments encapsulée dans un liposome par rapport à leur forme non encapsulée est celle qui a été menée par Li *et al.*^[147]. Dans cette étude, les auteurs se sont intéressés à l'effet d'une formulation liposomale de mitoxantrone, plm60-s, sur une tumeur ascitique L1210 chez des souris et plus précisément sur l'intérêt qu'apporte une telle formulation par rapport à la mitoxantrone non encapsulé (Free MIT) sur le plan thérapeutique et toxique (**tableau 7**).

Tableau 7 : Efficacité antitumorale des formulations de mitoxantrone dans le modèle de tumeur ascitique L1210. ^[147]

Treatment group	Dose (mg/kg)	No. of survivors (day 60)	Dosage administration day	Survival (%)	Mean survival time* (day)	Median survival time* (day)
Control	0	0-13	1	0.00	9.62 ± 0.40	8 ± 0.25
Free MIT	2	1-12	1	8.33	20.17 ± 3.77	14.00 ± 1.35
Free MIT	4	5-10	1	27.78	37.22 ± 3.54	31.00 ± 1.05
Free MIT	6	1-12	1	8.33	26.58 ± 3.68	25.00 ± 3.46
Plm60-s	2	3-12	1	25.00	36.42 ± 4.06	29.00 ± 1.71
Plm60-s	4	13-17	1	64.71	50.29 ± 3.53	n.a.
Plm60-s	6	7-12	1	58.33	48.00 ± 4.38	n.a.
Plm60-s	8	8-12	1	66.67	53.00 ± 3.17	n.a.

Les souris ont d'abord été inoculées avec des cellules L1210 par voie intrapéritonéale puis 24h plus tard, le traitement a été administré par voie intraveineuse. L'effet du traitement a été évalué par l'analyse du temps de survie. Ici, nous remarquons que le plm60-s était plus efficace que le Free MIT comme l'indique une prolongation du temps de survie moyen des souris et donc une proportion plus élevée d'animaux guéris lorsque la même dose est utilisée. Le Free MIT a montré un effet thérapeutique optimal à une dose de 4 mg/kg cependant on observe une baisse de survie des souris lorsque l'on augmente la dose à 6 mg/kg. Cela pourrait être lié aux toxicités associées à la mitoxantrone. En comparaison, la dose optimale pour le plm60-s dans ce modèle est également de 4 mg/kg cependant on remarque qu'ici une dose plus élevée n'induit pas une baisse du taux de survie des souris montrant alors que le plm60-s est bien tolérée en raison des toxicités réduites de celui-ci. Ainsi comme indiqué dans ce tableau, lorsque le niveau de dose varie de 4 à 8 mg/kg, les effets antinéoplasiques sont presque équivalents, avec environ 60 % de souris vivantes à long terme et une durée de survie moyenne proche des 50 jours. Ces données

prouvent qu'une fois encore l'encapsulation des médicaments au sein d'un liposome réduit considérablement la toxicité des médicaments libre.

II.2.7. Conclusion

Les liposomes sont des structures sphériques composées de lipides, qui peuvent être utilisées pour encapsuler et transporter des médicaments dans le corps. Leur utilisation dans la formulation des médicaments est de plus en plus courante, en raison de leurs propriétés uniques qui permettent d'améliorer l'efficacité et la sécurité des traitements.

Nous avons vu que les liposomes offraient plusieurs avantages pour la formulation des médicaments. En effet, ils peuvent protéger les médicaments de la dégradation et de l'élimination prématurée, ce qui permet de prolonger leur durée d'action dans le corps. Ils peuvent être conçus pour cibler des zones spécifiques du corps, permettant une administration ciblée des médicaments et réduisant ainsi les effets secondaires indésirables. Ils peuvent améliorer la solubilité des médicaments dans l'eau, ce qui facilite leur administration et leur distribution dans le corps. Enfin, les liposomes peuvent être utilisés pour encapsuler différents types de médicaments, tels que des agents chimiothérapeutiques, des peptides, des protéines, des vaccins, des acides nucléiques.

Même s'ils présentent de nombreux avantages, les liposomes présentent également certaines limitations dans la formulation des médicaments. Tout d'abord, les liposomes peuvent être instables dans le corps, ce qui peut limiter leur durée de vie et leur efficacité. De plus, nous avons vu que les liposomes peuvent provoquer une réponse immunitaire chez certains patients, ce qui peut limiter leurs utilisations. Enfin, la production de liposomes est souvent coûteuse, ce qui peut limiter leurs utilisations à grande échelle.

Malgré tout, les liposomes représentent une technologie prometteuse pour la formulation des médicaments, offrant plusieurs avantages pour l'efficacité et la sécurité des traitements. Avec des recherches et des développements continus, l'utilisation des liposomes dans la formulation des médicaments devrait continuer à croître dans les années à venir.

II.3. Nanoémulsion

Tout comme les liposomes, les nanoémulsions sont des systèmes d'administrations de médicaments qui ont été développés pour surmonter les principaux inconvénients associés aux systèmes d'administration

de médicaments conventionnels. En effet 40% des médicaments sont de nature hydrophobe ce qui entraîne des problèmes de faible solubilité aqueuse, de faible biodisponibilité, des profils d'absorption incertains, des variations de dose, de larges variabilités intra et inter-sujets ce qui se traduit par une faible efficacité thérapeutique et un risque augmenter de toxicité.

De par leur formulation à base de tensioactifs et de lipides^[148], les nanoémulsions sont capables d'interagir avec les barrières naturelles de l'organisme et se sont vu devenir un outil prometteur pour administrer et améliorer la biodisponibilité des médicaments hydrophobes en augmentant leur stabilité tout en réduisant leurs effets secondaires.

Aujourd'hui de nombreux médicaments à base de nanoémulsion ont été commercialisés avec des profils d'administration et de thérapies variés. Nous pouvons citer par exemple le Néoral[®], qui est une nanoémulsion non ionique de cyclosporine administrée par voie orale et utilisée comme agent immunosuppresseur^[149] ou le Diprivan[®], qui est une nanoémulsion de propofol administrée par voie intraveineuse et utilisée comme anesthésique^[150].

Nous verrons dans cette partie, l'avantage qu'apporte un tel système dans la formulation des médicaments mais également les défis en termes de formulation auxquels sont soumises les nanoémulsions et nous verrons comment y faire face.

II.3.1. Composition et Types de nanoémulsions

II.3.1.1. Définition

Les nanoémulsions sont une dispersion de gouttelette d'un liquide dans un autre liquide, non miscible entre eux, stabilisé par un tensioactif. Elles sont constituées de très petites gouttelettes d'émulsions dont le diamètre atteint est généralement inférieur à 300 nm. Ces systèmes sont thermodynamiquement instables, mais cinétiquement stables puisque leur cinétique de déstabilisation est très lente. La maturation d'Ostwald étant le principal facteur de leur instabilité^{[151][152]}.

Les nanoémulsions sont généralement composées d'huile, d'eau et de tensioactif (**figure 36**). Le tensioactif joue un rôle primordial dans la formation des gouttelettes puisqu'il permet de diminuer la tension interfaciale entre les deux phases et favorise ainsi la stabilisation de la nanoémulsion grâce aux interactions répulsives et à l'encombrement stérique^[154].

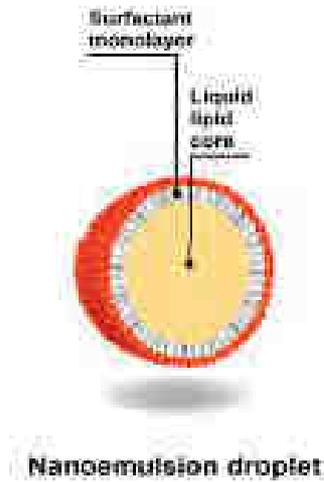


Figure 36 : Structure d'une nanoémulsion.^[153]

II.3.1.2. Type de nanoémulsions

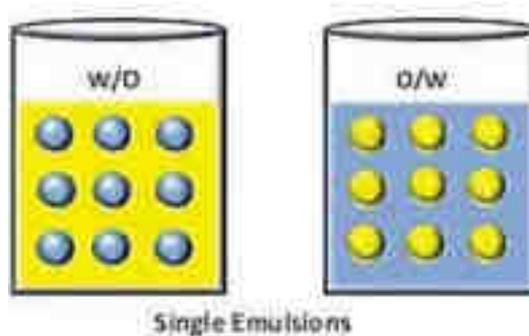


Figure 37 : Classification des émulsions simples.^[157]

Les nanoémulsions les plus courantes sont les dispersions d'huile dans eau (H/E) et eau dans huile (E/H)^[155]. Ce sont des émulsions simples. Dans les H/E, ce sont les gouttelettes d'huile qui sont dispersées dans l'eau tandis que dans les E/H ce sont les gouttelettes d'eau qui sont dispersées dans l'huile^[156] (**figure 37**).

Les gouttelettes dans les nanoémulsions H/E sont généralement stabilisées par un tensioactif hydrophile alors que dans les nanoémulsions E/H les gouttelettes sont stabilisées par un tensioactif lipophile. Les émulsions huile-dans-eau sont idéales pour administrer des médicaments hydrophobes chargés dans le noyau d'huile.

Il est important de noter que la nature du tensioactif utilisé joue un rôle essentiel dans la détermination des propriétés des nanoémulsions et doit donc être sélectionné spécifiquement en fonction de l'objectif thérapeutique^[158].

II.3.1.3. Composition et intérêt des composants

Les composants des systèmes de nanoémulsion comprennent les huiles, les lipides, les tensioactifs, les co-solvants solubles dans l'eau et l'eau.

II.3.1.3.1. Les Huiles et les Lipides

Le choix de la phase huileuse dispersée constitue une étape critique dans la formulation des nanoémulsions puisqu'elle doit à la fois répondre aux exigences de la formulation (taille de gouttelettes et stabilité physique du système) et aux exigences de l'encapsulation (solubilité et stabilité du principe actif). Les huiles qui vont constituer la phase huileuse doivent être essentiellement composées de triglycérides (soit à longue chaîne, soit à chaîne moyenne ou soit à chaîne courte). On retrouve l'huile de soja, l'huile d'olive, l'huile de noix de coco, l'huile de sésame, d'huile de clou de girofle, l'huile de grenade et l'huile de carthame^{[159][160][161]}. Cependant, ces huiles d'origine végétale, ont souvent un pouvoir solubilisant limité et sont donc parfois remplacées par des huiles synthétiques telles que la triacétine, le sefsol-218 (**figure 38**) ou bien le labrafac^{[163][164]}. Ces huiles synthétiques ne sont pas forcément constituées de triglycérides.



Figure 38 : Structure chimique du sefsol-218.^[162]

II.3.1.3.2. Les agents émulsifiants

En raison d'une énergie libre à l'interface liquide-liquide, il est nécessaire d'utiliser une classe d'agent émulsifiant afin de réduire la tension interfaciale et ainsi rendre possible l'obtention et la stabilisation des nanoémulsions. En plus de ses propriétés émulsifiantes, les émulsifiants doivent être non toxiques et leur stabilité chimique doit être compatible avec le médicament.

Les agents émulsifiants peuvent être classés en deux groupes différents : les tensioactifs à faible masse molaire et les agents émulsifiants macromoléculaires. Il existe également un autre moyen de stabiliser les nanoémulsions, c'est que l'on nomme la stabilisation de Pickering par de fines particules solides.

Les tensioactifs sont des molécules amphiphiles qui stabilisent les nanoémulsions en réduisant la tension interfaciale et empêchent l'agrégation des gouttelettes. Ils sont constitués d'une tête hydrophile (polaire) et d'une chaîne lipophile (apolaire). Ils ont tendance à s'adsorber rapidement à l'interface huile-eau et à fournir une stabilisation stérique ou électrostatique. Ils sont classés selon la nature de leur tête polaire. On distingue alors les tensioactifs ioniques (anioniques, cationiques ou amphotères) et les tensioactifs non ioniques^[165] (**figure 39**).

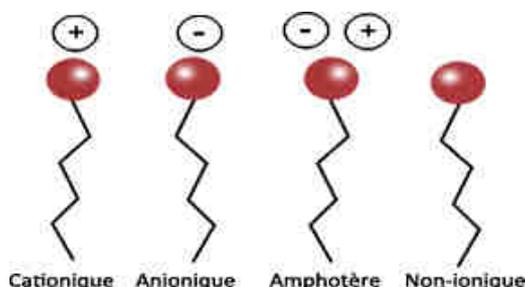


Figure 39 : Les différents types de tensioactifs.^[166]

Un tensioactif couramment utilisé dans les nanoémulsions est la lécithine dérivée du jaune d'œuf ou du soja. Des tensioactifs ioniques comme le désoxycholate de sodium et le cremophor EL ont été utilisés dans des formulations médicamenteuses à usage parentéral et commercialisés^[167]. Les Tween et les Span 20, 40, 60 et 80 sont des tensioactifs anioniques régulièrement utilisés^[168].

Dans les agents émulsifiants macromoléculaires nous retrouvons essentiellement les copolymères à bloc tels que le Poloxamer^[169], les copolymères séquencés contenant du PEG^[170] et les protéines comme la caséine^[171], la β lactoglobuline^[172] et les polysaccharides^[173].

Les nanoémulsions peuvent être aussi stabilisées avec de fines particules solides (par exemple de la silice), c'est la stabilisation de Pickering. L'idée ici est de faire adsorber les particules fines solides à l'interface liquide-liquide grâce à leur mouillabilité afin de créer un film interfacial rigide résistant à la coalescence des gouttelettes par un effet stérique^[175] (**figure 40**).

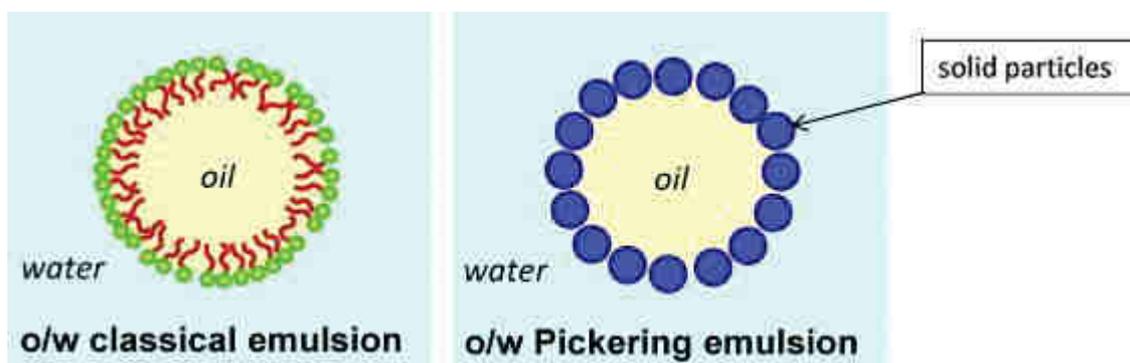


Figure 40 : Schéma d'une émulsion de Pickering et d'une émulsion classique.^[174]

Ainsi, pour être utilisé, l'agent émulsifiant doit être capable de réduire la tension superficielle, doit être adsorbé rapidement pour former un film complet et cohérent afin d'empêcher la coalescence, doit aider à créer un potentiel zêta et une viscosité adéquate dans le système afin de conférer une stabilité optimale, et doit être efficace à une concentration assez faible.

II.3.2. Mécanisme de déstabilisation des nanoémulsions

Nous avons vu que les nanoémulsions sont des systèmes thermodynamiquement instables dus à la présence d'interactions moléculaires défavorables qui se produisent à l'interface huile-eau, ce qui va se traduire par une décomposition des nanoémulsions au fil du temps. Dans un but thérapeutique, il est essentiel que la nanoémulsion reste à la fois physiquement et chimiquement stable afin d'assurer l'administration du médicament dans les bonnes conditions et cela quelles que soient les difficultés rencontrées.

Il existe de nombreux mécanismes de déstabilisation qui sont à l'origine de l'instabilité réversible et irréversible des émulsions en général tels que^[176] :

- Le mûrissement d'Ostwald
- La coalescence
- La floculation
- La séparation gravitationnelle (crémage et sédimentation)

Les mécanismes de déstabilisation irréversibles, ont pour incidence de changer la taille des gouttelettes et il devient alors impossible de restaurer l'état initial du système. A contrario, dans les mécanismes de déstabilisation réversibles, ce n'est pas la taille des gouttelettes qui changent mais leur distribution spatiale ce qui rend les émulsions moins homogènes. Néanmoins, les émulsions peuvent retrouver leur homogénéité en appliquant une simple agitation.

Il est important de comprendre que dans le cas précis des nanoémulsions, il ne peut y avoir qu'un seul mécanisme de déstabilisation, le mûrissement d'Ostwald. Donc nous ne décrivons que celui-ci.

II.3.2.1. Le mûrissement d'Ostwald

Le mûrissement d'Ostwald est un phénomène diffusif, qui conduit à une croissance de la taille des gouttelettes ce qui conduit au grossissement de l'émulsion et finalement à la séparation des phases^[177].

Dans la maturation d'Ostwald, les grosses gouttelettes se développent aux dépens des plus petites (**figure 41**).

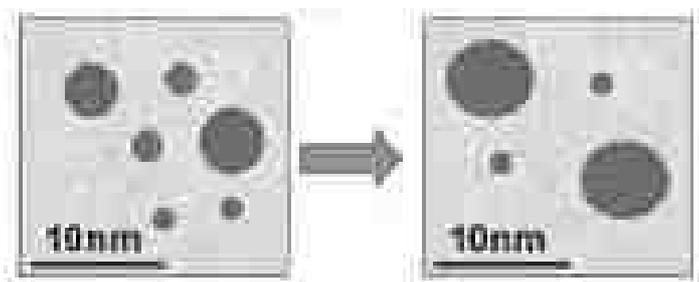


Figure 41 : Représentation du mécanisme de maturation d'Ostwald.^[178]

Ce mécanisme s'explique par la présence d'une polydispersité de la taille des gouttelettes dans le système et de la pression de Laplace. En effet, la pression de Laplace est définie comme étant la différence de pression entre l'intérieur et l'extérieur de la gouttelette^[179] (**équation 2**).

$$\Delta P = \frac{2\gamma}{r}$$

Équation 1 : Equation de la Pression de Laplace.^[180]

Cette équation explique que plus les gouttelettes sont petites et plus la pression de Laplace est importante puisque la solubilité de la phase dispersée dans les petites gouttelettes est plus importante que dans les grosses (**figure 42**). Cela a pour conséquence d'entraîner la disparition complète des petites gouttelettes au profit des plus grosses.

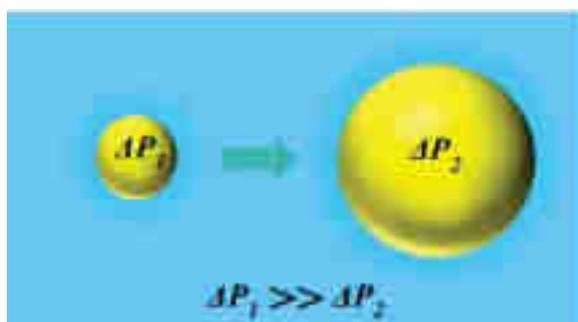


Figure 42 : Illustration du phénomène de mûrissement d'Ostwald dans une émulsion

H/E.^[176]

La force thermodynamique du mûrissement d'Ostwald réside dans le fait que comme la taille des gouttelettes diminuent, la solubilité dans l'eau des molécules d'huile augmente ce qui implique que la concentration en huile au voisinage des petites gouttelettes est plus élevée qu'au voisinage des plus

grosses gouttelettes or comme il y a l'existence d'un gradient de concentration les molécules d'huiles vont diffuser des petites gouttelettes aux grosses gouttelettes. Ce phénomène provoque le rétrécissement des plus petites gouttelettes et la croissance des plus grosses. En théorie, le mûrissement d'Ostwald va continuer jusqu'à la formation d'une seule goutte et donc le déphasage total des nanoémulsions.

Il existe plusieurs manières d'empêcher le mûrissement d'Ostwald comme par exemple l'utilisation d'une phase huileuse ayant une faible solubilité dans l'eau c'est-à-dire en utilisant préférentiellement des triglycérides à chaîne longue^[181]. Un autre exemple est l'ajout de composé hydrophobe dans la phase huileuse^[182] ou l'utilisation d'un mélange de deux huiles de solubilité différentes dans la phase aqueuse^[152]. Une autre solution serait d'ajouter des polymères qui vont fortement s'adsorbés à l'interface^[183].

II.3.3. Méthodes de productions des nanoémulsions

Il existe deux grandes catégories de méthodes de productions des nanoémulsions :

- Les Méthodes à Hautes Energies
- Les Méthodes à Basses Energies

II.3.3.1. Les méthodes à Hautes Energies

Dans le cas des méthodes à haute énergie, on utilise des appareils mécaniques qui vont désorganiser et mélanger les phases huileuse et aqueuse et permettre la formation de très fines gouttes dispersées dans l'eau. Pour ce faire, il faut une force intense qui va diviser la phase huileuse en petites gouttes dispersées dans la phase aqueuse. On utilise pour cela l'homogénéisateur et le microfluidiseur à haute pression (HP) et les appareils à ultrasons^[184]. Cependant, ces procédés nécessitent un matériel spécifique coûteux et utilisent une importante quantité d'énergie à l'échelle industrielle.

II.3.3.1.1. Homogénéisation à Haute Pression (HPH)

Dans cette méthode, on utilise un homogénéisateur à valve haute pression pour produire des gouttelettes ultrafines. Cet homogénéisateur est principalement constitué de moteurs et de pompes qui sont utilisées pour pressuriser le débit^[184] (**figure 43**).

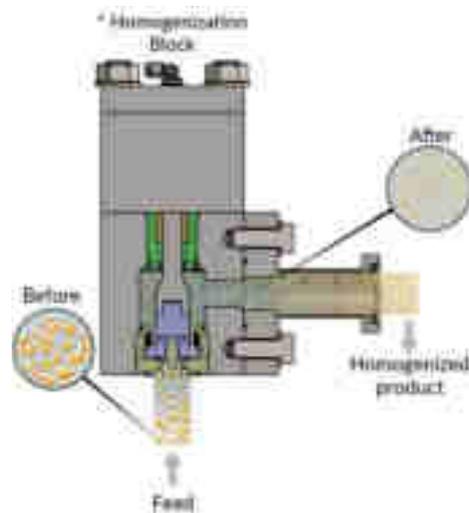


Figure 43 : Principe de fonctionnement d'un homogénéisateur à Haute Pression.^[185]

On réalise d'abord une pré-émulsion grossière qui sera ensuite introduite dans la vanne de l'homogénéisateur à haute pression à l'aide d'un ensemble de pompes à piston. Une fois arrivée dans la vanne, la pré-émulsion s'approche du forçage où elle sera redirigée et forcée radialement à travers l'espace formé entre le siège et le forçage. Une fois traversées la vanne et grâce à la contrainte de cisaillement très élevée, les gouttes se fragmentent en gouttelettes ultrafines ce qui forme alors une nanoémulsion homogène.

La taille des gouttelettes obtenues par cette méthode peut être modulée en contrôlant la pression d'homogénéisation et le cycle de passages de l'échantillon dans l'homogénéisateur^[152].

La force de cette méthode réside dans le fait qu'elle est adaptée pour une production continue et elle permet une production élevée de stress locaux. Cela permet une production rentable et efficace. Cependant, il faut garder en mémoire que la taille des gouttes à l'état d'équilibre n'est pas obtenue après un seul passage dans l'homogénéisateur. En effet, il faut généralement plusieurs passages à travers la vanne de l'homogénéisateur et donc plusieurs événements de rupture pour obtenir la taille de gouttelettes attendue. Cela nécessite donc de devoir réaliser plusieurs passages dans la vanne afin d'obtenir la taille de gouttelettes attendue augmentant alors le coût de production.

II.3.3.1.2. Microfluidisation à Haute pression (MHP)

Dans cette méthode, on utilise un microfluidiseur à haute pression pour produire des gouttelettes ultrafines^[184] (**figure 44**). Ce procédé peut être utilisé pour la production en continu de nanoémulsion.

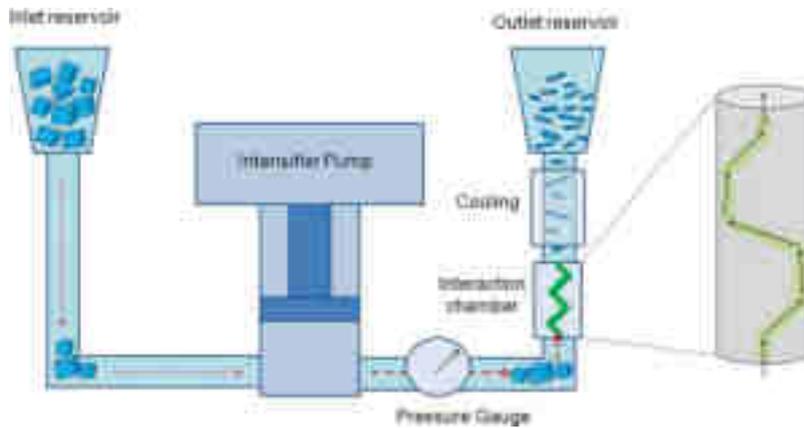


Figure 44 : Principe de fonctionnement d'un microfluidiseur.^[186]

Deux fluides non miscibles entre eux traversent des microcanaux qui ont des diamètres de $75\mu\text{m}$ au minimum, sous haute pression ce qui va engendrer grâce au phénomène de cisaillement, une émulsion grossière. Puis de façon identique à la HPH, la pré-émulsion peut être injectée plusieurs fois dans la chambre d'interaction afin d'obtenir la taille de gouttelettes souhaitée. La taille des gouttelettes sera alors contrôlée par la taille des canaux et la stabilité du régime d'émulsification dépendra du mouillage des parois du canal par les composants de l'émulsion.

II.3.3.1.3. Sonication

Cette méthode, qui est la plus communément utilisée dans l'industrie, utilise des ondes ultrasoniques à une fréquence élevée ($> 20\text{ MHz}$) pour former des émulsions très fines^[184]. L'appareil se compose d'une sonde à ultrasons contenant un cristal piézo-électrique ou magnétostrictif en résonance qui convertit les ondes électriques entrant en ondes ultrasoniques en exerçant une pression acoustique oscillante autour de la pression hydrostatique déjà exercée sur le système (**figure 45**).

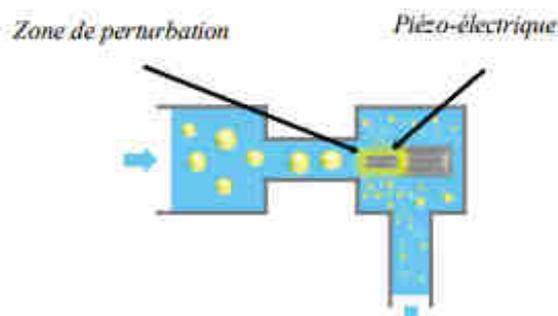


Figure 45 : Principe de fonctionnement d'un homogénéisateur à ultrasons.^[176]

La cavitation acoustique générée par une sonication intense crée des conditions denses en énergie telles que des différences de pression et de température élevées ainsi que des forces de cisaillement et des

turbulences élevées. Ces forces générées par ultrasons brisent les particules et les gouttelettes et forment alors des nanoémulsion très fines.

La taille des gouttelettes obtenue est modulée par le temps, l'énergie de sonication et la concentration en agent émulsionnant.

II.3.3.1.4. Emulsification par membrane

Ce mécanisme permet d'obtenir de très petites gouttelettes de moins de 200 nm. Les gouttelettes sont forcées à traverser les pores d'une membrane très fine et dont la taille a été prédéfinie^[187]. Le déplacement des gouttelettes se produit grâce à un gradient de pression, en faisant couler la phase continue de manière tangentielle à la membrane (**figure 46**).

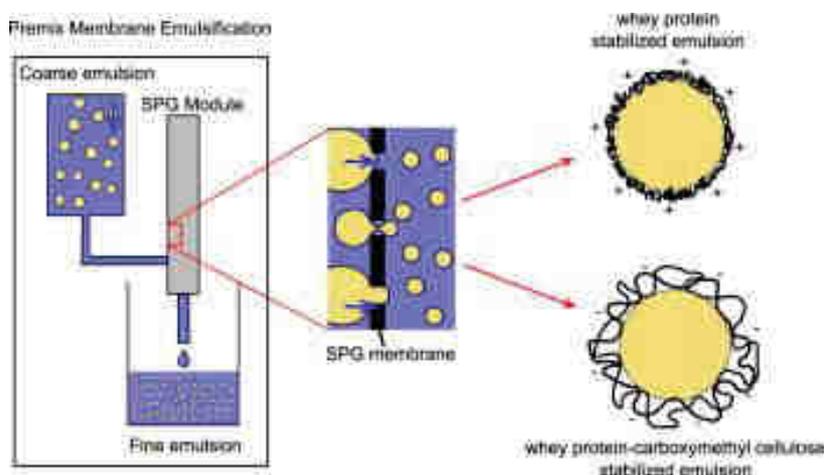


Figure 46 : Principe de fonctionnement de l'émulsification par membrane.^[188]

C'est un procédé qui ne nécessite pas une grande quantité de tensioactif ce qui limite les coûts. Cependant, pour être utilisé, il faut considérablement augmenter la température dans le système, ce qui augmente la consommation énergétique. C'est un désavantage considérable. L'alternative consistera à privilégier des techniques ne requérant que peu d'énergie.

II.3.3.2. Les méthodes à basse énergies

Dans les méthodes à basse énergie, les nanoémulsions se forment grâce à la diffusion rapide du tensioactif et/ou des molécules de solvant de la phase dispersée vers la phase continue. Ces méthodes dépendent des propriétés physico-chimiques des tensioactifs, co-tensioactifs et autres excipients présents

dans la préparation. La formation des nanoémulsions par ces méthodes est un processus dynamique et irréversible. De plus, elles sont plus simples à mettre en place que les méthodes à haute énergie et sont moins coûteuses. Dans ces méthodes nous retrouverons l'émulsification spontanée (SE), la température d'inversion de phase (PIT), la composition d'inversion de phase (PIC) et le point d'inversion d'émulsion (EIP) or toutes ces méthodes sont proches d'un point de vue mécanistique, nous ne décrirons donc que les deux premières c'est-à-dire les méthodes SE et PIT^[184].

II.3.3.2.1. L'émulsion spontanée (SE)

Dans cette méthode, les nanoémulsions sont formées spontanément suite au mélange des différents constituants à une température constante^[184].

En effet, lors du mélange des deux phases, le solvant organique et le tensioactif se déplacent vers la phase aqueuse, ce qui va créer une forte perturbation à l'interface et augmenter l'aire interfaciale. Cela va entraîner un effet de bourgeonnement et donc la formation des gouttelettes d'huile. Ce processus est dépendant du temps puisque plus la diffusion se fera rapidement, plus la perturbation sera importante et donc plus facilement se fera la formation des gouttelettes (**figure 47**).

Cette méthode varie en fonction de la composition des phases huileuses et aqueuses, des conditions environnementales (la température, le pH et la force ionique) et bien entendu des conditions du procédé de mélange.

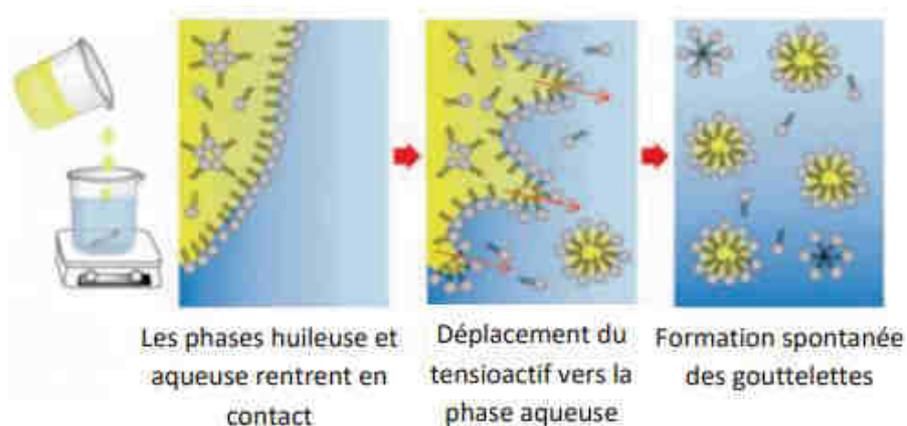


Figure 47 : Représentation schématique du mécanisme de l'émulsification spontanée.^[189]

II.3.3.2.2. La température d'inversion de phase (PIT)

Cette méthode forme des nanoémulsions en exploitant les changements de solubilité aqueuse/huile des tensioactifs en réponse aux fluctuations de température^[184]. Il s'agit de la conversion ordonnée d'une

émulsion E/H en émulsion H/E ou inversement via une phase « bicontinue » intermédiaire. Habituellement, un mélange d'huile, d'eau et de tensioactif est chauffé au-delà d'une température prédéterminée puis refroidi rapidement. Le changement de température de bas en haut conduit à l'ouverture et à l'inversion de la structure interfaciale provoquant une inversion de phase. Lorsque celle-ci est suivie d'un refroidissement rapide, la structure interfaciale se referme en emprisonnant l'huile ou l'eau. Étant donné qu'un apport de chaleur est nécessaire, cette méthode n'est pas adaptée aux médicaments thermosensibles. De plus, une bonne solubilité mutuelle de l'eau, de l'huile, du tensioactif et du médicament est une condition préalable pour faciliter une transition de phase en douceur (**figure 48**).

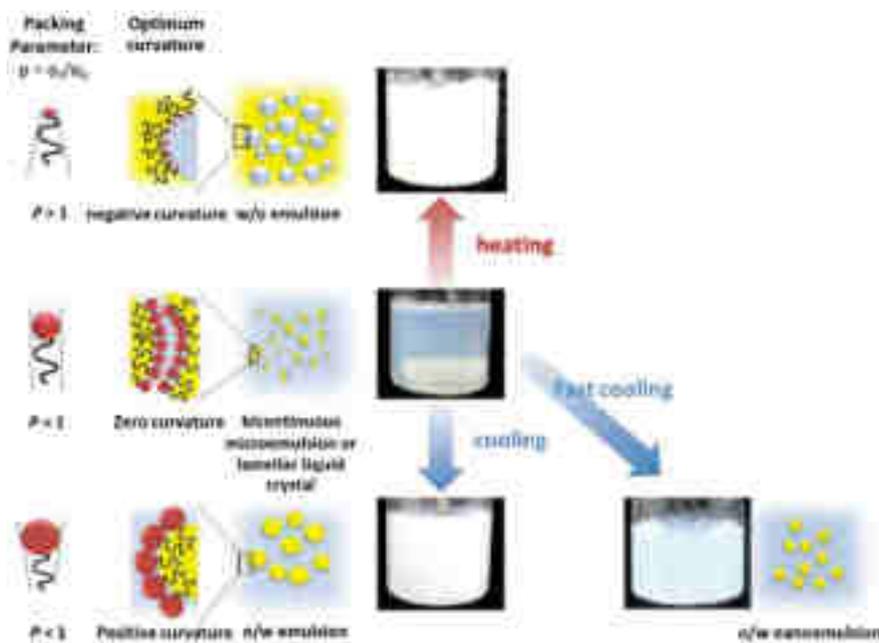


Figure 48 : Préparation de nanoémulsions par la méthode de température d'inversion de phase.^[190]

II.3.4. Avantages et Inconvénient des nanoémulsions

Les nanoémulsions présente de nombreux avantages dans la formulation des médicaments que nous allons lister ci-dessous^[191] :

- Augmente le taux d'absorption du principe actif et élimine sa variabilité d'absorption
- Aide à la solubilisation des médicaments lipophiles
- Augmente la biodisponibilité du médicament.
- Présente une très petite taille.

- Améliore l'efficacité d'un médicament, ce qui permet de réduire la dose totale et de minimiser les effets secondaires.
- Peuvent être utilisés dans différentes voies d'administration (orale, nasale, intraveineuse, pulmonaire...) (**figure 49**).
- Permettent une pénétration rapide et efficace du médicament.
- Aide à masquer le goût et l'odeur de certaines formes médicamenteuses.
- Protège le principe actif de l'hydrolyse et de l'oxydation car il se trouve au sein de la phase huileuse dans une nanoémulsion H/E.
- Moins d'énergie nécessaire à sa formulation que d'autres systèmes de transport et de formulation de médicaments.
- Peuvent être formulés sous diverses formes, telles que des mousses, des crèmes, des liquides (améliore l'observance chez le patient) et des sprays.
- Peuvent à la fois transporter des composés lipophiles et hydrophiles.
- Elles n'endommagent pas les cellules humaines et animales saines et conviennent donc à des fins thérapeutiques humaines et vétérinaires.
- Présentent une surface et une énergie libre élevées.

Tous ces critères font des nanoémulsions un système polyvalent dans la formulation des médicaments cependant elles présentent également des inconvénients qui doivent être pris en compte^[192]:

- Même s'ils sont rarement observés de par leurs très petites tailles, les nanoémulsions peuvent avoir des problèmes de stabilité tels que le crémage, la floculation, la coalescence et la sédimentation qui sont dû aux effets physiologiques.
- Les effets de mûrissement entraînent la déstabilisation des nanoémulsions.
- La stabilité de la nanoémulsion est affectée par le pH et la température.
- Les tensioactifs sont utilisés en grande concentration afin de stabiliser les nanoémulsions ce qui peut conduire à une toxicité.
- La possibilité de libération contrôlée de médicaments à partir de nanoémulsions est limitée en raison de la petite taille et de l'état liquide du support. Pour la plupart des médicaments, une libération rapide du médicament sera observée.

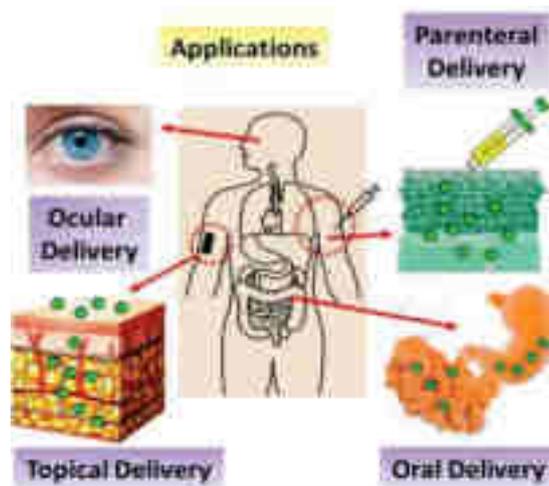


Figure 49 : Les différentes voies d'administrations utilisables pour les nanoémulsions.^[193]

II.3.5. Comparaison entre une formulation de médicament encapsulé dans les nanoémulsions et une formulation de médicament sans nanoémulsions

Tout comme pour les liposomes, un nombre important d'études ont été menées afin de comprendre les nanoémulsions et montrer leur intérêt dans la formulation des médicaments. Il en est ressorti une idée générale :

Les nanoémulsions permettent d'améliorer la solubilité, la biodisponibilité, l'efficacité thérapeutique et la spécificité de ciblage des médicaments et cela quels que soient le type de médicament et la voie empruntée. Nous ne verrons bien entendu pas toutes les études qui ont été menées, mais nous avons fait une sélection de quelques études qui mettent en avant les avantages qu'apporte un tel système par rapport à une formule conventionnelle.

Le candésartan cilexétel (CC), un antihypertenseur, présente une absorption intestinale incomplète en raison de sa faible solubilité aqueuse qui réduit finalement sa biodisponibilité. Gao *et al.*^[194] ont développé une nanoémulsion de candésartan cilexétel (CCN) préparé par une technique d'émulsification-évaporation de solvant modifiée avec l'utilisation de Tween 80 et le Solutol[®] HS-15 comme tensioactif. Ils l'ont administrée par voie orale et ont comparé son absorption orale avec celle du CC libre (correspond à une formulation à base de candésartan non encapsulé dans une nanoémulsion).

Dans chaque milieu de libération (**figure 50**), on remarque que la libération de CCN était un peu plus élevée que celle de la suspension de CC libre, ce qui pourrait être attribué à l'effet solubilisant de la

nanoémulsion. De plus, on constate que la libération de CC à partir de CCN à pH 1,2 était beaucoup plus élevée qu'à pH 6,8, ce qui pourrait résulter de la solubilité plus élevée de CC à des valeurs de pH faibles.

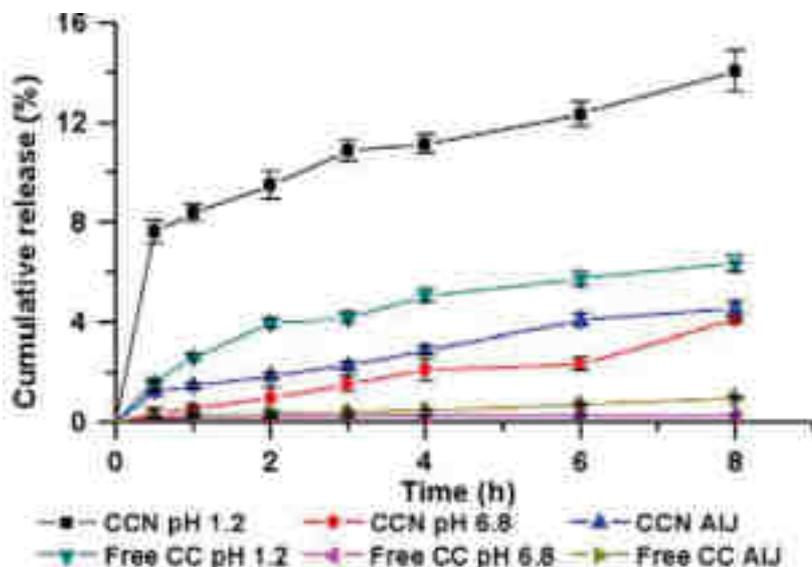


Figure 50 : Profils de libération in vitro du CCN dans le liquide gastrique artificiel (AGJ, HCl 0,1 M, pH 1,2), phosphate (PBS, pH 6,8) et du suc intestinal artificiel (AIJ, pH 6,8, PBS contenant 3 mM de phospholipides et 10 mM de sels biliaires).^[194]

Concernant l'absorption dans l'intestin du rat (**figure 51**), on remarque que la perméabilité effective du CCN était la plus élevée dans le duodénum, puis diminuait significativement dans le jéjunum et l'iléon, mais aucune différence significative n'est survenue entre le jéjunum et l'iléon, ce qui pourrait être attribué aux différentes caractéristiques physiologiques de segments intestinaux sélectionnés.

Par rapport au CC libre, les perméabilités effectives du CCN ont été améliorées de 1,75, 1,93 et 1,84 dans le duodénum, le jéjunum et l'iléon, respectivement.

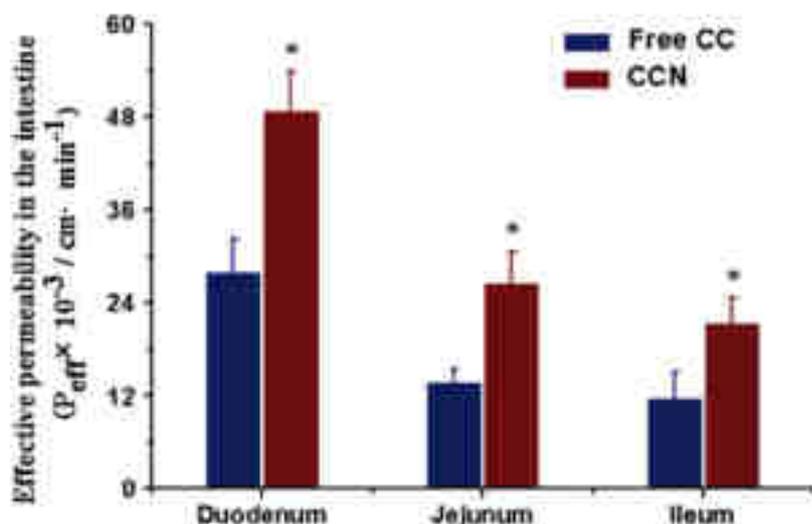


Figure 51 : Perméabilité effective du CCN dans des segments intestinaux de rats comparée à celle d'une solution de CC libre.^[194]

Ainsi, les résultats expérimentaux ont indiqué que le CCN était constitué de gouttelettes de taille nanométrique ($35,5 \pm 5,9$ nm) avec un potentiel zêta négatif ($-6,45 \pm 0,36$ mV), et l'absorption de CCN a été significativement améliorée dans le tractus intestinal total par rapport à la solution de CC libre. De plus, d'après ces auteurs, le CCN pourrait être internalisé dans les entérocytes par la voie d'endocytose médiée par la clathrine, puis transporté dans la circulation systémique via la veine porte et la voie lymphatique.

Les résultats expérimentaux ont montré que l'aire sous la courbe concentration-temps (AUC(0-t)) du candésartan a été améliorée de plus de 10 fois après l'incorporation de CC dans le CCN. Les résultats globaux indiquent que la nanoémulsion était très efficace pour améliorer l'absorption orale du CC insoluble, et le CCN a montré un grand potentiel.

Dans une étude illustrative, Kuo *et al.*^[195] ont fabriqué une nanoémulsion H/E (nommé ASF pour «anti-oxidant synergy») contenant du tocophérol α (AT), δ (DT) ou γ (GT) par homogénéisation à haute pression (à l'aide d'huile de soja, de phosphatidylcholine, de Tween 80). Ces nanoémulsions ont été appliquées par voie topique (lobe de l'oreille droite) sur les souris et ont été comparées à un contrôle (huile de croûton) et aux suspensions conventionnelles, en termes de biodisponibilité et d'activité anti-inflammatoire.

D'après les données du **tableau 8**, on remarque que les nanoémulsions ASF ont considérablement réduit l'épaisseur auriculaire par rapport au témoin, de -57 % pour la nanoémulsion contenant du tocophérol α , de -57 % pour la nanoémulsion contenant du tocophérol δ et de -71% pour la nanoémulsion contenant du tocophérol γ .

Par rapport aux suspensions d'ASF, seule la nanoémulsion d'ASF contenant du tocophérol γ a réduit significativement l'épaisseur auriculaire de -60%. Pour les autres nanoémulsions ASF, les auteurs indiquent que les résultats n'étaient pas statistiquement significatifs.

Tableau 8 : Epaisseur auriculaire chez les souris après 6 h de traitement.^[195]

Treatment	Auricular thickness
Control	0.14 \pm 0.01a
Cream	0.12 \pm 0.02ac
Blank nanoemulsion	0.12 \pm 0.01a
ASF suspension (AT)	0.10 \pm 0.03ab
ASF nanoemulsion (AT)	0.06 \pm 0.01bc
ASF suspension (GT)	0.10 \pm 0.02a
ASF nanoemulsion (GT)	0.04 \pm 0.02b
ASF suspension (DT)	0.10 \pm 0.01ab
ASF nanoemulsion (DT)	0.06 \pm 0.01bc

Concernant les concentrations des cytokines TNF- α et des interleukines IL-1 α dans les tissus auriculaires des souris après 6h de traitement (**tableau 9**), les auteurs ont remarqué qu'elles ont été réduites

significativement chez les souris traitées avec les nanoémulsions ASF par rapport au contrôle. Cependant, on remarque qu'il n'y a pas de différence significative lorsque l'on compare les concentrations en TNF- α et IL-1 α entre les nanoémulsions et les suspensions ASF.

Tableau 9 : Concentration des cytokines TNF- α et des interleukines IL-1 α dans les tissus auriculaires des souris après 6 h de traitement.^[195]

Treatment	TNF- α	IL-1 α
Control	19.1 \pm 3.16a	428.3 \pm 28.3ac
Cream	19.0 \pm 1.49a	485.6 \pm 53.8a
Blank nanoemulsion	18.5 \pm 2.25a	479.5 \pm 43.8a
ASF suspension (AT)	13.3 \pm 1.48ab	318.4 \pm 45.2abc
ASF nanoemulsion (AT)	10.8 \pm 0.59b	421.8 \pm 48.9ac
ASF suspension (GT)	10.0 \pm 1.93b	281.9 \pm 35.5bc
ASF nanoemulsion (GT)	8.9 \pm 0.75b	229.7 \pm 29.9b
ASF suspension (DT)	13.6 \pm 1.32ab	320.9 \pm 29.7abc
ASF nanoemulsion (DT)	11.6 \pm 0.78b	295.6 \pm 32.7bc

Les nanoémulsion ASF ont considérablement améliorées leurs concentrations plasmatiques par rapport au témoin (**tableau 10**). De plus, les nanoémulsions d'ASF contenant du γ ou du δ tocophérol ont augmenté de manière significative leurs concentrations plasmatiques (2,2 fois pour gamma et 2,4 pour delta) par rapport à leur formulation en suspensions.

Tableau 10 : Concentrations plasmatiques d'alpha, gamma et delta-tocophérol (ng/mL) chez les souris 6 heures après traitement.^[195]

Treatment	Alpha tocopherol	Gamma tocopherol	Delta tocopherol
Control (Cream oil)	1426.7 \pm 242.5a	19.2 \pm 30.1a	ND
Cream	1317.1 \pm 470.8a	156.8 \pm 22.3a	ND
Blank nanoemulsion	1030.1 \pm 212.2a	164.6 \pm 35.7a	ND
ASF suspension (AT)	1937.0 \pm 488.9a	177.1 \pm 31.3a	ND
ASF nanoemulsion (AT)	1052.1 \pm 315.9a	132.8 \pm 33.5a	ND
ASF suspension (GT)	1081.4 \pm 306.0a	318.8 \pm 100.3b	ND
ASF nanoemulsion (GT)	1400.1 \pm 304.5a	1152.1 \pm 41.1b	ND
ASF suspension (DT)	1276.1 \pm 32.5a	113.8 \pm 50.5a	108.8 \pm 18.4a
ASF nanoemulsion (DT)	1203.8 \pm 100.6a	125.0 \pm 22.8a	263.1 \pm 35.5b

En conclusion, les nanoémulsions d'ASF contenant du tocophérol α , δ et γ ont des propriétés anti-inflammatoires renforcées et une biodisponibilité accrue par rapport à leurs formes sous suspensions.

Une autre étude très intéressante est celle qui a été réalisé par Asthana *et al.*^[196] dans laquelle ils ont comparé l'activité d'une nanoémulsion H/E d'amphotéricine B enrobé de chitosane (CNC-AmB) par rapport à la nanoémulsion H/E d'amphotéricine B (NET-AmB), à l'amphotéricine B sous formulations Fungizone et AmBisome (formulations qui ne sont pas à base de nanoémulsions), dans la leishmaniose viscérale chez la souris.

Les résultats de cytotoxicité (**figure 52**) ont démontré que la formulation CNC-AmB est considérablement moins cytotoxique que Fungizone et NET-AmB mais seulement légèrement moins cytotoxique que l'AmBisome.

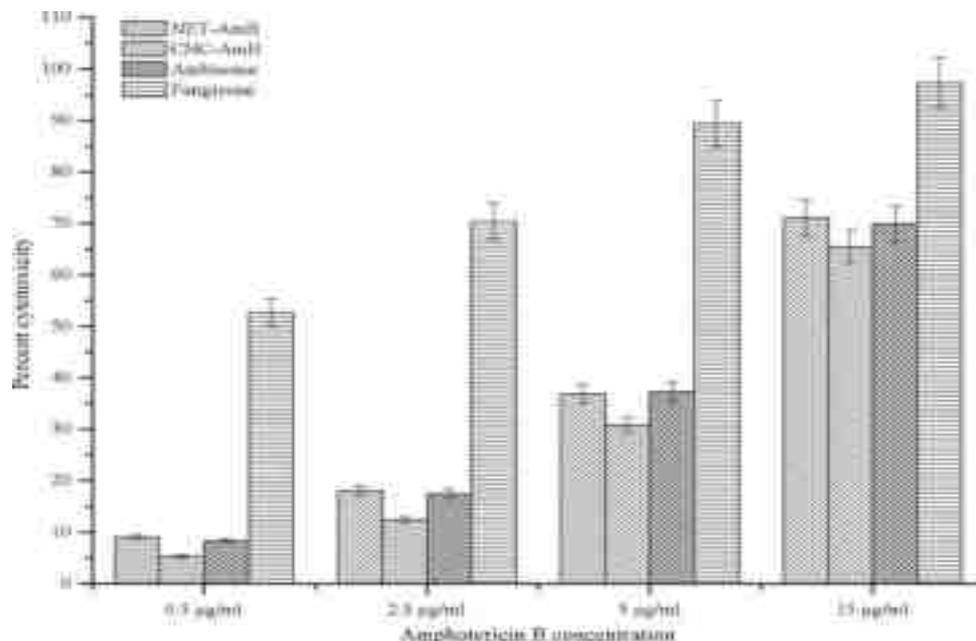


Figure 52 : Toxicités mitochondriales (test MTT) des formulations chargées en AmB (NET-AmB et CNC-AmB) et comparaison avec celles des formulations commerciales Fungizone et AmBisome contre les macrophages J774A après 24 h d'incubation.^[196]

Concernant l'activité in vitro, les résultats ont été représentés sous forme de courbes dose-réponse (**figure 53**) et aussi comme IC50 et IC90 (**figure 54**).

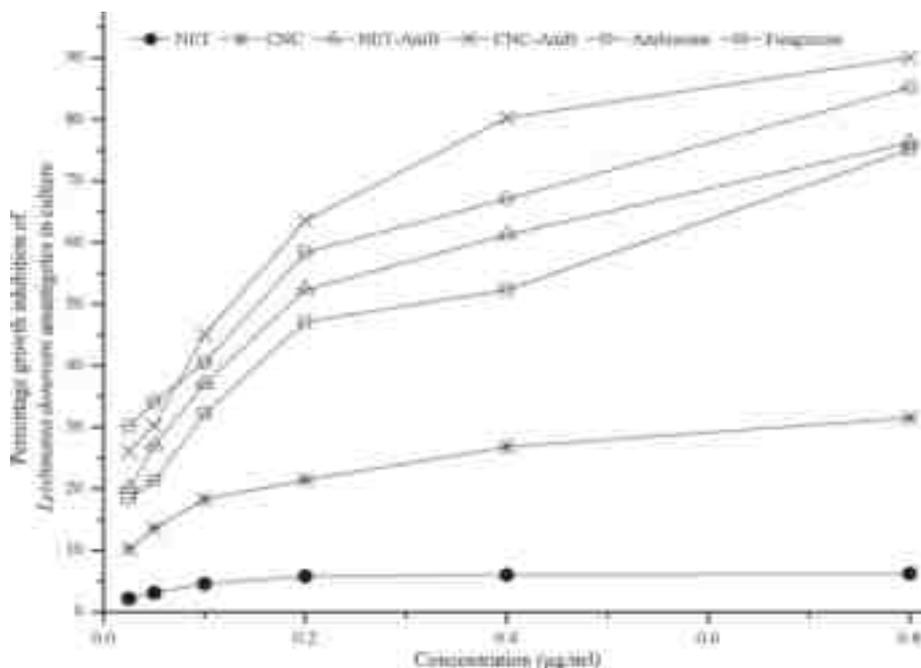


Figure 53 : Courbes dose-réponse in vitro de NET-AmB et CNC-AmB chargés d'AmB, Fungizone, AmBisome et NET et CNC sans AmB contre les macrophages infectés par les amastigotes de *L. donovani* et observés après 48 h.^[196]

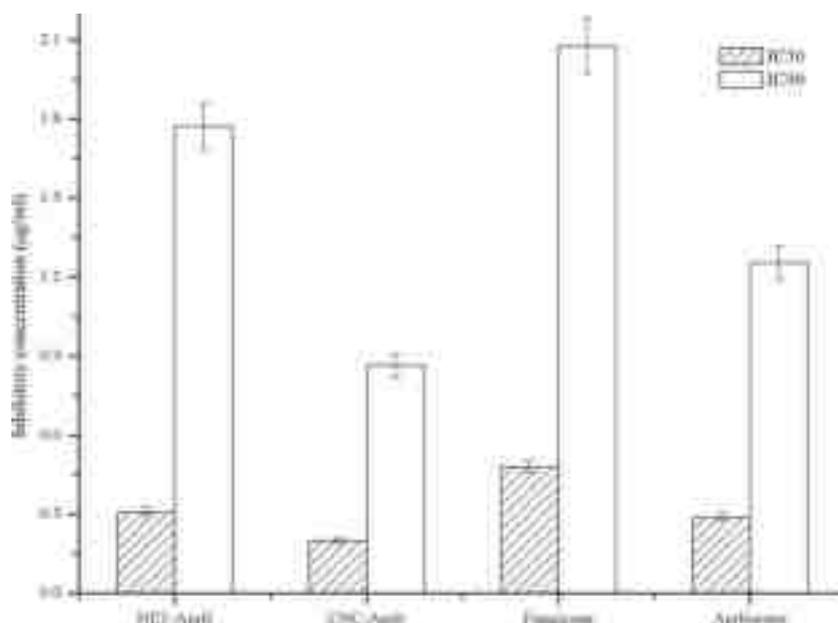


Figure 54 : Activités antileishmaniennes in vitro (IC 50 et IC 90) de NET-AmB et CNC-AmB comparées à celles de Fungizone et AmBisome dans les macrophages infectés par les amastigotes de *L. donovani* , observées après 48 h d'incubation.^[196]

De par ces deux figures, nous remarquons que l'activité de la formulation CNC-AmB est supérieure à celles de NET-AmB, AmBisome et Fungizone (respectivement 1,5 fois, 1,4 fois et 2,4 fois). Les résultats in vitro ont également montré que CNC-AmB était significativement plus active que les autres formes d'amphotéricine B.

Les études que nous venons d'analyser montrent qu'il y a un réel intérêt à utiliser les nanoémulsions pour la formulation des médicaments tant dans leur administration que dans leur activité thérapeutique et cela quelle que soit la voie d'administration choisie.

II.3.6. Administration et application des nanoémulsions

La voie d'administration du médicament et les propriétés physico-chimiques déterminent le sort des nanoémulsions dans l'organisme. Leurs propriétés incluent la taille des gouttelettes, la pression interne, la charge de surface, la capacité de chargement, leur interaction facilitée avec les membranes cellulaire et biologique et la libération ultérieure de la charge utile

Selon la voie d'administration, les nanoémulsions doivent surmonter différents défis biologiques pour faciliter l'administration efficace de médicaments tels que la clairance rénale, la phagocytose, les changements de pH et la dégradation enzymatique.

La taille des gouttelettes a un impact sur les niveaux de cytotoxicité puisque les grosses gouttelettes d'huile ont tendance à provoquer une hémolyse^[197]. La charge de surface impacte sur les interactions des nanoémulsions avec les protéines plasmatiques. Il a été vu que les nanoémulsions chargées sont plus susceptibles d'être phagocytées en raison de l'adsorption des opsonines sur leurs surfaces par des interactions électrostatiques, conduisant alors à une clairance rapide^[198].

La variation des débits dans le flux sanguin peut affecter les formulations des nanoémulsions car elle induit une contrainte de cisaillement et l'élimination des revêtements de surface des nanoémulsions ce qui endommage les médicaments encapsulés. Ils peuvent également empêcher les nanoémulsions d'atteindre leur tissu cible en perturbant leur localisation sur les parois des vaisseaux. Ainsi, le contrôle des propriétés, de la composition et de la taille de la surface est alors crucial pour surmonter les obstacles biologiques auxquels les nanoémulsions sont confrontées. Les propriétés physico-chimiques souhaitées peuvent être obtenues grâce à la fabrication de nanoémulsions avec des noyaux d'huiles biocompatibles, des tensioactifs et des biomolécules fonctionnelles.

Il a été vu que la fonctionnalisation de la surface des nanoémulsions avec le PEG peut également empêcher l'adsorption de l'opsonine et donc la phagocytose. En effet, la PEGylation peut protéger la surface des nanoémulsions de la dégradation enzymatique tandis que la stabilisation des nanoémulsions avec des surfactants biocompatibles peut prévenir ou minimiser les effets cytotoxiques^[199]. Les tensioactifs peuvent également améliorer la stabilité des nanoémulsions dans les milieux biologiques et donc améliorer l'absorption des médicaments.

Enfin, l'adsorption de surfactant à l'interface huile-eau aide également à ajuster la taille des nanoémulsions et les paramètres de charge de surface qui peuvent être exploités pour surmonter les barrières rencontrées par différentes voies d'administrations de médicaments

Les nanoémulsions ont été utilisées pour protéger les médicaments administrés par voie orale des changements de pH, de la dégradation enzymatique et de l'interaction avec les aliments. En effet, la taille de leurs gouttelettes et leur nature lipophile a un impact sur la solubilité, la biodisponibilité et la bioaccessibilité des médicaments et améliore donc la solubilité de ces derniers (**figure 55**). Les nanoémulsions permettent donc de résider plus longtemps dans le tractus intestinal, ce qui entraîne l'activation de la voie lymphatique intestinale et ce qui facilite l'évasion du métabolisme de l'effet de premier passage hépatique^[201].



Figure 55 : Amélioration de l'absorption des médicaments par nanoémulsion.^[200]

Les couches épidermiques de la peau agissent comme des barrières contre le milieu environnant, empêchant la diffusion de formulations médicamenteuses conventionnelles. Les propriétés intrinsèques des nanoémulsions leur permettent d'être appliqués localement ou systématiquement et cela quelle que soit la profondeur de pénétration^[202]. En effet, la taille des gouttelettes à l'échelle nanométrique, les tensioactifs, l'activité thermodynamique et la faible tension superficielle des nanoémulsions perturbent les couches de la barrière cutanée et favorise l'administration des médicaments. Si elles s'accumulent dans les couches dermiques cela entraînera une administration locale de médicament, tandis que si elles perturbent la couche cornée via une activité thermodynamique élevée en utilisant les propriétés des tensioactifs qui les composent elles vont conduire à une administration systémique du médicament^[203]^[204]. La charge de surface, les tensioactifs, les co-tensioactifs et les activateurs de pénétration jouent un rôle majeur dans la détermination du sort des nanoémulsion après l'administration topique de médicaments. En effet, le réglage de la taille, de la surface et de la viscosité des gouttelettes des nanoémulsion a facilité l'administration oculaire topique du médicament en améliorant la perméation cornéenne et l'absorption du médicament. Des nanoémulsions aux propriétés anti-inflammatoires et antioxydantes ont été développées en tant que formulations protectrices et thérapeutiques pour la cicatrisation des plaies et le traitement des maladies dermatologiques^{[205][206][207]}.

Les nanoémulsions par voie intraveineuse sont apparues comme une solution de substitutions aux formes conventionnelles dans le traitement du cancer car elles permettent d'améliorer l'efficacité thérapeutique, de surmonter la résistance multidroge et de minimiser les effets secondaires des médicaments anticancéreux grâce à un ciblage passif et actif. Les tumeurs peuvent être ciblées passivement grâce à la

petite taille des gouttelettes des nanoémulsions dut à leur effet de perméabilité et de rétention améliorées. Une circulation sanguine étendue est essentielle pour le ciblage passif et peut être obtenue par PEGylation de la surface des nanoémulsions. Cependant, le ciblage passif peut parfois être limité lorsque les cellules cancéreuses et normales ne peuvent pas être distinguées efficacement^[208].

Les nanoémulsions en tant qu'aérosol sont des alternatives prometteuses pour l'administration non invasive de médicaments par voie pulmonaire. La taille fine des gouttelettes des nanoémulsions fournit une grande surface qui peut améliorer les interactions avec les surfaces muqueuses du système respiratoire. Les bio-interactions améliorées des nanoémulsions avec les cellules ciblées améliorent l'absorption et la biodisponibilité des médicaments^[209]. Des nanoémulsions à inhaler ont été formulées pour cibler activement le traitement des troubles respiratoires tels que le cancer du poumon et l'asthme^[210]. Des nanoémulsions en aérosol ont même été formulées comme vaccins contre les agents pathogènes respiratoires et se sont présentées comme permettant une réponse immunitaire robuste^[211].

Les nanoparticules ont également montré des activités antimicrobiennes prometteuses contre les bactéries^[212], les champignons^[213] et les virus^[214]. En effet, elles offrent des activités à large spectre qui limitent la possibilité de résistance bactérienne induite par les antibiotiques^[215].

Les huiles essentielles conventionnelles ont été utilisées comme antimicrobiens cependant leur instabilité et leur dégradation réduisent leur efficacité. En effet, celle-ci sont très volatiles, insolubles dans l'eau, et difficiles à manipuler. Des nanoémulsions ont alors été utilisées pour améliorer la dispersibilité dans l'eau, la stabilité et prolonger la libération des huiles essentielles^[216]. La variation de la concentration en tensioactif peut faciliter la préparation de gouttelettes de petite taille conduisant à une meilleure dispersibilité des huiles essentielles dans les milieux aqueux. Les nanoémulsions ont considérablement amélioré l'efficacité des composés naturels, des huiles essentielles, des extraits naturels et des antibiotiques cependant le choix du surfactant et sa concentration doit être pris en compte afin d'éviter une cytotoxicité cellulaire.

Des nanoémulsions ont également été formulées à des fins antivirales. En effet, Konek *et al.*^[217] ont préparé un vaccin entier inactivé à administration intranasale contre le virus respiratoire syncytial à base de nanoémulsion pour l'immunisation des animaux. Cette nanoémulsion présente à sa surface du poloxamères avec des saillies polaires qui a amélioré la mucoadhésion du vaccin dans les cavités nasales. De plus, cette formulation a démontré une réponse immunitaire efficace sans effets nocifs observés dans les tissus pulmonaires.

Dans une autre étude, les chercheurs^[218] se sont penchés sur les infections à VIH qui affectent les cellules phagocytaires. Ces dernières ont pu être ciblées par des antiviraux encapsulés dans des nanoémulsions cationiques administrés par voie nasale ce qui a aidé à surmonter les défis de perméabilité des médicaments antiviraux associés à la barrière hémato-encéphalique.

Ces études démontrent donc la polyvalence des nanoémulsions dans de nombreuses applications pharmaceutiques (**figure 56**).

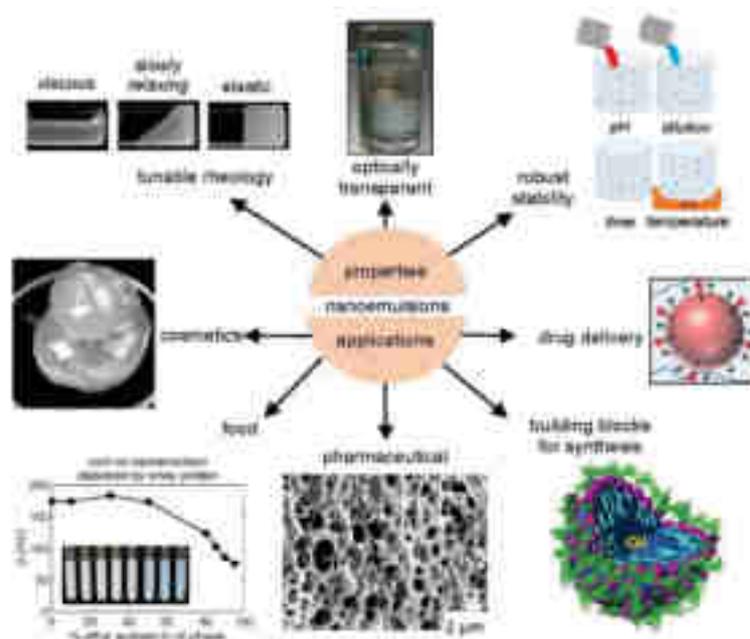


Figure 56 : Les nombreuses applications pharmaceutiques des nanoémulsions.^[155]

II.3.7. Conclusion

Les nanoémulsions sont des systèmes colloïdaux constitués d'une phase aqueuse et d'une phase huileuse stabilisée par un agent tensioactif. Les nanoémulsions présentent de nombreuses applications dans le domaine de la formulation pharmaceutique, notamment en tant que vecteurs pour l'administration de médicaments.

L'un des principaux avantages des nanoémulsions est leur capacité à améliorer la solubilité et la biodisponibilité des médicaments hydrophobes. En effet, les nanoémulsions permettent une meilleure dispersion des médicaments dans l'organisme et une absorption plus rapide par les cellules cibles. En outre, la petite taille des particules de la nanoémulsion peut faciliter le passage à travers les membranes cellulaires, ce qui améliore l'efficacité thérapeutique des médicaments.

De plus, les nanoémulsions peuvent offrir une meilleure stabilité et une plus grande durée de vie pour les médicaments sensibles à la dégradation. La taille réduite des particules de la nanoémulsion peut également réduire les effets secondaires des médicaments, car ils peuvent être distribués plus efficacement et avec moins de perturbations du système biologique.

Enfin, les nanoémulsions peuvent être utilisées pour cibler spécifiquement les cellules et les tissus malades en modifiant leur composition en surface. Cela permet de délivrer des médicaments directement à l'endroit où ils sont nécessaires, ce qui améliore leur efficacité tout en réduisant les effets secondaires indésirables.

Ainsi, les nanoémulsions sont des vecteurs prometteurs pour l'administration et l'efficacité thérapeutique des médicaments, en offrant des avantages tels que l'amélioration de la solubilité, la biodisponibilité et la stabilité des médicaments, ainsi que la possibilité de cibler spécifiquement les cellules malades.

II.4. Les Nanoparticules Lipidiques Solides (SLN)

Dans la découverte actuelle de médicaments, la majeure partie des futurs candidats ont une faible solubilité dans l'eau. Le développement de ces nouvelles entités chimiques en produits pharmaceutiques commerciaux est souvent entravé par la nature hydrophobe des composés, ce qui entraîne une précipitation des médicaments et une faible biodisponibilité des médicaments. Des stratégies potentielles pour surmonter de tels problèmes sont la modification de la structure du médicament ou l'incorporation du médicament dans un système porteur. Le devenir *in vivo* d'un médicament dépend du système d'administration du médicament dans lequel il est incorporé. Nous avons vu que les nanoparticules à base de lipides et plus particulièrement les liposomes et les nanoémulsions, semblent être un bon moyen d'améliorer considérablement l'administration des médicaments et donc d'assurer le potentiel thérapeutique du principe actif.

Une technologie plus récente a su démarquer dans la formulation des médicaments, ce sont les nanoparticules lipidiques solides (SLN). En effet, mise au point dans les années 1990^[219], les SLN ont suscité un intérêt croissant dans la formulation de médicaments en raison de leur capacité à transporter et à solubiliser des médicaments lipophiles.

Dans cette partie nous allons essayer de comprendre pourquoi les SLN sont intéressantes dans la formulation des médicaments en nous intéressant à ses avantages mais nous allons également montrer les limites qu'apporte un tel système et les enjeux futurs qui doivent être appliqués afin de pallier cela.

II.4.1. Définition et Composition des SLN

II.4.1.1. Définition

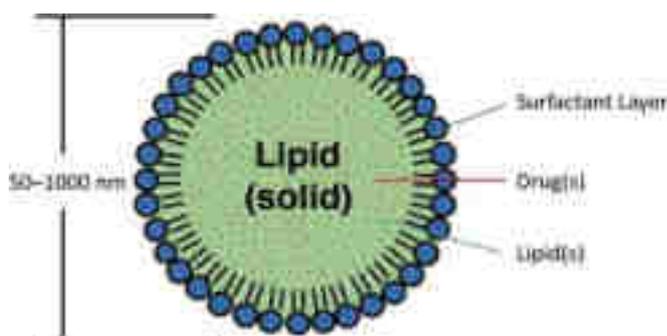


Figure 57 : Représentation schématique d'une nanoparticule lipidique solide.^[220]

Les SLN sont des systèmes colloïdaux à forme sphérique avec un diamètre compris entre 50 et 1000 nm^[219] et qui offrent un environnement lipidique pouvant accueillir des médicaments peu solubles dans l'eau. Elles sont composées de lipides, qui sont à l'état solide à température ambiante et sont stabilisés par l'ajout de tensioactif et/ou de co-tensioactif et bien entendu d'un principe actif (**figure 57**).

Elles sont biodégradables, biocompatibles, non toxiques et peuvent être fonctionnalisées à leur surface (par exemple par du PEG). Les lipides qui les composent sont physiologiquement compatibles, peu coûteux et sont généralement reconnus comme sûrs (présente le statut « GRAS » pour « Generally Regarded As Safe ») ce qui les rend moins toxiques et plus sûrs^[221].

L'utilisation des lipides solides à la place d'huile permet de mieux maîtriser la libération du principe actif puisqu'il est moins mobile dans une phase solide que dans une phase liquide huileuse. Ce caractère est très intéressant lorsque l'on veut développer des formes à libération prolongée par voie orale.

Ainsi, les SLN sont des vecteurs de médicaments prometteurs en raison de leur composition unique en lipide solide et la possibilité d'être utilisé dans différentes voies d'administrations.

II.4.1.2 Composition des SLN

Comme nous l'avons mentionné, d'un point de vue général, les SLN sont composés de lipides solides, de tensioactif et d'eau.

II.4.1.2.1. Les Lipides solides

Pour rappel, les lipides sont des molécules hydrophobes ou amphiphiles très diversifiées qui comprennent entre autres les phospholipides (que nous avons déjà mentionné plus haut dans ce mémoire), les stérols, les cires ou encore les di- et triglycérides. Ils peuvent se présenter à l'état solide ou à l'état liquide et sont solubles dans les solvants organiques.

Étant donné que les lipides sont à la base de la formulation des SLN, la sélection d'un lipide ou d'un mélange de lipides approprié est un élément important à prendre en compte lors de la fabrication des SLN. En effet, les lipides qui les composent ont la propriété d'être solides à la fois à température ambiante et à température corporelle^[222].

De plus, pour convenir, le lipide solide ou le mélange de lipides doit respecter plusieurs critères que sont^[223] :

- Être biodégradable
- Être biocompatible
- Être capable de charger le principe actif
- Être stable lorsque la SLN est stockée

C'est le respect de ces critères qui permet la formulation stable des SLN. Ainsi, ce sont majoritairement les triglycérides ou les acides gras qui les composent (**figure 58**).

<i>Triacylglycerols</i>	<i>Fatty acids</i>
Tricaprin	Stearic acid
Trilaurin	Palmitic acid
Triolein	Decanoic acid
Tripalmitin	Behenic acid
Tristearin	
	<i>Waxes</i>
<i>Acylglycerols</i>	Cetylpalmitate
Glycerol monostearate	
Glycerol behenate	<i>Cyclic complexes</i>
Glycerol palmitostearate	Cyclodextrin
	<i>Hard fat types</i>
	Witepsol W 35
	Witepsol H 35

Figure 58 : Liste non exhaustive des lipides qui peuvent être utilisés dans la formulation des SLN.^[224]

Cependant, les lipides ont tendance à être métabolisés facilement ce qui pourrait entraîner des problèmes tels que la précipitation et la cristallisation des médicaments. La lipophilie du médicament vis-à-vis du lipide sélectionné est un aspect important à considérer pour une formulation stable. Une phase lipidique idéale doit être suffisamment lipophile pour solubiliser facilement les médicaments lipophiles.

II.4.1.2.2. Les Tensioactifs

Tout comme avec les nanoémulsions, les tensioactifs (**figure 59**) ont pour but de stabiliser les SLN en diminuant la tension superficielle entre l'eau et les lipides.

<i>Phospholipids</i> Soy lecithin Egg lecithin Phosphatidylcholine	<i>Alkylaryl polyether alcohol polymers</i> Tylotapsil
<i>Ethylene oxide/propylene oxide copolymers</i> Poloxamer 188 Poloxamer 182 Poloxamer 407 Poloxamine 908	<i>Bile salts</i> Sodium cholate Sodium glycocholate Sodium taurocholate Sodium taurodeoxycholate
<i>Sorbitan ethylene oxide/propylene oxide copolymers</i> Polysorbate 20 Polysorbate 60 Polysorbate 80	<i>Alcohol</i> Ethanol Butanol

Figure 59 : Liste non exhaustive des tensioactifs qui peuvent être utilisés dans la formulation des SLN.^[224]

La nature du tensioactif utilisé pour stabiliser les SLN est donc importante puisque c'est elle qui va contrôler les différentes propriétés des SLN telles que leur taille et leur stabilité. De plus, la concentration du tensioactif va également jouer un rôle dans la taille des particules. Plus la concentration du tensioactif est importante et plus les particules seront petites.

À noter que le choix et la concentration du tensioactif utilisé dépendent du lipide et de la voie d'administration. En effet, la toxicité d'un tensioactif est une considération importante, et tous les tensioactifs ne peuvent pas être utilisés pour la préparation de tous les types de SLN.

II.4.2. Incorporation du principe actif et types de SLN

L'incorporation du principe actif au sein des SLN va dépendre de sa solubilité dans le lipide, de la structure chimique et physique de la matrice lipidique solide et de l'état de polymorphisme du lipide

utilisé. En effet, ce sont ces critères qui vont permettre l'incorporation du principe actif à un endroit précis dans la SLN.

La solubilité du principe actif dans le lipide doit être très élevée et peut être médiée par l'utilisation de tensioactif. En plus, de la solubilité du principe actif, il faut tenir compte de la structure chimique et physique de la matrice lipidique solide qui a tendance à expulser le principe actif en formant un réseau cristallin parfait. Ainsi, l'utilisation préférentielle de lipides complexes comme des mélanges de mono- ou di- glycérides ou triglycérides avec des acides gras permet de former un réseau cristallin imparfait ce qui diminue le risque d'expulsion du principe actif^[225]. Pour finir, le polymorphisme lipidique est aussi à prendre en compte.

En effet, nous savons que les principes actifs se logent dans les imperfections des réseaux cristallins des lipides^[226] or le réseau cristallin parfait est thermodynamiquement plus stable que le réseau imparfait ce qui explique qu'avec le temps les imperfections du cristallin disparaissent et le principe actif est soit expulsé pendant le stockage soit il est libéré rapidement après avoir été administré. Pendant le stockage, les structures lipidiques cristallines migrent vers des formes polymorphes plus stables, c'est-à-dire de la forme α vers la forme β' et ensuite vers la forme β ^[227]. Au cours de ce processus, l'empaquetage des chaînes d'hydrocarbures augmente énormément avec une réduction conséquente des imperfections dans le réseau lipidique et s'accompagne d'un abaissement du point de fusion. En général, la transformation est plus lente pour les longues chaînes d'acide gras que pour les courtes chaînes d'acide gras.

Plusieurs types de principes actifs avec des caractères lipophiles ont été incorporés dans les SLN. Muller *et al.*^[219] ont distingués 3 modèles (**figure 60**) d'incorporations qui sont :

- Les SLN de type 1 sont un modèle de solution solide également appelé modèle de matrice homogène. Dans ce type de SLN, le médicament est dispersé dans le noyau lipidique. Ils sont en général obtenus par homogénéisation à haute pression (chaud ou froid). Ce modèle de SLN permet d'avoir une libération prolongée du principe actif.
- Les SLN de type 2 sont un modèle de « couronne enrichie » dans lequel la coque est enrichie en médicament alors que le noyau lipidique ne contient pas de médicament. Dans ce type de SLN, un noyau lipidique solide se forme une fois que la température de recristallisation du lipide est atteinte et que le médicament se concentre dans la coque externe encore liquide du SLN en raison de la réduction de la température de dispersion.

- Les SLN de type 3 sont un modèle de « noyau enrichi » dans lequel le noyau est enrichi en médicament alors que la coque externe ne contient pas de médicament. Dans ce modèle, la concentration du médicament est proche de sa solubilité de saturation dans le lipide ce qui entraîne sa précipitation dans le noyau et le lipide entourant le médicament se recristallise sous forme de membrane par refroidissement.

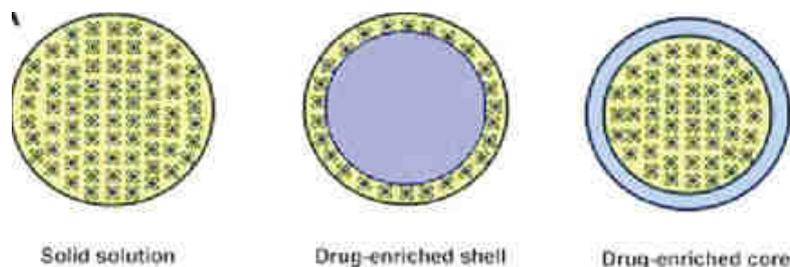


Figure 60 : Classification de trois types de nanoparticules lipidiques solides classiques que sont la solution solide, l'enveloppe enrichie en médicament et le noyau enrichi en médicament.^[228]

Cependant, il a été montré que les SLN conventionnels présentaient de nombreux défauts tels qu'une faible efficacité de chargement du médicament, une fuite de médicament suite à une transformation polymorphe et une quantité d'eau relativement importante des dispersions^[229]. En effet, cela résultait d'un compactage serré du réseau cristallin lipidique, d'une mauvaise solubilité du médicament dans le lipide, de l'état polymorphe de la matrice lipidique et d'un constituant de structure physique et chimique de la matrice lipidique solide.

Ainsi, afin de combler les lacunes des SLN de 1^{ère} génération un autre type de SLN a été développé, ce sont les supports lipidiques nanostructurés (NLC) ou SLN de 2^{ème} génération. Contrairement aux SLN, les NLC ne possèdent non pas un seul type de lipide en tant que matrice centrale (solide pour les SLN) mais bien 2 types : des lipides solides et des lipides liquides (**figure 61**). Cela leur permet de minimiser l'expulsion du médicament pendant le stockage et de permettre une capacité de chargement accrue^[226].

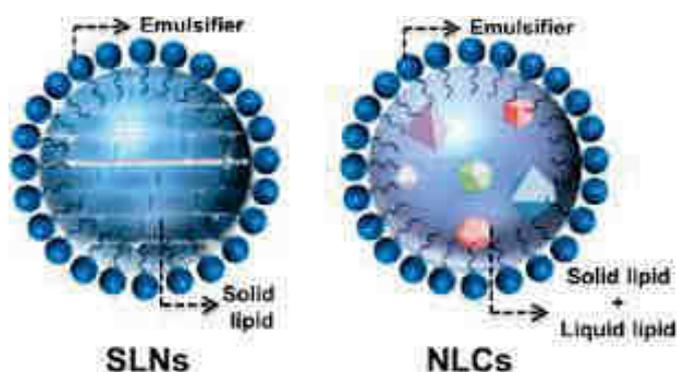


Figure 61 : Illustration schématique de nanoparticules lipidiques solides (SLN) à gauche et d'un transporteur lipidique nanostructuré (NLC) à droite.^[230]

Tout comme pour les SLN, nous distinguons 3 modèles de NLC (**figure 62**) :

- Les NLC de type 1 sont des modèles de type cristal imparfait (réseau cristallin imparfait). Ils sont obtenus en utilisant des lipides solides et des lipides liquides, produisant une matrice avec de nombreux vides et espaces qui peuvent transporter une charge utile de molécules de médicament dans des amas amorphes
- Les NLC de type 2 en tant que modèle amorphe sont obtenues lors de l'utilisation de lipides tels que l'hydroxyl octacosanyl ou le stéarate d'hydroxyle qui ne recristallisent pas après homogénéisation et refroidissement ce qui produit une matrice amorphe homogène qui réduit les fuites de médicament.
- Les NLC de type III en tant que modèle multiple sont obtenues à partir de fractions de lipides liquides qui sont efficacement dispersées dans la matrice lipidique solide en raison de la séparation de phase et elle est obtenue en mélangeant des quantités plus élevées de lipides liquides avec des lipides solides où la solubilité des lipides liquides dans le lipide solide est augmentée.

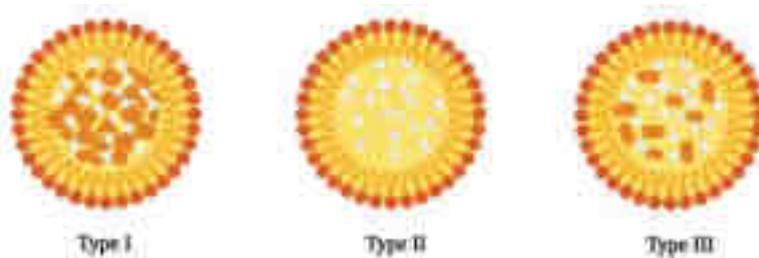


Figure 62 : Classification des trois types de transporteur lipidique nanostructuré (NLC).^[231]

À noter que les NLC de type III sont adéquats pour permettre une libération contrôlée de médicaments et améliorer la capacité de chargement de médicaments qui sont, en général, plus solubles dans les lipides liquides ^{[226][232]}.

II.4.3. Méthodes de productions des SLN

De nombreuses méthodes de production ont été envisagées pour la préparation contrôlée des SLN. Les avantages de ces approches résident dans leurs faibles coûts énergétiques, leur faible niveau de produits dangereux et leur potentiel de haute performance. On retrouve des méthodes de production que nous

avons déjà vues pour les liposomes et les nanoémulsion tels que l'homogénéisation à haute pression, injection de solvant, l'inversion de phase et donc que nous ne décrirons pas. Les autres méthodes sont : la méthode à base de micro-émulsion, la méthode à fluide supercritique, la méthode par émulsification/évaporation de solvant, la méthode à double émulsion eau/huile/eau (E/H/E), la méthode de séchage par pulvérisation et la méthode de coacervation.

II.4.3.1. La méthode à base de microémulsion

Dans cette méthode^[233], un mélange composé d'acide gras (par exemple l'acide stéarique), d'émulsifiant (par exemple les polysorbates), de co-émulsifiant (par exemple du monoctylphosphate de sodium), d'eau et de principe actif est chauffé à une température comprise entre 65 et 70 °C. Ce mélange est soumis à une agitation de faible vitesse jusqu'à ce que la microémulsion soit formée.

Après cela, la microémulsion chaude est dispersée dans un grand volume d'eau froide compris entre 2 et 3°C tout en agitant. Le rapport volumique entre la microémulsion chaude et l'eau froide est généralement compris entre 1 pour 25 à 1 pour 50. Les gouttelettes lipidiques vont alors se solidifier en forme sphérique et monodispersé (**figure 63**).

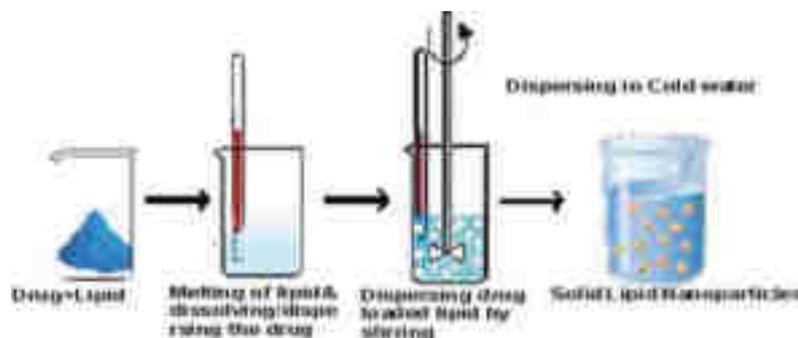


Figure 63 : Préparation des SLN basée sur la formation d'une microémulsion.^[234]

L'avantage de cette méthode réside dans le fait que la structure des gouttelettes est déjà contenue dans la microémulsion ce qui permet de former des SLN/NLC sans aucune énergie. Cependant, ce procédé présente également des inconvénients comme le fait qu'il faut un grand volume d'eau par rapport à la microémulsion chaude ce qui veut dire que la dispersion finale est très diluée par conséquent il faut concentrer les particules par d'autres méthodes telles que l'ultrafiltration et la lyophilisation. Un autre inconvénient est la concentration élevée en tensioactif et co-tensioactif pour stabiliser les SLN/NLC. De plus, elle ne convient pas au principe actif thermosensible.

II.4.3.2. La méthode à fluide supercritique

C'est une méthode relativement récente qui a suscité un intérêt croissant pour la production de SLN et présente l'avantage d'un traitement sans solvant. Il existe plusieurs variantes de cette technologie. Les principaux sont :

- L'expansion rapide des solutions supercritiques (RESS)
- Le procédé gaz anti-solvant (GAS)
- Les particules de solution/suspensions saturées de gaz (PGSS)
- L'extraction par fluide supercritique des émulsions (SFEE)

L'idée générale est que le fluide supercritique est obtenu au-dessus de sa pression et de sa température critiques. Ainsi, au-dessus du point critique de ce fluide, la solubilité des substances dans le fluide peut être modulée par une variation de pression relativement faible. Le dioxyde de carbone est le fluide supercritique le plus largement utilisé (dans 99.99 % des cas) en raison de son point critique de 74 bar et à 31°C^[235] (figure 64).

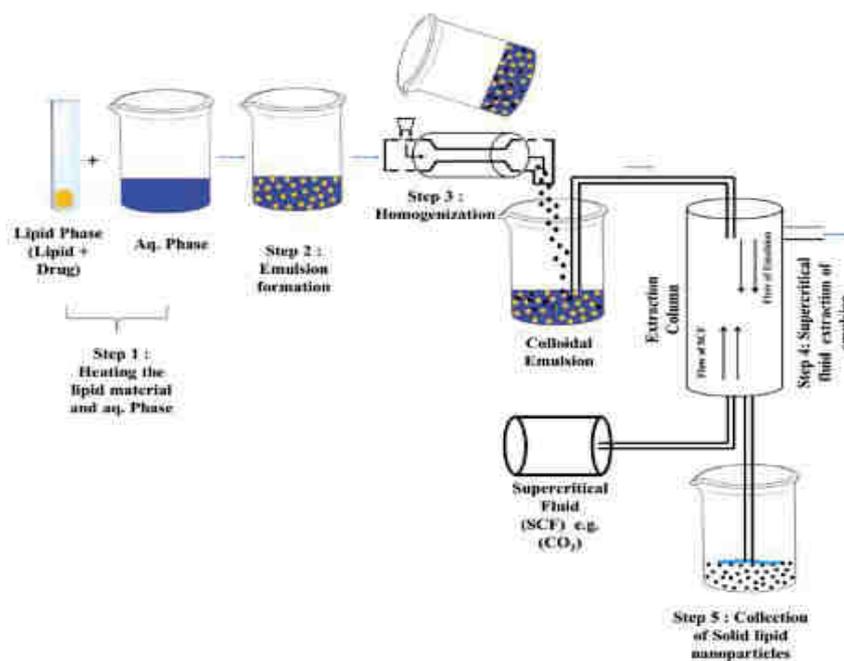


Figure 64 : Principe de fonctionnement de la méthode à fluide supercritique.^[236]

II.4.3.3. La méthode émulsification/évaporation de solvant

Cette méthode consiste à solubiliser le lipide dans un solvant organique non miscible à l'eau (par exemple du cyclohexane) qui est émulsionné dans une phase aqueuse par sonication^[237]. Lors de l'évaporation du solvant, une dispersion de nanoparticules se forme par précipitation du lipide dans le

milieu aqueux. Le diamètre moyen des particules obtenues est compris entre 25 et 100 nm et dépend du mélange de tensioactif et de co-tensioactif utilisé (**figure 65**).

Cette technique est utilisée pour encapsuler les principes actifs thermosensibles cependant l'utilisation de solvant organiques est un inconvénient majeur car ils peuvent être toxiques.

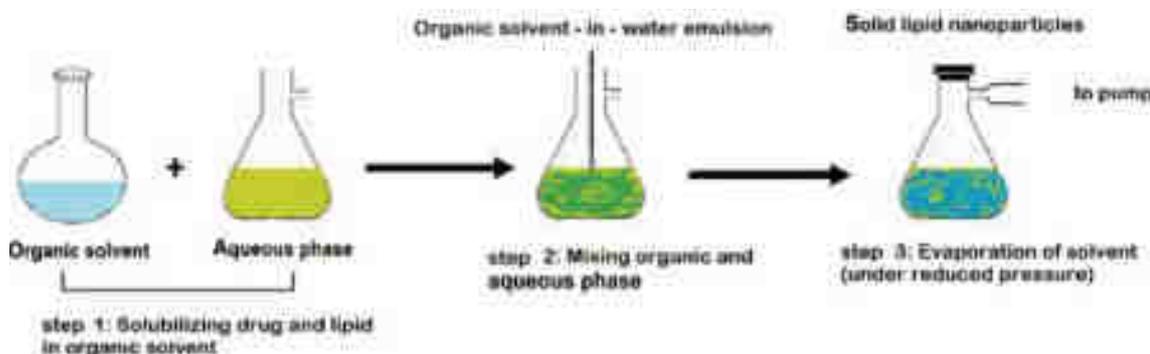


Figure 65 : Principe de fonctionnement de la méthode émulsification/évaporation de solvant.^[238]

II.4.3.4. La méthode à double émulsion E/H/E

Cette méthode est principalement utilisée pour la préparation de SLN chargés avec des médicaments hydrophiles^[239] et certaines molécules biologiques telles que les peptides et l'insuline.

Les SLN sont produits à partir d'émulsions multiples E/H/E. Le médicament et les agents émulsifiants existent dans la phase interne aqueuse de la double émulsion w/o/w.

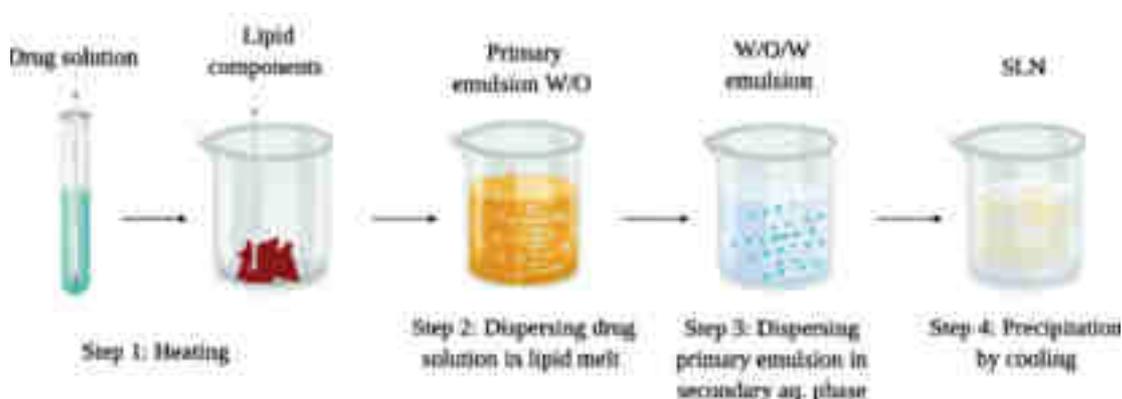


Figure 66 : Principe de fonctionnement de la méthode à double émulsion E/H/E.^[241]

Le principe actif est d'abord dissout dans une solution aqueuse puis dans un liquide chauffé pour former une émulsion primaire E/H sous agitation. Celle-ci est stabilisée par des tensioactifs (le poly acide lactique-co-glycolique ou plus communément appelé PLGA). L'émulsion primaire est ensuite dispersée

dans une phase aqueuse pour former l'émulsion multiple E/H/E qui forme des gouttelettes en précipitant à froid^[240] (figure 66).

II.4.3.5. Méthode de séchage par pulvérisation

C'est une méthode alternative moins chère que la lyophilisation pour la modification d'une dispersion aqueuse de SLN en un médicament. Il y a un risque d'agrégation des particules en raison de la température élevée, des forces de cisaillement et de la fusion partielle de la particule^[242]. Ainsi, les auteurs^[243] recommandent l'utilisation de lipides qui présentent un point d'ébullition supérieur à 70°C pour le séchage par pulvérisation (figure 67).

Il y a plusieurs approches pour produire des formulations à base de SLN chargé de principe actif par pulvérisation. Le meilleur résultat a été obtenu avec une concentration de SLN de 1 % dans une solution de tréhalose dans l'eau ou 20 % de tréhalose dans des mélanges éthanol-eau (10/90 v/v).

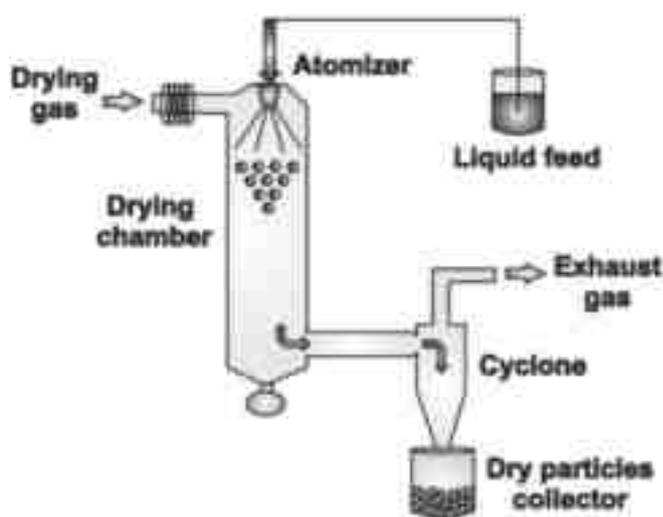


Figure 67 : Principe de fonctionnement de la méthode de séchage par pulvérisation.^[244]

II.4.3.6. Méthode de coacervation

C'est une méthode simple qui est basée sur l'interaction entre une solution micellaire d'un sel alcalin d'acide gras (savon) au-dessus de son point Kraft et une solution acide (solution de coacervation) en présence de différents agents stabilisants polymères amphiphiles afin de fabriquer les SLN^[245].

Le chauffage de la solution lipidique est l'un des points cruciaux de cette méthode, car le point de Krafft est défini comme la température au-dessus de laquelle la solubilité d'un tensioactif devient égale à la concentration micellaire critique.

Une solution micellaire de savon est obtenue à une température supérieure à son point de kraft. Le principe actif peut être dissous directement dans la solution micellaire ou pré-dissoute dans une petite quantité d'éthanol afin d'améliorer la micellisation et est ajouté goutte à goutte dans la solution micellaire. Une solution de coacervation est ajoutée sous agitation et la SLN est obtenue par précipitation (figure 68).

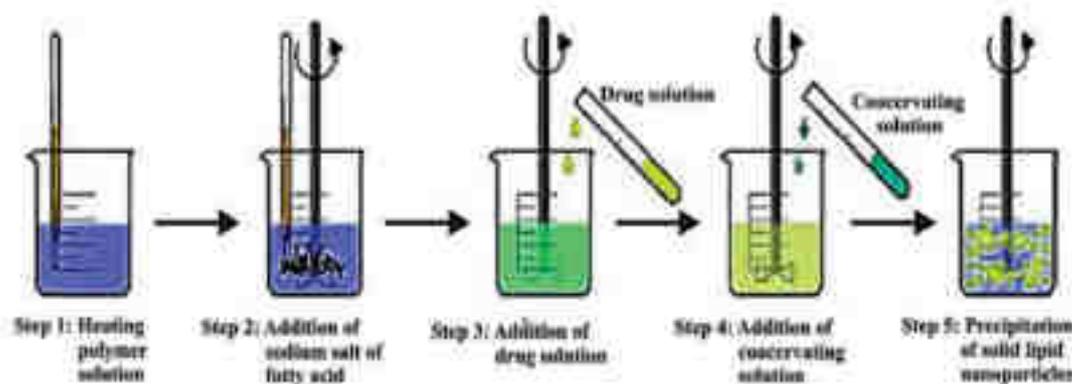


Figure 68 : Principe de fonctionnement de la méthode de coacervation.^[246]

Dans cette méthode, les acides gras choisis sont des sels de sodium (par exemple le stéarate de sodium) tandis que les tensioactifs choisis font partie du groupe des polymères non ioniques (par exemple le chitosane). Cette méthode est intéressante car on peut choisir la taille des SLN et permet l'incorporation de médicaments, sans utiliser d'équipements très complexes ou de solvants dangereux.

Ainsi, les propriétés des SLN seront fortement influencées par les techniques utilisées pour leur production. Parmi ces propriétés figurent les suivantes : la taille de la particule, la capacité de chargement du médicament, le comportement de libération du médicament et la stabilité du médicament. En raison de ces effets, l'efficacité de leur préparation dépend également de la méthode de préparation. En effet, la littérature a montré qu'au-delà de la composition de la matrice lipidique, la méthode de fabrication semble avoir un rôle important dans le mécanisme de libération du principe actif.

II.4.4. Avantages et inconvénients des SLN

Les nombreux avantages que possèdent les SLN sont les suivants^{[219][247]}.

- Améliore la biodisponibilité des principes actifs peu solubles dans l'eau.

- Améliore la stabilité des médicaments chimiquement labiles en les protégeant de l'environnement extérieur.
- Présente une forte stabilité physique.
- Permet de moduler la cinétique de libération du médicament et le ciblage du médicament en réduisant la fluctuation dans la zone thérapeutique.
- Peuvent avoir une teneur en médicament élevée et améliorée par rapport aux autres vecteurs de médicaments.
- Possibilité de transporter à la fois des médicaments lipophiles et hydrophiles mais également d'autres macromolécules telles que des peptides, des ADN/ARNm, des protéines.
- Rapport coût-efficacité favorable donc facile à mettre à l'échelle industrielle et à stériliser.
- Possibilité de lyophilisation.
- Faible toxicité et immunogénicité de par leur composition en lipides biodégradables et à base d'eau ce qui évite les solvants organiques.
- Appropriés pour de nombreuses voies d'administrations.
- Très petites tailles donc cela leur permet de contourner la filtration de la rate et du foie par les cellules du RES.

Néanmoins les SLN présentent également des inconvénients qui incluent^[248] :

- Une expulsion du médicament suite à la transition polymérique pendant le stockage (accentué lors d'un stockage prolongé (supérieur à 3 ans)).
- Les dispersions ont une teneur en eau relativement élevée (70 à 99.9 %).
- Faible efficacité d'encapsulation et de chargement du médicament dû à des réseaux matriciels lipidiques compacts.
- Tendance imprévisible à la gélification.
- Possibilité de croissance des particules.

En effet, nous avons vu que la capacité d'encapsulation des médicaments par les SLN dépend de la solubilité du médicament dans le lipide fondu, de la structure de la matrice lipidique et de l'état polymérique de la matrice lipidique. Ainsi, si la matrice lipidique est constituée de molécules particulièrement similaires (par exemple des triacylglycérols purs) un cristal parfait avec peu d'imperfections se forme. Étant donné que les médicaments incorporés sont situés entre les chaînes d'acides gras, entre les couches lipidiques et également dans les imperfections cristallines, un réseau cristallin hautement ordonné ne peut pas contenir de grandes quantités de médicaments. Par conséquent,

l'utilisation de lipides plus complexes (par exemple des protéines plasmatiques à la surface des SLN) permettrait d'augmenter la quantité de médicaments incorporés.

Les NLC ont alors été introduits afin de surmonter les difficultés potentielles avec les SLN. Ils sont décrits comme étant une formulation améliorée des SLN. Ces supports lipidiques présentent les mêmes avantages que les SLN mais permettent en plus d'augmenter la charge médicamenteuse et d'empêcher l'expulsion du médicament car ils sont préparés à partir d'un mélange de lipides solides et liquides ayant une structure cristalline non idéale et empêchent l'expulsion des médicaments en évitant la cristallisation des lipides.

La **figure 69**, tiré d'une publication réalisée par Subramaniam *et al.*^[249], résume les avantages et les inconvénients des SLN et des NLC.

Solid lipid nanoparticles	Nanostructured lipid carriers
<ul style="list-style-type: none">-Size range: 50-500nm-Biocompatible, non-toxic-Drug encapsulation efficiency: medium/high (50-100%)-Drug loading capacity: low (33%)-Variety of lipophilic drugs and proteins and nucleic acids.-Poor stability profile (drug escape through matrix)-Suitable for lyophilisation-Protection from degradation-Controlled and targeted drug delivery-Biodegradable-Enhanced bioavailability and pharmacokinetic profile-Decreases local side effects-Robust manufacturing and scaling-Various routes of administration	<ul style="list-style-type: none">-Size range: 30-300nm-Biocompatible, non-toxic-Drug encapsulation efficiency: high (85%)-Drug loading capacity: high-Variety of lipophilic drugs and proteins and nucleic acids,-Good stability profile-Reduced risk of drug extrusion-Better dispersion in aqueous medium-Protection from degradation-Controlled and targeted drug delivery-Biodegradable-Enhanced bioavailability and pharmacokinetic profile-Decreases local side effects-Robust manufacturing and scaling-Various routes of administration

Figure 69 : Résumé des avantages et des inconvénients des nanoparticules lipidiques solides (SLN) à gauche et des transporteurs lipidiques nanostructurés (NLC) à droite. ^[249]

II.4.5. Comparaison entre une formulation de médicament encapsulé dans les SLN et une formulation de médicament sans SLN

Comparé aux autres supports à base de lipide tels que les liposomes ou les nanoémulsions, les SLN et les NLC se présentent comme un système alternatif d'administration de médicaments. De nombreuses études ont été menées pour comprendre et mettre en avant l'intérêt d'un tel système dans la formulation des médicaments. Nous avons déjà pu distinguer les avantages qu'ils apportent et nous allons maintenant nous intéresser aux études qui comparent l'administration et l'efficacité des médicaments encapsulés par rapport à leur formulation conventionnel.

Dans la présente étude, Gaur *et al.*^[250] se sont intéressés à l'avantage que pouvait apporter l'encapsulation d'éfavirenz dans les SLN (ESLN) sur la solubilité et la biodisponibilité de l'éfavirenz après administration orale sur des rats.

Pour rappel, l'éfavirenz est un inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse (INNTI) et est utilisé pour le traitement de l'infection par le VIH.

Ils ont préparé plusieurs ESLN mais il s'est avéré que ESLN-3 était la formulation SLN qui a présenté les meilleurs résultats avec une plus petite taille, un meilleur potentiel zêta et un meilleur taux d'encapsulation d'éfavirenz (**tableau 11**).

Tableau 11: Caractérisation physique des différentes formulations d'ESLN.^[250]

Formulation code	PDI	Particle size	Zeta potential	EE (%)
ESLN-0	0.455	362 ± 2.1	-22.1	46.28 ± 1.05
ESLN-1	0.334	267 ± 2.2	-19.3	70.2 ± 0.98
ESLN-2	0.315	213.4 ± 2.4	-17.7	76.1 ± 0.7
ESLN-3	0.234	124.5 ± 3.2	-15.9	86 ± 1.03

Ils ont donc comparé ESLN-3 en termes de stabilité, de libération *in vitro* et de pharmacocinétique par rapport à une suspension d'éfavirenz (ES) et à une forme commercialisée d'éfavirenz (EMF).

Concernant la libération de médicament *in vitro*, toutes les formulations ESLN ont montré une libération contrôlée de médicament tandis que les formules ES et EMF ont toutes deux montré une libération en rafale (**figure 70**).

En effet, les formulations ESLN ont montré une libération progressive de médicament allant de 8%-30% à 4 h à 55%-98.22% à 24h selon le type de ESLN formulé. Or, la formulation ES présente une libération de médicament qui atteint déjà « 86.705% » à 4h et « 61.705% » pour la formulation commerciale (EMF) pour une libération totale à environ 16 h.

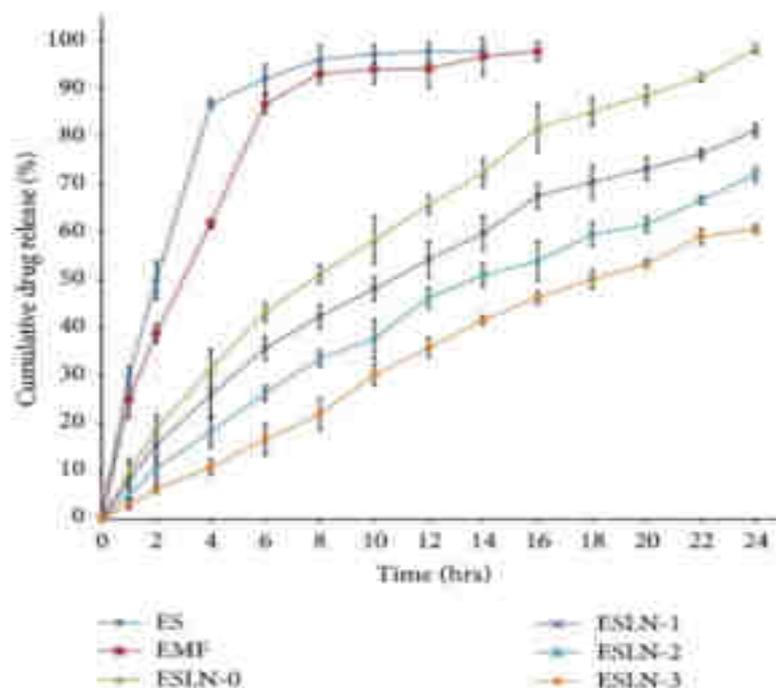


Figure 70 : libération in vitro de médicaments par les SLN, l'ES et le EMF.^[250]

La stabilité des formulations ESLN a également été évaluée sur 180 jours et comme ce que nous avons dit en amont c'est la formulation ESLN-3 qui présente la meilleure stabilité avec une altération négligeable au bout de 180 jours (tableau 12).

Tableau 12 : Caractérisation physique de ESLN-3 après des études de stabilité.^[250]

Formulation code	Days	Characterization parameters							
		Size (nm)		PDI		ζ potential (mV)		EE (%)	
		4°C	25°C	4°C	25°C	4°C	25°C	4°C	25°C
ESLN-3	0ème	124,5 ± 3.2	124,5 ± 3.2	0,234	0,234	-15,9	-15,9	86 ± 1,2	86 ± 1,03
	30e	124,5 ± 1,1	124,8 ± 2,8	0,234	0,235	-15,7	-15,7	85,7 ± 1,1	85,3 ± 2,1
	90e	124,7 ± 2,3	124,9 ± 1,4	0,235	0,235	-15,7	-15,7	85,5 ± 1,5	84,3 ± 1,32
	180e	124,8 ± 1,4	125,2 ± 1,6	0,235	0,236	-15,5	-15,4	85,1 ± 1,3	83,6 ± 1,7

Les paramètres pharmacocinétiques des différentes formulations ont quant à eux été évalués chez le rat après une administration unique par voie orale.

On constate que ESLN-3 présente une plus forte concentration plasmatique maximale (C_{max}) que la formulation ES et EMF (**tableau 13** et **figure 71**). Or la C_{max} d'un médicament augmente avec le degré d'absorption ce qui témoigne que ESLN-3 est mieux absorbé que les autres formulations.

Tableau 13 : Études pharmacocinétiques des formulations sélectionnées.^[250]

Formulation	C_{max} ($\mu\text{g/mL}$) [#]	T_{max} (heures)	ASC ($\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$) [#]	AUMC ($\mu\text{g}\cdot\text{h}^2/\text{mL}$) [#]	K_{el} (h^{-1})	$T_{1/2}$ (heure)	TRM (heure)	RB (%)
ES	0.791 ± 0.33	1 ± 0.11	7.186 ± 1.2	57.08 ± 2.7	0,084	8.25 ± 1.2	11.9	
CEM	1.65 ± 0.94	2 ± 0.27	20.22 ± 1.5	198.4 ± 2.2	0.077	8.98 ± 1.1	12.98	
ESLN-3	4.21 ± 0.63	6 ± 0.17	79.2 ± 1.1	866.6 ± 3.5	0,0263	26.65 ± 0.78	38.48	391,69%

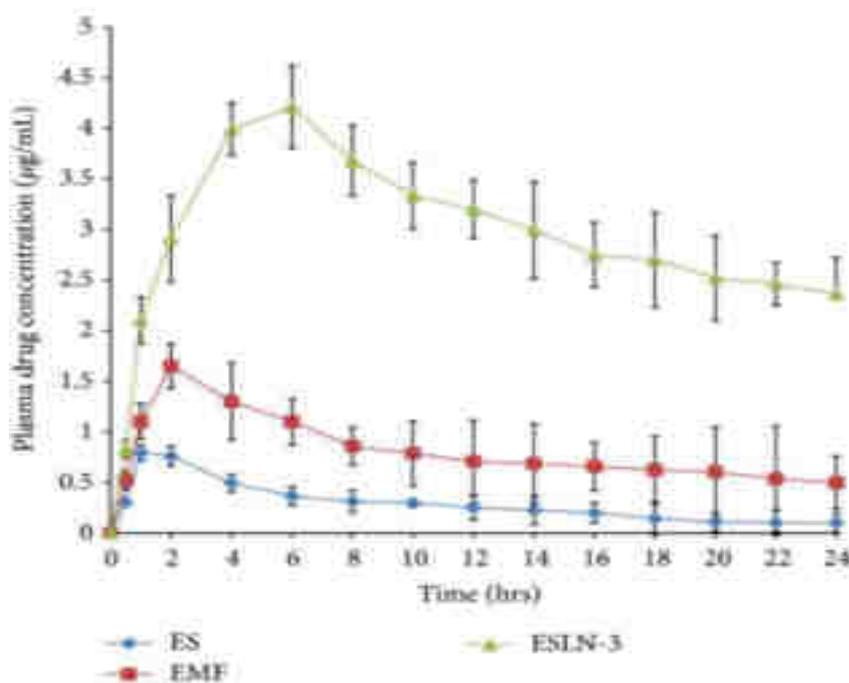


Figure 71 : Profils de concentrations plasmatiques des formulations en fonction du temps.^[250]

De plus, ESLN-3 présente une aire sous la courbe (ASC) quasiment 10 fois plus importante (79.2 $\text{g}\cdot\text{h/mL}$) que la formulation ES (7.186 $\text{g}\cdot\text{h/mL}$ et environ 3,9 fois plus important que la formulation EMF (20.22 $\text{g}\cdot\text{h/mL}$).

Pour finir, on remarque que les paramètres pharmacocinétiques de temps de demi-vie ($T_{1/2}$) et de MRT sont plus élevés chez ESLN-3 que dans les autres formulations ce qui stipule que ESLN-3 est la formulation qui présente le temps de résidence le plus long.

De par ces résultats, nous pouvons dire que toutes les formulations d'éfavirenz encapsulé dans les nanoparticules lipidiques solides présentent un potentiel zêta négatif qui témoigne d'une stabilité de la formulation en raison de leur répulsion électrostatique. Cela pourrait être dû au choix initial de tensioactif utilisé pour stabiliser les formulations. En effet, les auteurs ont choisi d'utiliser du Tween 80 qui favorise la formation de nanoparticules de plus petite taille. Plus la proportion de tensioactif dans la formulation est importante et plus on tend vers la formation de nanoparticules plus petites.

Dans les données de libération de médicament *in vitro*, toutes les formulations ESLN ont montré une libération contrôlée du médicament contrairement aux formulations ES et EMF qui ont toutes les deux montré un profil de libération en rafale. En effet, de par son coefficient de partage de « 5,3 », l'éfavirenz est de nature lipophile, ce qui veut dire que ce dernier diffuse dans le noyau lipidique montrant ainsi un profil de libération prolongée. Nous savons que plus la concentration d'un tensioactif dans une formulation est importante et plus la formulation se voit stabilisée et donc par conséquent libère moins de médicament. C'est ce facteur qui explique que les ESLN ont une libération contrôlée par rapport aux autres formulations.

Pour finir, c'est la formulation ESLN-3 qui a présenté les meilleurs résultats tant dans sa stabilité au long cours, que dans la faible perte de médicaments (« 2.4 % ») pendant le stockage (180 jours). De plus, on a vu qu'elle a présenté une concentration plasmatique bien plus élevée (presque 5 fois supérieure) que dans les autres formulations ce qui témoigne d'une bonne absorption de la formulation par l'organisme du rat.

Pour conclure, ces données montrent que l'encapsulation d'éfavirenz dans les nanoparticules lipides solides améliore grandement son absorption et son temps de résidence dans l'organisme du rat ce qui aboutit à une amélioration de son profil d'administration et donc de son efficacité thérapeutique.

Dans une autre étude, Mancini *et al.*^[251] ont comparé l'efficacité thérapeutique d'une formulation de SLN de étofénamate (SLN-Eto) et de SLN d'ibuprofène (SLN-Ibu) par rapport à leur formulation commerciale sur un modèle de rat qui présente un œdème à la patte induit par l'injection sous cutanée de carraghénane (polysaccharides naturels obtenus à partir d'algues rouges (**figure 72**)). Pour cela, ils ont gélifié les deux formulations de SLN (Gel SLN-Eto et Gel SLN-Ibu) pour produire des hydrogels qui sont plus adaptés à une application cutanée.

Les auteurs ont étudié la stabilité de la formulation SLN chargés d'ibuprofène et de celle chargée d'étofénamate. Ils ont évalué leur taux d'encapsulation. Ils ont également étudié leur cytotoxicité et leur

internalisation in vitro par rapport aux formes commerciales. Ils se sont intéressés à la caractérisation physicochimique, à l'efficacité microbiologique et à la stabilité de l'hydrogel chargé de médicament. Puis ils ont également étudié l'absorption percutanée. Et pour finir ils ont étudié in vivo l'effet anti-inflammatoire de l'étofénamate-SLN Gel et de l'ibuprofène-SLN Gel. C'est de ces données que nous allons décrire ci-dessous.

On remarque d'après la **figure 72**, que les formulations Gel SLN-Eto et Gel SLN-Ibu ont montré une inhibition significative de l'œdème de la patte qui a été induit par carraghénane. Cependant, on remarque que les gels chargés en médicament ne présentent pas des résultats significativement différents des gels commerciaux.

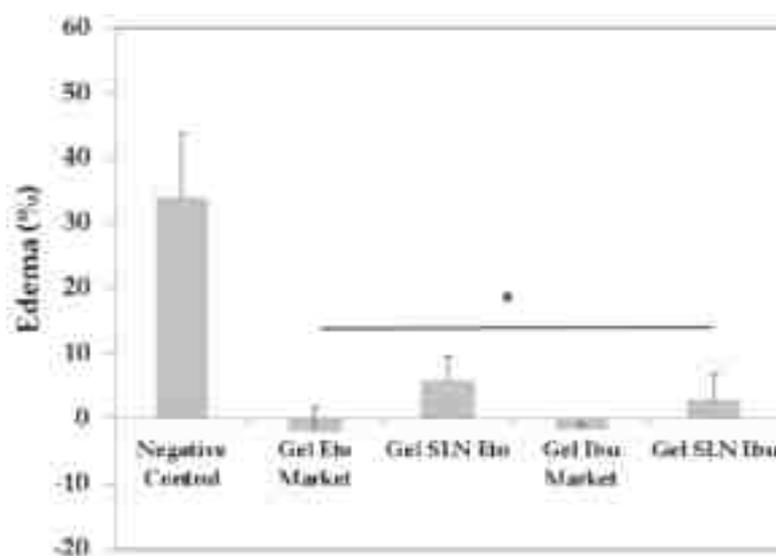


Figure 72 : Inhibition de l'œdème de la patte (%), 5 h après l'injection de carraghénane dans les différents groupes testés : animaux induits non traités (contrôle négatif), gel de référence à l'étofénamate (Gel Eto Market-Reumon® Gel 5%), l'hydrogel étrofénamate-SLN (Gel SLN Eto), le gel de référence ibuprofène (Gel Ibu Market-Ozonol® 5%) et l'hydrogel ibuprofène-SLN (Gel SLN Eto).^[251]

En effet, les rats traités ont présenté un pourcentage d'œdème de « $-2,0 \pm 3,7 \%$ » pour le gel d'étofénamate commercial et de « $5,8 \pm 3,7 \%$ » pour le gel SLN-Eto.

Cependant, il est décrit dans la publication que les auteurs ont appliqués sur les pattes des animaux, une quantité constante de gel à hauteur de 0,2 g. Or, le gel d'étofénamate commercial présente une teneur en médicament bien plus élevée que le gel SLN-Eto, 5 % et 0.6 % respectivement. Cela signifie que les rats traités avec le gel d'étofénamate commercial ont reçu 10 mg d'étofénamate sur la patte alors que les rats traités avec le gel d'étofénamate-SLN ont quant à eux reçu 1,2 mg d'étofénamate.

Ainsi, si le gel SLN-Eto présente les mêmes résultats que le gel commercial mais avec une quantité d'étofénamate moins importante cela signifie que la formulation à base de SLN permet de diminuer la

dose en médicament nécessaire à l'effet anti-inflammatoire. La figure montre un effet anti-inflammatoire similaire avec une dose 8,8 fois plus faible pour le gel SLN-Eto.

Concernant les gels d'ibuprofène, on remarque qu'il y a également une atténuation marquée de l'œdème, que ce soit chez les rats traités avec le gel commercial ou chez les rats traités avec le gel SLN-Ibu. Cependant, nous avons le même constat que pour l'étofénamate. À savoir qu'il n'y a pas de différence significative en termes de pourcentage d'œdème entre le gel commercial d'ibuprofène (« $1,7 \pm 0,9 \%$ ») le gel SLN-Ibu (« $2,9 \pm 4 \%$ »).

Mais là aussi, la quantité de médicament présent dans les gels ne sont pas les mêmes. En effet, il a été appliqué une dose de 10 mg d'ibuprofène avec le gel commercial contre une dose de 0,6 mg pour le gel SLN-Ibu pour une même activité anti-inflammatoire. La **figure 72** montre un effet anti-inflammatoire similaire avec une dose 16,6 fois plus faible pour le gel SLN-Ibu.

Ainsi, toutes les recherches menées par les auteurs démontrent que la nanoencapsulation des AINS dans les SLN associée à un hydrogel adapté est une approche « technologique simple » et « prometteuse » pour l'application cutanée des AINS.

Dans cette dernière étude, Nayek *et al.*^[252] ont développé une formulation de géfitinib encapsulé dans une SLN (SLN-GFT) et se sont intéressés notamment, via une étude de cytotoxicité cellulaire (ligné MCF-7), à l'activité antitumorale d'une telle formulation par rapport au médicament dit « libre ». Pour rappel, le géfitinib (GFT) est un anticancéreux de la classe des quinazolinamines et est le premier inhibiteur sélectif du domaine tyrosine-kinase du récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR). Les tyrosine kinase du EGFR sont responsables d'une prolifération et d'une expression cellulaires élevées dans le cancer. L'expression de l'EGFR est également susceptible d'augmenter dans plusieurs tumeurs solides telles que les types de tumeurs du sein, du poumon, colorectal et du cerveau. Le géfitinib consiste à inhiber, dans les cellules cancéreuses, l'activité kinase de certaines mutations activatrices de l'EGFR, empêchant ainsi l'autophosphorylation des résidus tyrosine associés au récepteur et permettant alors d'inhiber la signalisation de l'EGFR.

La cytotoxicité de la formulation SLN-GFT et de la GFT libre (formulation à base de géfitinib non encapsulé dans une SLN) a été étudiée sur les cellules MCF-7 de cancer du sein humain. Ci-dessous (**figure 73**) est illustré la viabilité des cellules MCF-7 après 24 h d'incubation avec du GFT libre (noté « Pure GFT » dans la figure) et du SLN-GFT à une concentration variable (0, 5 à 20 $\mu\text{g} / \text{ml}$).

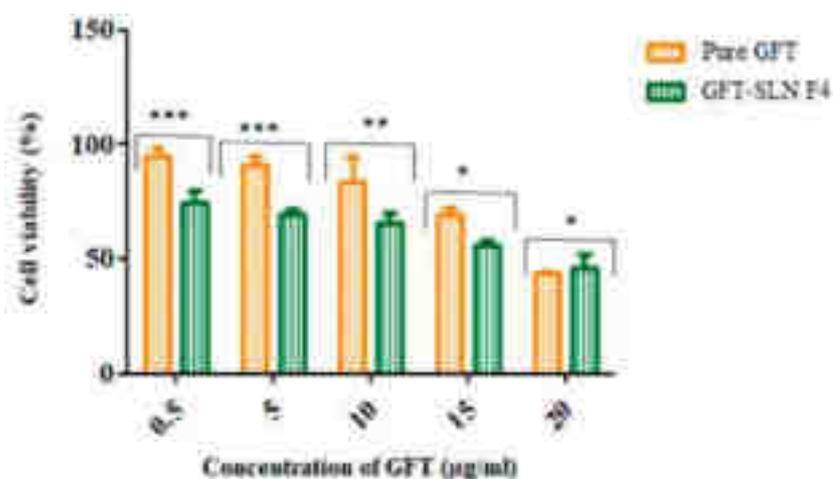


Figure 73 : Cytotoxicité cellulaire in vitro du GFT pur et du GFT-F4-SLN contre les cellules MCF-7.^[252]

On remarque que la viabilité cellulaire a diminué avec une augmentation de la concentration de GFT dans les deux formulations, GFT libre et SLN GFT. Cependant, le pourcentage de diminution de la viabilité cellulaire à une concentration donnée de GFT n'est bien évidemment pas le même entre le GFT libre et la SLN-GFT.

En effet, il est montré que SLN-GFT diminue plus fortement la viabilité des cellules cancéreuses que la GFT libre. Cela peut être attribué à l'internalisation cellulaire efficace (**tableau 14**) des SLN-GFT et à leur effet de libération prolongée (**figure 74**).

Tableau 14 : Efficacité de piégeage des SLN-GFT.^[252]

Formulation No.	Entrapment efficiency (%) ^a
F1	92.63 ± 9.10
F2	97.23 ± 1.64
F3	95.87 ± 4.98
F4	96.66 ± 2.45
F5	93.14 ± 5.25
F6	94.75 ± 7.45
F7	96.21 ± 5.21
F8	93.04 ± 5.93

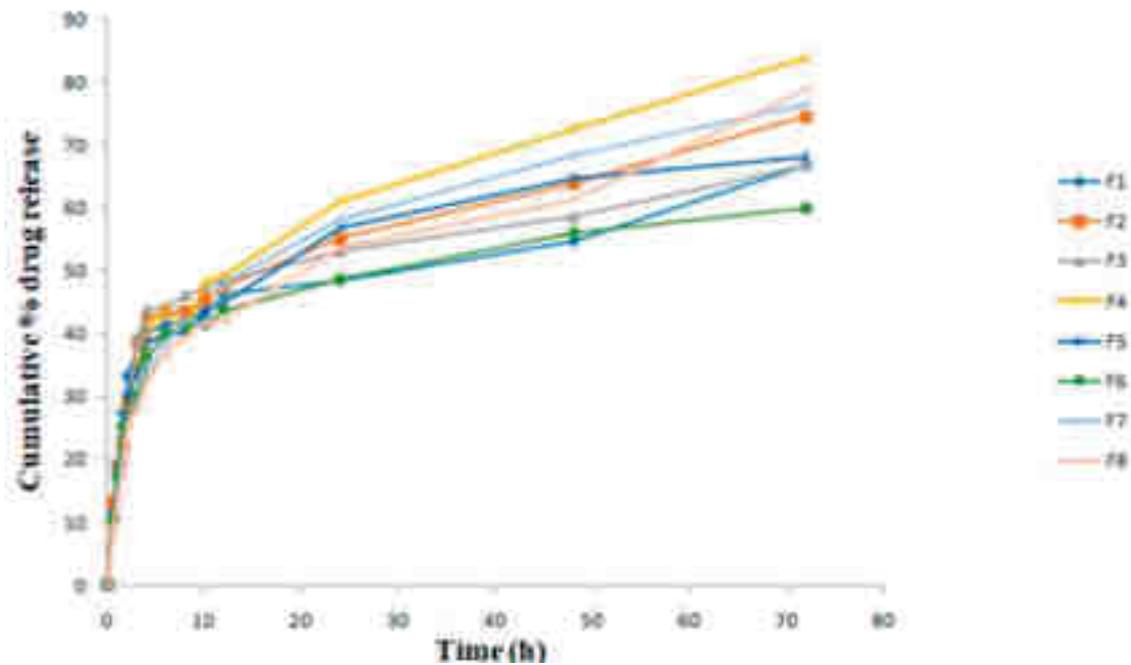


Figure 74 : Profils de libération in vitro de SLNs chargés de GFT.^[252]

Pour décrire l'activité thérapeutique in vitro des SLN-GFT, les SLN ont libéré lentement le GFT de son noyau lipidique par un processus de diffusion après absorption cellulaire pour tuer les cellules cancéreuses. L'activité thérapeutique accrue peut être ainsi être dû à l'absorption accrue de SLN aux concentrations cellulaires et à la présence significative d'EGFR dans les cellules cancéreuses. Cette étude démontre ainsi l'efficacité d'un tel système dans la formulation des médicaments anticancéreux tant dans l'amélioration de leurs absorptions que dans leurs efficacité et cible thérapeutiques. De nombreuses études avaient déjà prouvé que l'encapsulation d'un agent chimiothérapeutique dans des SLN est une approche efficace pour améliorer leur délivrance intracellulaire et renforcer leur efficacité antitumorale.

Ainsi, ces études montrent qu'il y a un réel intérêt à utiliser les SLN pour la formulation des médicaments tant dans leur administration que dans leur activité thérapeutique. Certes ces études ne montrent que des résultats qui confortent l'idée d'utiliser de telles formulations et bien entendu nombreuses sont les études qui n'ont montré aucune différence entre les médicaments encapsulés dans les SLN et leur forme libre. L'idée de ce mémoire est de montrer que les SLN ont un avenir prometteur dans la formulation de médicament et que c'est en continuant les recherches que nous finirons par trouver la formulation « idéale ».

II.4.6. Administration et applications des SLN

De par leurs nombreux avantages les SLN et NLC ont été considérés comme un support colloïdal lipophile alternatif efficace et non toxique pour l'administration de divers médicaments et d'autres macromolécules biologiques afin de traiter diverses maladies.

En effet, leurs dimensions colloïdales et les actions de libération contrôlée facilitent la protection et l'administration des médicaments par voie parentérale et non parentérale.

Il a été vu qu'ils pouvaient pénétrer la barrière hémato-encéphalique (BHE) en raison de l'adsorption de protéines sanguines telles que les apolipoprotéines à leur surface, ce qui peut faciliter l'adhérence aux cellules endothéliales.

Ainsi, diverses voies d'administrations ont été rapportées pour l'administration à l'aide de SLN. C'est ce que nous allons ci-dessous.

Nous savons que dans la voie orale, un effet de premier passage hépatique élevé et/ou une solubilité partielle du médicament entraîne une faible biodisponibilité orale, ce qui est le défi le plus important dans le système d'administration orale de médicament. Une biodisponibilité orale améliorée est obtenue en incorporant des systèmes d'administration de médicaments à base de lipide.

Les SLN ont l'avantage de permettre une libération prolongée du médicament pour maintenir une concentration plasmatique constante. Cela va beaucoup dépendre des lipides et des tensioactifs qui les composent. À l'EPH et à la solubilité du médicament s'ajoutent d'autres facteurs qui posent problème dans l'administration orale tels que les pompes d'efflux de glycoprotéine P et la dégradation enzymatique ou chimique.

Des nanoparticules lipidiques pourraient améliorer le transport lymphatique et inhiber l'effet de premier passage hépatique. Par exemple, Negi *et al.*^[253] ont développé une formulation de lopinavir encapsuler dans une SLN à l'aide de la technique d'auto-nano-émulsification à chaud. Le lopinavir présente une faible biodisponibilité orale de base ainsi les auteurs ont pu démontrer que la biodisponibilité orale du lopinavir fût améliorée en raison d'une absorption lymphatique intestinale plus élevée des SLN chargés de lopinavir.

Dans une autre étude, Silva *et al.*^[254] ont développé des SLN chargés en rispéridone et ont analysé pour sa stabilité, sa libération du médicament et sa biodisponibilité. Il en est ressorti une amélioration considérable de la biodisponibilité de la rispéridone et cela malgré qu'elle soit peu soluble dans l'eau.

Nous pouvons également citer l'étude menée par Singh *et al.*^[255] dans laquelle ils ont développé des

SLN chargés de rifampicine pour empêcher l'hydrolyse du médicament à pH acide dans l'estomac. Cette formulation a non seulement empêché la dégradation du médicament, mais a également réduit le risque d'échec du traitement.

Ainsi, de manière générale les études mettent en avant un intérêt non négligeable des SLN dans l'administration des médicaments par voie orale puisqu'ils augmentent la biodisponibilité, protègent les médicaments du métabolisme intra-entérocyte, diminuent l'EPH, libèrent le médicament de manière contrôlée et prolongent le temps de séjour du médicament.

Le principal défi de la barrière cutanée est le passage de la couche cornée, or la plupart des médicaments présentent une faible efficacité à pénétrer à travers la peau. Ceci peut cependant être contourné en changeant la perméation des follicules ou le passage transcellulaire à paracellulaire. Les SLN ont donc été fabriqués pour améliorer la perméation ou la pénétration dans la peau puisqu'ils ont le potentiel de délivrer directement le médicament au site d'action, ce qui générera des concentrations tissulaires plus élevées. Dans une étude, Vaghasiya *et al.*^[256] ont développé des SLN chargés en terbinafine qui ont permis une libération prolongée en médicament qui a eu comme effet de diminuer la charge fongique de *Candida albicans* chez les rats par rapport au produit commercial sur une durée plus courte.

À noter que pour pouvoir être administré correctement, les SLN doivent être incorporés dans une pommade ou un gel afin d'obtenir une formulation administrable sur la peau.

L'étape d'incorporation implique une réduction supplémentaire de la teneur en lipides de la dispersion de SLN résultant en des systèmes semi-solides de type gel ou pommade.

Ainsi, les SLN permettent une amélioration de la pénétration cutanée, une accumulation de médicament au niveau de la barrière cutanée, une amélioration de la solubilité des médicaments et évitent l'absorption systémique et les effets secondaires.

L'administration oculaire de médicaments présente plusieurs inconvénients dus aux caractéristiques physiologiques et anatomiques des yeux. L'administration du médicament se fait souvent dans le segment frontal de l'œil. Le flux sanguin conjonctival, la barrière sanguine oculaire, l'épithélium cornéen et le drainage des larmes sont souvent des défis à surmonter. Les SLN ont montré une bonne propriété de perméation pour la délivrance oculaire. Les SLN peuvent traverser la barrière sanguine oculaire, contrôler la libération de médicaments et protéger les médicaments des enzymes lacrymales ce qui a permis d'augmenter le temps de rétention pré-cornéen du médicament par rapport aux solutions ophtalmiques conventionnelles. Les points importants que les SLN doivent respecter afin d'être utilisés à des fins ophtalmiques sont la compatibilité oculaire, la stérilité, l'isotonicité et le pH.

Dans une étude, Khurana *et al.*^[257] ont développé une SLN oculaire de moxifloxacin qui a présenté une libération prolongée de moxifloxacin au site d'application.

Ainsi, les SLN permettent une haute perméabilité oculaire, une libération prolongée et contrôlée, une amélioration de la biodisponibilité et de la distribution oculaire du médicament, inhibe la toxicité oculaire et une bonne stabilité et biocompatibilité.

De par leur petite taille, les SLN chargées de médicament peuvent être injectées par voie intramusculaire, sous-cutanée, intraveineuse et directement adjacentes aux organes cibles.

Dans une étude, Miao *et al.*^[258] ont développé des SLN chargés en paclitaxel et des SLN chargés en doxorubicine qui ont montré une activité tumorale contre les cellules cancéreuses MCF-7 supérieures à celle induite par leurs formulations libres.

À noter que la voie intraveineuse est la plus étudiée pour l'administration ciblée. Yang *et al.*^[259] ont développé des SLN chargés de camptothécine et l'ont injecté par voie intraveineuse chez la souris. Ils ont constaté que les SLN augmentent l'ASC/dose et MRT, en particulier dans le cerveau, par rapport à une formulation libre. Ce qui a suggéré le potentiel de ciblage cérébral des SLN.

La voie pulmonaire a la capacité de délivrer des médicaments de manière non invasive à l'aide d'un dispositif ou d'un inhalateur pour atteindre la circulation systémique, en contournant le métabolisme de premier passage ou pour traiter certaines maladies pulmonaires. Grâce à ce profil d'administration directe, la quantité de médicament peut être réduite, diminuant par la suite les effets indésirables du médicament. De plus, la dégradation des médicaments dans les poumons est lente en raison de la faible activité enzymatique extracellulaire et intracellulaire. Ainsi, même les composés avec de faibles taux d'absorption peuvent être absorbés en une quantité relativement élevée après application pulmonaire.

Dans une étude menée par Videira *et al.*^[260] des SLN chargés de paclitaxel ont été délivrés aux lymphatiques pulmonaires par la voie pulmonaire dans le carcinome mammaire expérimental de souris. Les SLN chargés de paclitaxel ont montré une efficacité 20 fois supérieure à celle de paclitaxel non encapsulé sur les cellules MXT-B2.

De plus, les SLN sont utiles pour améliorer l'absorption des médicaments et l'efficacité du transport dans les macrophages alvéolaires dans le traitement des maladies liées aux poumons ou aux maladies non pulmonaires.

Ainsi, les SLN présentent des caractéristiques biopharmaceutiques améliorées, une libération prolongée de médicaments, une amélioration de la biodisponibilité, un temps de séjour prolongé du médicament dans les poumons, un potentiel dans le traitement du cancer du poumon, une livraison potentielle de gènes de SLN cationiques, une prévention des effets indésirables des médicaments, une faible toxicité, une mucoadhérence et inhibent la dégradation des peptides immatures et des protéines dans les systèmes pulmonaires systémiques d'administration de médicaments.

Pour conclure, les SLN peuvent être utilisées dans de nombreuses voies d'administration et d'applications thérapeutiques. Cette figure (**figure 75**) résume les applications auxquelles les SLN ont un fort potentiel.



Figure 75 : Les différentes applications des SLN.^[261]

II.4.7. Conclusion

Les nanoparticules lipidiques solides sont des particules de petite taille composées d'une matrice lipidique solide qui peut être utilisée pour encapsuler des médicaments ou des agents thérapeutiques. Elle est utilisée comme une approche de médicament pour délivrer des médicaments dans les tissus pour des applications thérapeutiques. Les nanoparticules lipidiques solides ont des avantages tels que la biocompatibilité, la stabilité et la reproductibilité du processus de fabrication et la biodégradabilité des matières premières utilisées. Ils ont également une grande surface spécifique, ce qui facilite leur

absorption par les cellules cibles et augmente l'efficacité de la livraison du médicament.

Les SLN sont capables de protéger les substances actives des enzymes de dégradation, ce qui augmente leur stabilité dans le corps et augmente leur biodisponibilité. Elles peuvent être modifiées pour cibler des cellules spécifiques de l'organisme, ce qui permet une administration ciblée du médicament. Elles ont la capacité de transporter des molécules de petites tailles ou des macromolécules tels que des protéines, des lipides et des acides nucléiques. Elles garantissent une certaine sécurité pour l'organisme car elles sont composées de constituants biodégradables sûrs et non toxiques. De plus, les SLN peuvent être produits facilement et à grande échelle, ce qui les rend très intéressants pour une utilisation en production industrielle.

En conclusion, les nanoparticules lipidiques solides représentent une avancée importante dans le domaine de la formulation des médicaments. Grâce à leur capacité à encapsuler différents agents thérapeutiques, elles offrent une efficacité accrue et une meilleure biodisponibilité du médicament. De plus, leur faible toxicité et leur capacité à améliorer la stabilité des composants actifs en font une alternative intéressante aux formulations traditionnelles de médicaments. Toutefois, il est important de continuer à étudier leurs effets à long terme sur la santé humaine ainsi que leur impact environnemental afin de garantir leur sécurité et leur durabilité. En somme, les nanoparticules lipidiques solides représentent une voie prometteuse pour la conception de nouveaux médicaments efficaces et sûrs dans le futur.

PERSPECTIVES ET CONCLUSION

Aujourd'hui, il existe plusieurs structures nanométriques pour l'encapsulation des molécules. Que ces structures soient polymériques, lipidiques ou inorganiques, elles permettent toutes l'encapsulation de médicament et présentent toutes leurs lots d'avantages et d'inconvénients.

Nous avons fait le choix de nous pencher sur les nanoparticules à base de lipides dans cet écrit. En effet, elles se distinguent des autres classes de nanoparticules de par leurs compositions à base de lipides, d'eau et de tensioactifs qui présentent une biocompatibilité au système biologique humain et une facilité à être modifiable. Nous avons pu voir que c'est une bonne stabilité de ce système qui permet à la fois au médicament d'être administré dans les bonnes conditions et de garantir son objectif thérapeutique

Dans ce mémoire nous nous sommes concentrés sur trois types de nanoparticules à base de lipides :

- Les Liposomes
- Les Nanoémulsions
- Les Nanoparticules lipidiques solides

Ces trois types de nanoparticules ont longuement été étudiés et est ressortie une idée générale : ce sont des vecteurs prometteurs dans la formulation des médicaments.

En effet, leur taille nanométrique, leur capacité d'encapsuler des composés qui sont à la fois hydrophobes, hydrophiles et mêmes des macromolécules et leur biocompatibilité avec l'organisme font d'eux de redoutables vecteurs médicamenteux.

Nous avons listé ci-dessous quelques-unes des perspectives les plus intéressantes de ces nanoparticules :

En termes de développement, ils peuvent être utilisés pour délivrer des médicaments qui ne sont pas solubles dans l'eau, comme les composés hydrophobes. Cela va donc ouvrir la voie à de nouveaux médicaments qui n'ont pas pu être développés auparavant en raison de leur faible solubilité.

En termes d'administration ciblée, les nanoparticules à base de lipides peuvent être modifiées avec des ligands qui se lient spécifiquement à des récepteurs exprimés sur les cellules tumorales ou inflammatoires. Cela permet une administration ciblée de médicaments aux sites de maladies spécifiques, réduisant ainsi les effets secondaires indésirables.

En termes de biodisponibilité, les nanoparticules à base de lipides peuvent améliorer la biodisponibilité des médicaments en augmentant leur stabilité et leur temps de circulation dans le corps. Cela peut améliorer l'efficacité des médicaments tout en réduisant la quantité nécessaire pour obtenir l'effet désiré.

En termes d'innovation vaccinale, ils peuvent être utilisés pour développer des vaccins contre les maladies infectieuses. Les antigènes peuvent être encapsulés dans les nanoparticules, ce qui améliore leur stabilité et leur capacité à délivrer les antigènes aux cellules immunitaires. C'est grâce à cette technologie que les vaccins Covid-19 ont pu être développés et injectés.

En termes de diagnostic, les nanoparticules à base de lipides peuvent également être utilisées à des fins de diagnostic. Les nanoparticules peuvent être modifiées avec des sondes spécifiques qui ciblent des biomarqueurs, permettant la détection précoce de maladies.

Ce ne sont qu'une partie des perspectives présentes et futures des nanoparticules à base de lipides mais nous aurions également pu citer leur potentiel dans l'administration alimentaire à but thérapeutiques ou la cosmétique. Deux aspects complètement différents mais dont l'utilisation de la même technologie peut grandement améliorer leur finalité.

En conclusion, les nanoparticules à base de lipides sont une technologie de plus en plus prometteuse dans la formulation des médicaments en raison de leur capacité à encapsuler des composés hydrophobes ou hydrophiles et à les délivrer de manière ciblée. Ces nanoparticules offrent à la fois de nombreux avantages tels qu'une administration ciblée de médicaments, une amélioration de la biodisponibilité, une capacité à développer de nouveaux médicaments, à développer des vaccins et à des fins de diagnostic et à la fois de nombreuses applications potentielles dans les domaines de la médecine, de la pharmacologie et du diagnostic.

Cependant, malgré leur potentiel, il reste encore des défis à relever pour la mise en œuvre clinique de cette technologie. La sécurité et la toxicité des nanoparticules à base de lipides, ainsi que leur capacité à être produites à grande échelle et à un coût raisonnable, doivent être soigneusement étudiées. Néanmoins, les nanoparticules à base de lipides représentent une avancée importante dans la formulation des médicaments et ont le potentiel de changer la façon dont nous traitons les maladies dans l'avenir.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Hennequin P. Santé et hygiène de l'enfant dans l'Égypte ancienne. Th D Médecine, Nancy (2001)
- [2] Ministère de la Santé et de la Prévention. M. de la S. et de la Prévention et M. de la S. et de la Prévention. Qu'est-ce qu'un médicament ? [Internet]. [cité 30 août 2023]. Disponible sur: <https://sante.gouv.fr/soins-et-maladies/medicaments/le-bon-usage-des-medicaments/article/qu-est-ce-qu-un-medicament>
- [3] Mehnert W, Mäder K. Solid lipid nanoparticles: Production, characterization and applications. Adv Drug Deliv Rev. 25 avr 2001; vol 47(2): p.165-96
- [4] Gierden A. Administration par voie orale des composés BCS classe II: réponses galéniques au problème de la faible solubilité aqueuse. Th D Pharmacie, Nancy (2016)
- [5] Resende De Azevedo J. Étude de la cristallisation d'une nouvelle molécule à efficacité cardiotonique dans un mélange liquide ionique-eau. Th D Génie des procédés et de l'Environnement, Toulouse (2014)
- [6] Lin CH, Chen CH, Lin ZC, Fang JY. Recent advances in oral delivery of drugs and bioactive natural products using solid lipid nanoparticles as the carriers. J Food Drug Anal. avr 2017; vol 25(2): p.219-34.
- [7] Duan Y, Dhar A, Patel C, Khimani M, Neogi S, Sharma P, et al. A brief review on solid lipid nanoparticles: part and parcel of contemporary drug delivery systems. RSC Adv. 10(45):26777-91.
- [8] Vidal. Les excipients à effet notoire [Internet]. [cité 30 août 2023]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/utilisation/prendre-traitement/excipients-effet-notoire.html>
- [9] Édition professionnelle du Manuel MSD. Revue générale de la pharmacocinétique-Pharmacologie clinique [Internet]. [cité 30 août 2023]. Disponible sur : <https://www.msdmanuals.com/fr/professional/pharmacologieclinique/pharmacocin%C3%A9tique-revue-g%C3%A9n%C3%A9rale-de-la-pharmacocin%C3%A9tique>
- [10] EUPATI Toolbox. Types d'études réalisées dans le cadre du développement clinique précoce [Internet]. [cité 30 août 2023]. Disponible sur: <https://toolbox.eupati.eu/resources/types-detudes-realisees-dans-le-cadre-du-developpement-clinique-precoce/?lang=fr&print=print>
- [11] Alexandre J. Principes de Pharmacocinétique.pdf [Internet]. [cité 30 août 2023]. Disponible sur: https://pharmacomedicale.org/images/cnpm/desc/J_ALEXANDRE_Notions_PK_de_base.pdf
- [12] Boulanger T. Les Formes Pharmaceutiques et les voies d'administration.pdf [Internet]. [cité 30 août 2023]. Disponiblesur:<https://www.chcarcassonne.fr/imgfr/files/lesformespharmaceutiquesetlesvoiesdadministrationdrboulanger.pdf>

- [13] Guedon R. La biodisponibilité en nutraceutique [Internet]. [cité 5 sept 2023]. Disponible sur: <https://www.dynveo.fr/blog/biodisponibilite-n15>
- [14] Perucca P. Les interactions entre les aliments et les médicaments dans la pratique officinale. Th D Pharmacie, Grenoble (2017)
- [15] Édition professionnelle du Manuel MSD. Absorption des médicaments - Pharmacologie clinique. [Internet]. [cité 30 août 2023]. Disponible sur: <https://www.msmanuals.com/fr/professional/pharmacologie-clinique/pharmacocin%C3%A9tique/absorption-des-m%C3%A9dicaments>
- [16] Duquette JB. Chapitre 1: Le Vivant Zoom sur l'organisation du vivant p.6 [Internet]. [cité 5 sept 2023]. Disponible sur: <https://slideplayer.fr/slide/10663930/>
- [17] Houda F. PHARMACOCINETIQUE [Internet]. [cité 30 août 2023]. Disponible sur: <https://slideplayer.fr/slide/3820797/>
- [18] Davis JL. Chapter 2 - Pharmacologic Principles. S.M. Reed, W.M. Bayly, D.C. Sellon (Eds.), Equine Internal Medicine, W. B. Saunders; 2018 p.79-137
- [19] Toutain PL, Bousquet-Melou A. La biodisponibilité et son évaluation [Internet]. [cité 30 août 2023]. Disponible sur: https://physiologie.envt.fr/wp-content/uploads/2007/03/La_biodisponibilite_et_son_evaluation.pdf
- [20] Papakostas D, Rancan F, Terry W, Blume-Peytavi U, Vogt A. Nanoparticules en dermatologie. *Arch Dermatol Res*, 2011, 303, 533-550. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00403-011-1163-7>, consulté le 30 août 2023.
- [21] Le H, Karakasyan C, Jouenne T, Le Cerf D, Dé E. Application of Polymeric Nanocarriers for Enhancing the Bioavailability of Antibiotics at the Target Site and Overcoming Antimicrobial Resistance. *Appl. Sci.* 2021, 11, 10695. <https://doi.org/10.3390/app112210695>, consulté le 30 août 2023.
- [22] Izadi Z, Divsalar A, Saboury AA, Sawyer L. β -lactoglobulin–pectin Nanoparticle-based Oral Drug Delivery System for Potential Treatment of Colon Cancer. *Chem Biol Drug Des.* 2016; vol 88(2): p.209-16.
- [23] Guitou MA. Nanoparticules et santé : des applications aux risques potentiels. L'exemple du TiO₂. Th D Pharma, Bordeaux (2014)
- [24] Guitou MA. Nanoparticules et santé : des applications aux risques potentiels. L'exemple du TiO₂. Th D Pharma, Bordeaux (2014)
- [25] Snopczyński T, Góralczyk K, Czaja K, Struciński P, Hernik A, Korcz W, et al. [Nanotechnology--possibilities and hazards]. *Rocz Panstw Zakl Hig.* 2009; vol 60(2): p.101-11.
- [26] Lagarce F. Devenir des nanoparticules utilisées comme médicament dans l'organisme [Internet]. [cité 30 août 2023]. Disponible sur: <https://univ-angers.hal.science/hal-03179478/document>

- [27] Site du Collège National de Pharmacologie Médicale. Etapes du devenir du médicament [Internet]. [cité 30 août 2023]. Disponible sur: <https://pharmacomedicale.org/pharmacologie/pharmacocinetique/36-etapes-du-devenir-du-medicament>
- [28] Bousquet-Mélou A. liaisons-aux-protéines-plasmatiques [Internet]. [cité 30 août 2023]. Disponible sur: https://physiologie.envt.fr/wp-content/uploads/2020/03/6-Liaison-aux-prote%CC%81ines-plasmatiques_-_VU.pdf
- [29] Boubekri C. Cours de Pharmacocinétique.pdf [Internet]. [cité 5 sept 2023]. Disponible sur: http://elearning.univ-biskra.dz/moodle/pluginfile.php/304930/mod_resource/content/1/Cours%20de%20Pharmacocin%C3%A9tique.pdf
- [30] Tillement JP, Duché JC, Barré J. Liaisons des médicaments aux protéines circulantes : caractéristiques, rôles et modifications physio-pathologiques. Bull Académie Natl Médecine. avr 2006; vol 190(4-5): p.935-47.
- [31] Socha M. Développement de nanoparticules furtives. Th D Pharma, Nancy (2007)
- [32] Pareek V, Bhargava A, Bhanot V, Gupta R, Jain N, Panwar J. Formation and Characterization of Protein Corona Around Nanoparticles: A Review. J Nanosci Nanotechnol. oct 2018; vol 18(10): p.6653-70.
- [33] Beifuss K. Les différents tissus de l'organisme. Elsevier Masson editors. Anatomie et physiopathologie en soins infirmiers.
- [34] Raub TJ, Kuentzel SL, Sawada GA. Permeability of bovine brain microvessel endothelial cells in vitro: barrier tightening by a factor released from astrogloma cells. Exp Cell Res. avr 1992; vol 199(2): p.330-40.
- [35] Furnon W. La protéine non-structurale NS1 du virus West Nile : étude fonctionnelle et cible potentielle de nouvelles molécules antivirales. Th D Sciences du vivant. Lyon (2018)
- [36] Édition professionnelle du Manuel MSD. Distribution des médicaments dans les tissus- Pharmacologie clinique [Internet]. [cité 31 août 2023]. Disponible sur: <https://www.msmanuals.com/fr/professional/pharmacologie-clinique/pharmacocin%C3%A9tique/distribution-des-m%C3%A9dicaments-dans-les-tissus>
- [37] Zein R, Sharrouf W, Selting K. Physical Properties of Nanoparticles That Result in Improved Cancer Targeting. J Oncol. 13 juill 2020;2020:e5194780.
- [38] Tung HY, Su YC, Chen BM, Burnouf PA, Huang WC, Chuang KH, et al. Selective Delivery of PEGylated Compounds to Tumor Cells by Anti-PEG Hybrid Antibodies. Mol Cancer Ther. juin 2015; vol 14(6): p.1317-26.

- [39] Kale AA, Torchilin VP. “Smart” Drug Carriers: PEGylated TATp-Modified pH-Sensitive Liposomes. *J Liposome Res.* 1 janv 2007; vol 17(3-4): p.197-203.
- [40] Matsumura Y, Maeda H. A New Concept for Macromolecular Therapeutics in Cancer Chemotherapy: Mechanism of Tumorotropic Accumulation of Proteins and the Antitumor Agent Smancs1. *Cancer Res.* déc 1986; vol 46(12_Part_1): p.6387-92.
- [41] Institut Français de l'Éducation. Les événements vasculaires de la réaction inflammatoire [Internet]. [cité 1 sept 2023]. Disponible sur: <http://acces.ens-lyon.fr/acces/thematiques/immunité-et-vaccination/thematiques/immunité-innée-barrières-naturelles-et-réaction-inflammatoire/les-evenements-vasculaires-au-cours-d2019une-réaction-inflammatoire>
- [42] Lockman PR, Mumper RJ, Khan MA, Allen DD. Nanoparticle technology for drug delivery across the blood-brain barrier. *Drug Dev Ind Pharm.* 2002 Jan; vol 28(1): p.1-13.
- [43] Andrieux K, Couvreur P. Nanoparticules pour la délivrance cérébrale de principes actifs ou d'agents de contraste. Application à la maladie d'Alzheimer. *Biologie Aujourd'hui.* Nov 2012 ; vol 206 (3), p.185-190.
- [44] Site du Collège National de Pharmacologie Médicale. Biotransformations [Internet]. [cité 5 sept 2023]. Disponible sur : <https://pharmacomedicale.org/pharmacologie/pharmacocinétique/36-etapes-du-devenir-du-medicament/72-biotransformations>
- [45] CHUPS. Pharmacocinétique et métabolisme des médicaments [Internet]. [cité 1 sept 2023]. Disponible sur : <https://archive.wikiwix.com/cache/index2.php?url=http%3A%2F%2Fwww.chups.jussieu.fr%2Fpoly%2Fpharmaco%2Fpoly%2FPOLY.Chp.4.4.html#federation=archive.wikiwix.com&tab=url>
- [46] Guttman Y, Kerem Z. Modélisation assistée par ordinateur (In Silico) des interactions alimentaire-médicament médiées par le cytochrome P450 (FDI). *Revue internationale des sciences moléculaires.* 2022 july. vol 23(15) :8498.
- [47] Pharma-Flash. Interactions médicamenteuses et cytochromes P450 [Internet]. [cité 1 sept 2023]. Disponible sur: https://www.hug.ch/sites/interhug/files/structures/pharmacologie_et_toxicologie_cliniques/documents/2002_29_4.pdf
- [48] Loftsson T, Thorisdottir S, Fridriksdóttir H, Stefansson E. Enalaprilat and enalapril maleate eyedrops lower intraocular pressure in rabbits. *Acta Ophthalmologica.* 2010 April; vol 88(issue 3): p.337-41.
- [49] Site du Collège National de Pharmacologie Médicale. Biotransformations [Internet]. [cité 1 sept 2023]. Disponible sur : <https://pharmacomedicale.org/pharmacologie/pharmacocinétique/36-etapes-du-devenir-du-medicament/72-biotransformations>

- [50] Manuels MSD pour le grand public. Élimination des médicaments [Internet]. [cité 1 sept 2023]. Disponible sur: <https://www.msmanuals.com/fr/accueil/m%C3%A9dicaments/administration-des-m%C3%A9dicaments-et-pharmacocin%C3%A9tique/%C3%A9limination-des-m%C3%A9dicaments>
- [51] Jamon A. Insuffisance rénale chronique à l'officine : rôles, conseils et prévention du pharmacien d'officine. Th D Pharmacie. Clermont Auvergne (2021)
- [52] Darouiche T. Métabolisme médicamenteux [Internet]. [cité 5 sept 2023]. Disponible sur: https://univ.ency-education.com/uploads/1/3/1/0/13102001/pharmaco3an-metabolisme_medicamenteux2017.pdf
- [53] Feynman RP. There's plenty of room at the bottom. *J Microelectromechanical Syst.* 1992 mars; vol 1(1): p.60-6.
- [54] Hulla JE, Sahu SC, Hayes AW. Nanotechnology: History and future. *Hum Exp Toxicol.* 2015 dec; vol 34(12): p.1318-21.
- [55] Royal Society and Royal Academy of Engineering. Nanoscience and nanotechnologies opportunities and uncertainties. London : RS/RAEng; 2004 p.5.
- [56] ISO. ISO/TR 13014:2012, Nanotechnologies - Directives relatives à la caractérisation physico-chimique des nano-objets manufacturés soumis aux essais toxicologiques [Internet]. [cité 1 sept 2023]. Disponible sur: <https://www.iso.org/obp/ui/fr/#iso:std:iso:tr:13014:ed-1:v1:fr>
- [57] Kreuter J. Nanoparticles - a historical perspective. *Int J Pharm.* 22 févr 2007; vol 331(1): p.1-10.
- [58] Harun-Ur-Rashid M, Bin Imran A. Nanomaterials in the Automobile Sector, *Materials Research Foundations*, vol. 141; 2023 p.124-150.
- [59] Guitou MA. Nanoparticules et santé : des applications aux risques potentiels. L'exemple du TiO₂. Th D Pharma, Bordeaux (2014)
- [60] Radetić M. Functionalization of textile materials with TiO₂ nanoparticles. *J Photochem Photobiol C Photochem Rev.* 2013 sept; vol 16: p.62-76.
- [61] Saha K, Agasti SS, Kim C, Li X, Rotello VM. Gold nanoparticles in chemical and biological sensing. *Chem Rev.* 2012 May; vol 112(5): p.2739-79.
- [62] Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Nanotechnologies et nanoparticules dans l'alimentation humaine et animale [Internet]. [cité 1 sept 2023]. Disponible sur: <https://www.anses.fr/fr/system/files/RCCP-Ra-NanoAlimentation.pdf>
- [63] Soliman OY. Développement de complexes polyélectrolytes à base d'acide hyaluronique et de chitosane pour la livraison d'ARN messenger. Mémoire de maîtrise, Montréal (2018)
- [64] Sharma G, Sharma AR, Nam JS, Doss GPC, Lee SS, Chakraborty C. Nanoparticle based insulin delivery system: the next generation efficient therapy for Type 1 diabetes. *J Nanobiotechnol.* 2015 oct; 13, 74.

- [65] Gan Q, Wang T. Chitosan nanoparticle as protein delivery carrier—Systematic examination of fabrication conditions for efficient loading and release. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2007 sep ; vol 59(1): p.24-34.
- [66] Bellino MG, Soler-Illia GJAA. Nano-Designed Enzyme-Functionalized Hierarchical Metal-Oxide Mesoporous Thin Films: En Route to Versatile Biofuel Cells. *Small*. 2014 ; vol 10(14): p.2834-9.
- [67] Lee JM, Yoon TJ, Cho YS. Recent Developments in Nanoparticle-Based siRNA Delivery for Cancer Therapy. *BioMed Res Int*. 2013 june:e782041.
- [68] Tenchov R, Bird R, Curtze AE, Zhou Q. Lipid Nanoparticles—From Liposomes to mRNA Vaccine Delivery, a Landscape of Research Diversity and Advancement. *ACS Nano*. 2021 nov ; vol 15(11): p.16982-7015.
- [69] Bangham AD, Horne RW. Negative staining of phospholipids and their structural modification by surface-active agents as observed in the electron microscope. *J Mol Biol*. 1964 janv; vol 8(5): p.660-1010.
- [70] He H, Lu Y, Qi J, Zhu Q, Chen Z, Wu W. Adapting liposomes for oral drug delivery. *Acta Pharm Sin B*. 2019 janv; vol 9(1): p.36-48.
- [71] Bioanalysis. In vitro and in vivo characterizations of PEGylated liposomal doxorubicin [Internet]. [cité 5 sept 2023]. Disponible sur: <https://www.future-science.com/doi/10.4155/bio.10.204>
- [72] Barenholz Y (Chezy). Doxil® — The first FDA-approved nano-drug: Lessons learned. *J Controlled Release*. 2012 june ; vol 160(2): p.117-34.
- [73] Bartee L. The Plasma Membrane [Internet] [cité 5 sept 2023]; Disponible sur: <https://pressbooks.pub/mhccbiology112/chapter/the-plasma-membrane/>
- [74] Ahmed K, Hussein S, Ali A, Korma S, Lipeng Q, Chen J. Liposome : composition, characterization, preparation, and recent innovation in clinical applications. *J Drug Target*. 2018 sept ; vol 27: p.1-58.
- [75] Lila ASA, Ishida T. Liposomal Delivery Systems: Design Optimization and Current Applications. *Biol Pharm Bull*. 2017 janv; vol 40(1): p.1-10.
- [76] Zhao J, Mao S. Chapter Three - Tuning the membrane fluidity of liposomes for desirable in vivo fate with enhanced drug delivery. In: Iglič A, Rappolt M, García-Sáez AJ, éditeurs. *Advances in Biomembranes and Lipid Self-Assembly*. Academic Press; 2021. p. 67-106.
- [77] Zhao J, Mao S. Chapter Three - Tuning the membrane fluidity of liposomes for desirable in vivo fate with enhanced drug delivery. In: Iglič A, Rappolt M, García-Sáez AJ, éditeurs. *Advances in Biomembranes and Lipid Self-Assembly*. Academic Press; 2021. p. 67-106.
- [78] van Hoogevest P, Wendel A. The use of natural and synthetic phospholipids as pharmaceutical excipients. *Eur J Lipid Sci Technol*. 2014 sept; vol 116(9): p.1088-107.
- [79] Bobo GH. L'utilisation des liposomes comme vecteurs médicamenteux. Th D Pharmacie, Picardie (2017)

- [80] NCBI. cholestérol - Composé PubChem.[Internet] [cité 5 sept 2023]. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pccompound?term=57-88-5>
- [81] Kim EM, Jeong HJ. Liposomes : Biomedical Applications. Chonnam Med J. 2021 janv; vol 57(1): p.27-35.
- [82] Efimova AA, Kostenko SN, Orlov VN, Yaroslavov AA. Effect of cholesterol on the phase state and permeability of mixed liposomes composed of anionic diphosphatidylglycerol and zwitterionic dipalmitoylphosphatidylcholine. Mendeleev Commun. 2016 mars ; vol 26(2): p.99-100.
- [83] Lee SC, Lee KE, Kim JJ, Lim SH. The Effect of Cholesterol in the Liposome Bilayer on the Stabilization of Incorporated Retinol. J Liposome Res. 2005 janv; vol 15(3-4): p.157-66.
- [84] Elmoslemany RM, Abdallah OY, El-Khordagui LK, Khalafallah NM. Propylene glycol liposomes as a topical delivery system for miconazole nitrate: comparison with conventional liposomes. AAPS PharmSciTech. 2012 june ; vol 13(2): p.723-31.
- [85] Manconi M, Mura S, Sinico C, Fadda AM, Vila AO, Molina F. Development and characterization of liposomes containing glycols as carriers for diclofenac, Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, june 2009 : vol 342 (Issues 1–3) : p.53-58,
- [86] T de Barros C, Rios AC, Alves TFR, Batain F, Crescencio KMM, Lopes LJ et al. Cachexia: Pathophysiology and Ghrelin Liposomes for Nose-to-Brain Delivery. Int J Mol Sci. 2020 Aug 19; vol 21(17):5974.
- [87] Suk JS, Xu Q, Kim N, Hanes J, Ensign LM. PEGylation as a strategy for improving nanoparticle-based drug and gene delivery. Adv Drug Deliv Rev. 2016 Apr 1; vol 99(Pt A): p.28-51
- [88] He H, Lu Y, Qi J, Zhu Q, Chen Z, Wu W. Adapting liposomes for oral drug delivery. Acta Pharm Sin B. janv 2019; vol 9(1): p.36-48.
- [89] Khalil M, Hashmi U, Riaz R, Rukh Abbas S. Chitosan coated liposomes (CCL) containing triamcinolone acetonide for sustained delivery: A potential topical treatment for posterior segment diseases. Int J Biol Macromol. 2020 Jan 15; vol 143: p.483-491
- [90] Czuba PE. Développement de nouveaux systèmes nanoparticulaires pour l'administration de biomédicaments par voie orale. Th D Université de Strasbourg, Strasbourg (2018)
- [91] Kumar S, Dutta J, Dutta PK, Koh J. A systematic study on chitosan-liposome based systems for biomedical applications. Int J Biol Macromol. oct 2020; vol 160: p.470-81.
- [92] Scomparin C. Dynamique des bicouches lipidiques supportées. Th D Université, Aix Marserille (2007)
- [93] Gregoriadis G, Florence AT. Liposomes in drug delivery. Clinical, diagnostic and ophthalmic potential. Drugs. 1993 Jan; vol 45(1): p.15-28.
- [94] Gregoriadis G. Liposomes as Drug Carriers—Recent Trends and Progress Edited by G. Gregoriadis John Wiley & Sons Ltd. 1988. Journal of Bioactive and Compatible Polymers. 1991;6(1):96-97.

- [95] Jash A, Ubeyitogullari A, Rizvi SSH. *J. Mater. Chem. B*, 2021, vol 9, p.4773-4792
- [96] Bozzuto G, Molinari A. Liposomes as nanomedical devices. *Int J Nanomedicine*. 2015; vol 10: p.975-99.
- [97] Zhang H. Thin-Film Hydration Followed by Extrusion Method for Liposome Preparation. In: D'Souza GGM, éditeur. *Liposomes: Methods and Protocols*. New York, NY: Springer; 2017. p.17-22.
- [98] Shi NQ, Qi XR. Preparation of Drug Liposomes by Reverse-Phase Evaporation. In: Lu WL, Qi XR, éditeurs. *Liposome-Based Drug Delivery Systems [Internet]*. Berlin, Heidelberg: Springer; 2017. p.1-10.
- [99] Sebaaly C. Préparation à petite et grande échelle des liposomes encapsulant l'huile essentielle de clou de girofle libre et sous forme de complexe d'inclusion dans l'hydroxypropyl- β -cyclodextrine : caractérisation des nanostructures et évaluation de leur effet antioxydant. Th D Biochimie/Pharmacotechnie, Lyon (2016)
- [100] Crouch CH, Bost MH, Kim TH, Green BM, Arbuckle DS, Grossman CH, et al. Optimization of Detergent-Mediated Reconstitution of Influenza A M2 Protein into Proteoliposomes. *Membranes*. 8 nov 2018; vol 8(4): p.103.
- [101] Bangham AD, Standish MM, Watkins JC. Diffusion of univalent ions across the lamellae of swollen phospholipids. *J Mol Biol*. août 1965; vol 13(1): p.238-52.
- [102] Gharib R, Greige-Gerges H, Fourmentin S, Charcosset C, Auezova L. Liposomes incorporating cyclodextrin-drug inclusion complexes : Current state of knowledge. *Carbohydr Polym*. 2015 Sep 20; vol 129: p.175-86.
- [103] Klein RA. The detection of oxidation in liposome preparations. *Biochim Biophys Acta*. 8 sept 1970; vol 210(3): p. 486-9.
- [104] Huang C, Charlton JP. Studies on the state of phosphatidylcholine molecules before and after ultrasonic and gel-filtration treatments. *Biochem Biophys Res Commun*. 25 févr 1972; vol 46(4): p.1660-6.
- [105] Cortesi R, Esposito E, Gambarin S, Telloli P, Menegatti E, Nastruzzi C. Preparation of liposomes by reverse-phase evaporation using alternative organic solvents. *J Microencapsul*. 1999; vol 16(2): p.251-6.
- [106] Szoka F, Papahadjopoulos D. Procedure for preparation of liposomes with large internal aqueous space and high capture by reverse-phase evaporation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. sept 1978; vol75(9): p.4194-8.

- [107] Justo OR, Moraes AM. Economical Feasibility Evaluation of an Ethanol Injection Liposome Production Plant - Justo - 2010 - Chemical Engineering & Technology. jan 2010,vol 33 (Issue1): p.15-20
- [108] Batzri S, Edward D. Korn, Single bilayer liposomes prepared without sonication, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1973; vol 298 (issue 4): p.1015-1019,
- [109] Wagner A, Vorauer-Uhl K, Katinger H. Liposomes produced in a pilot scale: production, purification and efficiency aspects. *Eur J Pharm Biopharm Off J Arbeitsgemeinschaft Pharm Verfahrenstechnik EV*. sept 2002; vol 54(2): p.213-9.
- [110] Wagner A, Vorauer-Uhl K. Liposome technology for industrial purposes. *J Drug Deliv*. 2011;2011:591325
- [111] Riaz M. Liposomes preparation methods. *Pak J Pharm Sci*. janv 1996; vol 9(1): p.65-77.
- [112] Alpes H, Allmann K, Plattner H, Reichert J, Rick R, Schulz R, Formation of large unilamellar vesicles using alkyl maltoside detergents, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1986 (issue 2) p.294-302,
- [113] Gubernator J. Active methods of drug loading into liposomes : recent strategies for stable drug entrapment and increased in vivo activity. *Expert Opin Drug Deliv*. mai 2011; vol 8(5): p.565-80.
- [114] Sharif Mohammad S, Fazle Rabbi Shakil A, Md. Nazir H, Maruf A, Md. Shah A, Md. Anwar-UL-I. Liposome as a Carrier for Advanced Drug Delivery. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 2006 vol 9: p.1181-1191.
- [115] Weinstein JN, Leserman LD. Liposomes as drug carriers in cancer chemotherapy, *Pharmacology & Therapeutics*, 1984. vol 24 (Issue 2)p.207-233,
- [116] Poste G, Papahadjopoulos D, Vail WJ, Chapter 4 Lipid Vesicles as Carriers for Introducing Biologically Active Materials into Cells, Editor(s): David M. Prescott, *Methods in Cell Biology*, Academic Press, 1976. vol 14, p.33-71,
- [117] Senior JH. Fate and behavior of liposomes in vivo: a review of controlling factors. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst*. 1 janv 1987; vol 3(2): p.123-93.
- [118] Chrai SS, Murari R, Ahmad I. Part Two: Drug Delivery Systems. 2002; janv 2002 ; vol 15(1): p. 40-43+49
- [119] Sapra P, Allen TM. Ligand-targeted liposomal anticancer drugs. *Prog Lipid Res*. 1 sept 2003; vol 42(5): p.439-62.
- [120] Ahsan F, Rivas IP, Khan MA, Torres Suárez AI. Targeting to macrophages: role of physicochemical properties of particulate carriers—liposomes and microspheres—on the phagocytosis by macrophages. *J Controlled Release*. févr 2002; vol 79(1): p.29-40.
- [121] Gabizon A, Papahadjopoulos D. The role of surface charge and hydrophilic groups on liposome clearance in vivo. *Biochim Biophys Acta*. 10 janv 1992; vol 1103(1): p.94-100.

- [122] Lim HJ, Parr MJ, Masin D, McIntosh NL, Madden TD, Zhang G, et al. Kupffer cells do not play a role in governing the efficacy of liposomal mitoxantrone used to treat a tumor model designed to assess drug delivery to liver. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* nov 2000; vol 6(11): p.4449-60.
- [123] Immordino ML, Dosio F, Cattel L. Stealth liposomes: review of the basic science, rationale, and clinical applications, existing and potential. *Int J Nanomedicine.* 2006; vol 1(3): p.297-315.
- [124] Dos Santos N. Characterization of cholesterol-free liposomes for use in delivery of anti-cancer drugs Th D Philosophie, Columbia (1999)
- [125] Hua S, Wu SY. The use of lipid-based nanocarriers for targeted pain therapies. *Front. Pharmacol.* 2013; 4:143.
- [126] Semple SC, Chonn A, Cullis PR. Interactions of liposomes and lipid-based carrier systems with blood proteins: Relation to clearance behaviour in vivo. *Adv Drug Deliv Rev.* juin 1998; vol 32(1-2) p.3-17.
- [127] Laverman P, Boerman OC, Oyen WJG, Dams EThM, Storm G, Corstens FHM. Liposomes for scintigraphic detection of infection and inflammation. *Adv Drug Deliv Rev.* 5 avr 1999; vol 37(1): p.225-35.
- [128] Sawant RR, Torchilin VP. Challenges in development of targeted liposomal therapeutics. *AAPS J.* 2012 Jun; vol 14(2): p.303-15.
- [129] Greish K, Nehoff H, Parayath N, Domanovitch L, Taurin S. Nanomedicine for drug targeting: strategies beyond the enhanced permeability and retention effect. *Int J Nanomedicine.* mai 2014;2539.
- [130] Ishida T, Ichihara M, Wang X, Yamamoto K, Kimura J, Majima E, et al. Injection of PEGylated liposomes in rats elicits PEG-specific IgM, which is responsible for rapid elimination of a second dose of PEGylated liposomes. *J Controlled Release.* mai 2006; vol 112(1): p.15-25.
- [131] Ishida T, Harada M, Wang XY, Ichihara M, Irimura K, Kiwada H. Accelerated blood clearance of PEGylated liposomes following preceding liposome injection: Effects of lipid dose and PEG surface-density and chain length of the first-dose liposomes. *J Controlled Release.* 20 juill 2005 vol ;105(3): p.305-17.
- [132] Ishida T, Kiwada H. Accelerated blood clearance (ABC) phenomenon upon repeated injection of PEGylated liposomes. *Int J Pharm.* 16 avr 2008; vol 354(1): p.56-62.
- [133] Szebeni J. Complement activation-related pseudoallergy: A new class of drug-induced acute immune toxicity. *Toxicology.* déc 2005; vol 216(2-3): p.106-21.

- [134] Dempsey PW, Allison ME, Akkaraju S, Goodnow CC, Fearon DT. C3d of complement as a molecular adjuvant: bridging innate and acquired immunity. *Science*. 1996 Jan 19; vol 271(5247): p.348-50.
- [135] Szebeni J, Moghimi S. Liposome triggering of innate immune responses: A perspective on benefits and adverse reactions. *J Liposome Res*. 1 févr 2009; vol 19: p.85-90.
- [136] Moghimi SM, Hamad I, Andresen TL, Jørgensen K, Szebeni J. Methylation of the phosphate oxygen moiety of phospholipid-methoxy(polyethylene glycol) conjugate prevents PEGylated liposome-mediated complement activation and anaphylatoxin production. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol*. déc 2006;20(14) p.:2591-3.
- [137] Wu G, Li J, Yue J, Zhang S, Yunusi K. Liposome encapsulated luteolin showed enhanced antitumor efficacy to colorectal carcinoma. *Mol Med Rep*. 2018 Feb; vol 17(2): p.2456-2464.
- [138] Working PK, Newman MS, Sullivan T, Yarrington J. Reduction of the cardiotoxicity of doxorubicin in rabbits and dogs by encapsulation in long-circulating, pegylated liposomes. *J Pharmacol Exp Ther*. mai 1999; vol 289(2): p.1128-33.
- [139] Yang Z, Lu A, Wong BC, Chen X, Bian Z, Zhao Z, et al. Effect of liposomes on the absorption of water-soluble active pharmaceutical ingredients via oral administration. *Curr Pharm Des*. 2013; vol 19(37): p.6647-54.
- [140] Klemens SP, Cynamon MH, Swenson CE, Ginsberg RS. Liposome-encapsulated-gentamicin therapy of *Mycobacterium avium* complex infection in beige mice. *Antimicrob Agents Chemother*. juin 1990; vol 34(6): p.967-70.
- [141] Bristol Myers Squibb France. Leucémie Aigüe Myéloïde [Internet]. [cité 3 sept 2023]. Disponible sur: <https://www.bms.com/fr/expertises/hematologie/leucemie-myeloide-aigue.html>
- [142] Yates JW, Wallace HJ, Ellison RR, Holland JF. Cytosine arabinoside (NSC-63878) and daunorubicin (NSC-83142) therapy in acute nonlymphocytic leukemia. *Cancer Chemother Rep*. 1973 vol ;57(4) : p.485-8.
- [143] Fourmont AM. Association du gemtuzumab ozogamycine et de la cytarabine dans le traitement des premières rechutes de leucémies aiguës myéloïdes. Th D Médecine , Paris (2019)
- [144] Lancet JE, Uy GL, Cortes JE, Newell LF, Lin TL, Ritchie EK, et al. CPX-351 (cytarabine and daunorubicin) Liposome for Injection Versus Conventional Cytarabine Plus Daunorubicin in Older Patients With Newly Diagnosed Secondary Acute Myeloid Leukemia. *J Clin Oncol*. 2018 Sep 10; vol 36(26): p.2684-2692.
- [145] HAS. CT-17367_VYXEOS_PIC_INS_Avis3_CT17367.pdf [Internet]. [cité 3 sept 2023]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/upload/docs/evamed/CT-17367_VYXEOS_PIC_INS_Avis3_CT17367.pdf

- [146] Lim WS, Tardi P, Santos N, Xie X, Fan M, Liboiron B, et al. Leukemia-selective uptake and cytotoxicity of CPX-351, a synergistic fixed-ratio cytarabine: Daunorubicin formulation, in bone marrow xenografts. *Leuk Res.* 1 févr 2010; vol 34:p.1214-23.
- [147] Li C, Zhao X, Deng C, Wang C, Wei N, Cui J. Pegylated liposomal mitoxantrone is more therapeutically active than mitoxantrone in L1210 ascitic tumor and exhibits dose-dependent activity saturation effect. *Int J Pharm.* 2 janv 2014; vol 460(1): p.165-72.
- [148] Dasgupta N, Ranjan S, Gandhi M. Nanoemulsion ingredients and components. *Environ Chem Lett.* 1 juin 2019;vol 17(2): p.917-28.
- [149] VIDAL. NEORAL [Internet]. [cité 4 sept 2023]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/gammes/neoral-6547.html>
- [150] VIDAL. DIPRIVAN 10 mg/ml émuls inj seringue préremplie [Internet]. [cité 4 sept 2023]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/diprivan-10-mg-ml-emuls-inj-seringue-preremplie-94920.html>
- [151] Anton N, Vandamme TF. Nano-emulsions and Micro-emulsions: Clarifications of the Critical Differences. *Pharm Res.* 1 mai 2011; vol 28(5): p.978-85.
- [152] Tadros T, Izquierdo P, Esquena J, Solans C. Formation and stability of nano-emulsions. *Adv Colloid Interface Sci.* mai 2004; vol 108-109: p.303-18.
- [153] Hajjali H. Assemblage nanoparticules lipidiques solides-polysaccharide : étude des propriétés physico-chimiques pour la vectorisation d'un polyphénol. Th D Université, Nancy (2015)
- [154] Guirand M. L'utilisation des nanoémulsions en cosmétique. Th D Pharmacie, SAINTE FOY-LES-LYON (2019)
- [155] McClement DJ, Rao J. Food-Grade Nanoemulsions: Formulation, Fabrication, Properties, Performance, Biological Fate, and Potential Toxicity', *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol 51: 4 p.285-330
- [156] Jafari SM. An overview of nanoencapsulation techniques and their classification. In: *Nanoencapsulation Technologies for the Food and Nutraceutical Industries*. Elsevier; 2017 : p. 1-34.
- [157] Al-qutbi AAA. Study of Inclusion in Phase Inversion Emulsification and Multiple Emulsions. Th D Philosophie en Ingénierie chimique, Londres (2018)
- [158] McClements DJ, Jafari SM. Chapter 1 - General Aspects of Nanoemulsions and Their Formulation. in *Nanoemulsions*. Éd., Academic Press, 2018, p.3-20.
- [159] Saberi AH, Fang Y, McClements DJ. Stabilization of vitamin E-enriched nanoemulsions: influence of post-homogenization cosurfactant addition. *J Agric Food Chem.* 19 févr 2014 vol ;62(7): p. 1625-33.
- [160] Pengon S, Chinatangkul N, Limmatvapirat C, Limmatvapirat S. The effect of surfactant on the physical properties of coconut oil nanoemulsions. *Asian J Pharm Sci.* 1 mars 2018;13.

- onut oil nanoemulsions », *Asian J. Pharm. Sci.*, vol. 13, mars 2018, doi: 10.1016/j.ajps.2018.02.005.
- [161] Wan J, Jin Z, Zhong S, Schwarz P, Chen B, Rao J. Clove oil-in-water nanoemulsion: Mitigates growth of *Fusarium graminearum* and trichothecene mycotoxin production during the malting of *Fusarium* infected barley. *Food Chem.* 15 mai 2020;312:126120.
- [162] Ukai H, Kawagoe A, Sato E, Morishita M, Katsumi H, Yamamoto A. Propylene Glycol Caprylate as a Novel Potential Absorption Enhancer for Improving the Intestinal Absorption of Insulin: Efficacy, Safety, and Absorption-Enhancing Mechanisms. *J Pharm Sci.* 1 avr 2020; vol 109(4): p.1483-92.
- [163] Shakeel F, Baboota S, Ahuja A, Ali J, Shafiq S. Celecoxib nanoemulsion: skin permeation mechanism and bioavailability assessment. *J Drug Target.* déc 2008 vol ;16(10): p.733-40.
- [164] Li Y, Zheng J, Xiao H, McClements DJ. Nanoemulsion-based delivery systems for poorly water-soluble bioactive compounds: Influence of formulation parameters on Polymethoxyflavone crystallization. *Food Hydrocoll.* 2012 Jun 1; vol27(2): p.517-528.
- [165] Rosen MJ, Kunjappu JT . Tensioactifs et phénomènes interfaciaux. John Wiley & Fils, Inc. 2012. p.1-38.
- [166] CMOM. Tensioactifs et agrégats [Internet]. [cité 5 sept 2023]. Disponible sur: http://physique.unice.fr/sem6/2010-2011/PagesWeb/tensioactifs/intro/structure_type/structure_type.html
- [167] Gursoy N, Garrigue J, Razafindratsita A, Lambert G, Benita S, Bloom DR. Excipient effects on in vitro cytotoxicity of a novel paclitaxel self-emulsifying drug delivery system. *J Pharm Sci.* 1 déc 2003 vol ;92(12): p.2411-8.
- [168] Scheller KJ, Williams SJ, Lawrence AJ, Jarrott B, Djouma E. An improved method to prepare an injectable microemulsion of the galanin-receptor 3 selective antagonist, SNAP 37889, using Kolliphor(®) HS 15. *MethodsX.* 2014 Sep 26; vol 1 p.:212-6.
- [169] Brüsewitz C, Schendler A, Funke A, Wagner T, Lipp R. Novel poloxamer-based nanoemulsions to enhance the intestinal absorption of active compounds. *Int J Pharm.* 1 févr 2007; vol 329(1-2): p.173-81.
- [170] Rapoport N, Christensen DA, Kennedy AM, Nam KH. Cavitation properties of block copolymer stabilized phase-shift nanoemulsions used as drug carriers. *Ultrasound Med Biol.* 2010 Mar; vol 36(3): p.419-29.
- [171] Maher PG, Fenelon MA, Zhou Y, Kamrul Haque M, Roos YH. Optimization of β -casein stabilized nanoemulsions using experimental mixture design. *J Food Sci.* oct 2011 vol;76(8): C p.1108-1117.

- [172] Ali A, Mekhloufi G, Huang N, Agnely F. β -lactoglobulin stabilized nanemulsions--Formulation and process factors affecting droplet size and nanoemulsion stability. *Int J Pharm.* 2016 Mar 16; vol 500(1-2): p.291-304.
- [173] Combrinck J, Otto A, du Plessis J. Whey protein/polysaccharide-stabilized emulsions: Effect of polymer type and pH on release and topical delivery of salicylic acid. *AAPS PharmSciTech.* 2014 Jun; vol 15(3): p.588-600.
- [174] Chevalier Y, Bolzinger MA. Emulsions stabilized with solid nanoparticles: Pickering emulsions, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2013 ; Volume 439 : p.23-34,
- [175] Binks BP, Lumsdon SO. Catastrophic Phase Inversion of Water-in-Oil Emulsions Stabilized by Hydrophobic Silica. *Langmuir.* 1 mars 2000; vol 16(6): p.2539-47.
- [176] Ali A. Nanoémulsions d'intérêt pharmaceutique stabilisées par la beta-lactoglobuline. Th D Université, Paris (2016)
- [177] Taylor P. Ostwald ripening in emulsions. *Adv Colloid Interface Sci.* 16 avr 1998; vol 75(2): p.107-63.
- [178] Leite ER, Giraldi TR, Pontes FM, Longo E, Beltrán A, Andrés J. Crystal Growth in Colloidal Tin Oxide Nanocrystals Induced by Coalescence at Room Temperature. *Appl. Phys. Lett.* 2003 ; vol 83, p. 1566–1568
- [179] Guyon E, Hulin JL, Petit L. Hydrodynamique physique-EDP Sciences (2012).pdf [Internet]. [cité 4 sept 2023]. Disponible sur: https://ecampus.paris-saclay.fr/pluginfile.php/766560/mod_resource/content/1/%C3%89tienne%20Guyon%2C%20Jean-Pierre%20Hulin%2C%20Luc%20Petit%20-%20Hydrodynamique%20physique-EDP%20Sciences%20%282012%29.pdf
- [180] Chemical Education Xchange. Laplace pressure [Internet]. [cité 5 sept 2023]. Disponible sur: <https://www.chemedx.org/file/images/laplace-pressure>
- [181] Jafari M, He Y, Bhandari B. Optimization of nano-emulsions production by microfluidization. *Eur Food Res Technol.* 1 sept 2007; vol 225: p.733-41.
- [182] Landfester K, Bechthold N, Tiarks F, Antonietti M. Formulation and Stability Mechanisms of Polymerizable Miniemulsions. *Macromolecules.* 1999; vol 32 (16) :p.5222-5228
- [183] Durand A, Marie E, Rotureau E, Leonard M, Dellacherie E. Amphiphilic polysaccharides: useful tools for the preparation of nanoparticles with controlled surface characteristics. *Langmuir.* 2004 Aug 3; vol 20(16): p.6956-63.
- [184] McClements DJ, Rao J. Food-grade nanoemulsions: formulation, fabrication, properties, performance, biological fate, and potential toxicity. *Crit Rev Food Sci Nutr.* avr 2011; vol 51(4): p.285-330.

- [185] Centre de Commerce Biotechnologique. HOMMAK C- HM1 [Internet]. [cité 5 sept 2023]. Disponible sur: <https://biotechtradecenter.com/products/c-hm1/>
- [186] Karagiannidis PG, Hodge SA, Lombardi L, Tomarchio F, Decorde N, Milana S, Goykhman I, Su Y, Mesite SV, Johnstone DN, Leary RK, Midgley PA, Pugno NM, Torrisi F, Ferrari AC. Microfluidization of Graphite and Formulation of Graphene-Based Conductive Inks. *ACS Nano*. 2017 Mar 28; vol 11(3): p.2742-2755.
- [187] Oh DH, Balakrishnan P, Oh YK, Kim DD, Yong CS, Choi HG. Effect of process parameters on nanoemulsion droplet size and distribution in SPG membrane emulsification. *Int J Pharm*. 14 févr 2011; vol 404(1-2): p.191-7.
- [188] Berendsen R, Güell C, Henry O, Ferrando M. Premix membrane emulsification to produce oil-in-water emulsions stabilized with various interfacial structures of whey protein and carboxymethyl cellulose. *Food Hydrocoll*. 1 juill 2014; vol 38: p.1-10.
- [189] Mcclements D, Rao J. Food-Grade Nanoemulsions: Formulation, Fabrication, Properties, Performance, Biological Fate, and Potential Toxicity. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 1 avr 2011; vol 51: p.285-330.
- [190] Madhav K, Paul S, Kiranmai M. *World Journal of Pharmaceutical Sciences*. World J Pharm Sci. 10 juill 2021; vol 9(7) : p.31-44
- [191] Patel RP, Joshi JR. An overview on nanoemulsion : a novel approach [Internet] [cité 4 sept 2023]. Disponible sur: <https://ijpsr.com/bft-article/an-overview-on-nanoemulsion-a-novel-approach/>
- [192] Bhatt P, Madhav S. A detailed review on nanoemulsion drug delivery system [Internet] [cité 4 sept 2023]. Disponible sur: <https://ijpsr.com/bft-article/a-detailed-review-on-nanoemulsion-drug-delivery-system/>
- [193] Gupta PK, Bhandari N, Shah HN, Khanchandani V, Keerthana R, Nagarajan V, et al. An Update on Nanoemulsions Using Nanosized Liquid in Liquid Colloidal Systems. In: *Nanoemulsions - Properties, Fabrications and Applications* [Internet]. [cité 5 sept 2023]. Disponible sur: <https://www.intechopen.com/chapters/66445>
- [194] Gao F, Zhang Z, Bu H, Huang Y, Gao Z, Shen J, et al. Nanoemulsion improves the oral absorption of candesartan cilexetil in rats: Performance and mechanism. *J Controlled Release*. 20 janv 2011; vol 149(2): p.168-74.
- [195] Kuo F, Subramanian B, Kotyla T, Wilson TA, Yoganathan S, Nicolosi RJ. Nanoemulsions of an anti-oxidant synergy formulation containing gamma tocopherol have enhanced bioavailability and anti-inflammatory properties. *Int J Pharm*. 3 nov 2008; vol 363(1): p.206-13.
- [196] Asthana S, Jaiswal AK, Gupta PK, Pawar VK, Dube A, Chourasia MK. Immunoadjuvant Chemotherapy of Visceral Leishmaniasis in Hamsters Using Amphotericin B-Encapsulated

Nanoemulsion Template-Based Chitosan Nanocapsules. *Antimicrob Agents Chemother.* avr 2013; vol 57(4): p.1714-22.

- [197] Baccarin T, Mitjans M, Lemos-Senna E, Vinardell MP. Protection against oxidative damage in human erythrocytes and preliminary photosafety assessment of *Punica granatum* seed oil nanoemulsions entrapping polyphenol-rich ethyl acetate fraction. *Toxicol In Vitro.* 2015 Dec 25; vol 30(1 Pt B): p.421-8.
- [198] Ganta S, Talekar M, Singh A, Coleman TP, Amiji MM. Nanoemulsions in translational research-opportunities and challenges in targeted cancer therapy. *AAPS PharmSciTech.* juin 2014; vol 15(3): p.694-708.
- [199] Elsewedy HS, Aldhubiab BE, Mahdy MA, Elnahas HM. Brucine PEGylated nanoemulsion: In vitro and in vivo evaluation. *Colloids Surf Physicochem Eng Asp.* 5 janv 2021;608:125618.
- [200] Jaiswal M, Dudhe R, Sharma PK. Nanoemulsion : un mode avancé de système d'administration de médicaments. *3 Biotechnologie 5* , p.123-127
- [201] Singh I, Swami R, Khan W, Sistla R. Lymphatic system: a prospective area for advanced targeting of particulate drug carriers. *Expert Opin Drug Deliv.* 1 févr 2014; vol 11(2): p.211-29.
- [202] Yamada M, Tayeb H, Wang H, Dang N, Mohammed YH, Osseiran S, Belt PJ, Roberts MS, Evans CL, Sainsbury F, Prow TW. Using elongated microparticles to enhance tailorable nanoemulsion delivery in excised human skin and volunteers. *J Control Release.* 2018 Oct 28; vol 288: p.264-276.
- [203] Shaker DS, Ishak RAH, Ghoneim A, Elhuoni MA. Nanoemulsion: A Review on Mechanisms for the Transdermal Delivery of Hydrophobic and Hydrophilic Drugs. *Scientia Pharmaceutica.* 2019; vol 87(3):17
- [204] Rai VK, Mishra N, Yadav KS, Yadav NP. Nanoemulsion as pharmaceutical carrier for dermal and transdermal drug delivery: Formulation development, stability issues, basic considerations and applications. *J Control Release.* 2018 Jan 28; vol 270: p.203-225.
- [205] Ghiasi Z, Esmaeli F, Aghajani M, Ghazi-Khansari M, Faramarzi MA, Amani A. Enhancing analgesic and anti-inflammatory effects of capsaicin when loaded into olive oil nanoemulsion: An in vivo study. *Int J Pharm.* 2019 Mar 25; vol 559: p.341-347.
- [206] Shafaei N, Barkhordar SMA, Rahmani F, Nabi S, Idliki RB, Alimirzaei M, Karimi E, Oskoueian E. Protective Effects of *Anethum graveolens* Seed's Oil Nanoemulsion Against Cadmium-Induced Oxidative Stress in Mice. *Biol Trace Elem Res.* 2020 Dec; vol 198(2): p.583-591
- [207] Akrawi SH, Gorain B, Nair AB, Choudhury H, Pandey M, Shah JN, Venugopala KN. Development and Optimization of Naringenin-Loaded Chitosan-Coated Nanoemulsion for Topical Therapy in Wound Healing. *Pharmaceutics.* 2020; vol 12(9): p.893.

- [208] Attia MF, Anton N, Wallyn J, Omran Z, Vandamme TF. An overview of active and passive targeting strategies to improve the nanocarriers efficiency to tumour sites. *J Pharm Pharmacol*. 2019 Aug; vol 71(8): p.1185-1198.
- [209] Abdulbaqi IM, Assi RA, Yaghmur A, Darwis Y, Mohtar N, Parumasivam T, Saqallah FG, Wahab HA. Pulmonary Delivery of Anticancer Drugs via Lipid-Based Nanocarriers for the Treatment of Lung Cancer: An Update. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2021 Jul 27; vol 14(8):725.
- [210] Koh J, Kim S, Lee SN, Kim SY, Kim JE, Lee KY, et al. Therapeutic efficacy of cancer vaccine adjuvanted with nanoemulsion loaded with TLR7/8 agonist in lung cancer model. *Nanomedicine*. 2021 Oct;37:10241
- [211] Ahmed M, Smith DM, Hamouda T, Rangel-Moreno J, Fattom A, Khader SA. A novel nanoemulsion vaccine induces mucosal Interleukin-17 responses and confers protection upon *Mycobacterium tuberculosis* challenge in mice. *Vaccine*. 2017 Sep 5; vol 35(37): p.4983-4989.
- [212] Jeong YJ, Kim HE, Han SJ, Choi JS. Antibacterial and antibiofilm activities of cinnamon essential oil nanoemulsion against multi-species oral biofilms. *Sci Rep* 11. 2021; vol 5911.
- [213] Yang Q, Liu S, Gu Y, Tang X, Wang T, Wu J, et al. Development of sulconazole-loaded nanoemulsions for enhancement of transdermal permeation and antifungal activity. *Int J Nanomedicine*. 2019 May 28; vol 14: p.3955-3966.
- [214] Mahmoud DB, Ismail WM, Moatasim Y, Kutkat O, ElMeshad AN, Ezzat SM, et al. Delineating a potent antiviral activity of *Cuphea ignea* extract loaded nano-formulation against SARS-CoV-2: In silico and in vitro studies. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2021 Dec; vol 66:102845.
- [215] Hwang YY, Ramalingam K, Bienek DR, Lee V, You T, Alvarez R. Antimicrobial activity of nanoemulsion in combination with cetylpyridinium chloride in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013 Aug; vol 57(8): p.3568-75.
- [216] Pavoni L, Perinelli DR, Bonacucina G, Cespi M, Palmieri GF. An Overview of Micro- and Nanoemulsions as Vehicles for Essential Oils: Formulation, Preparation and Stability. *Nanomaterials (Basel)*. 2020 Jan 12; vol 10(1):135.
- [217] O'Konek JJ, Makidon PE, Landers JJ, Cao Z, Malinczak CA, Pannu J, et al. Intranasal nanoemulsion-based inactivated respiratory syncytial virus vaccines protect against viral challenge in cotton rats. *Hum Vaccines Immunother*. 2015; vol 11(12): p.2904-12.
- [218] Mahajan HS, Mahajan MS, Nerkar PP, Agrawal A. Nanoemulsion-based intranasal drug delivery system of saquinavir mesylate for brain targeting. *Drug Deliv*. 2014 Mar; vol 21(2): p.148-54.
- [219] Müller RH, Mäder K, Gohla S. Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery – a review of the state of the art. *Eur J Pharm Biopharm*. 3 juill 2000; vol 50(1): p.161-77.
- [220] Khalisanni K, Tan X, Zaid H, Tao Y, Chew CL, Lam M, et al. Advanced in developmental organic and inorganic nanomaterial: a review. *Bioengineered*. 1 déc 2020; vol 11: p.328-55.

- [221] Mehnert W, Mäder K. Solid lipid nanoparticles: production, characterization and applications. *Adv Drug Deliv Rev.* 25 avr 2001; vol 47(2-3): p.165-96.
- [222] Abdel-Mageed HM, Abd El Aziz AE, Mohamed SA, AbuelEzz NZ. The tiny big world of solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers: an updated review. *J Microencapsul.* janv 2022; vol 39(1): p.72-94.
- [223] Duan Y, Dhar A, Patel C, Khimani M, Neogi S, Sharma P, et al. A brief review on solid lipid nanoparticles: part and parcel of contemporary drug delivery systems. *RSC Adv.* 2020 Jul 17;10(45):26777-26791.
- [224] Mishra D, Dhote V, Mishra P. Solid Lipid Nanoparticles: A Promising Colloidal Carrier. In 2014. p.278-301.
- [225] Pardeshi C, Rajput P, Belgamwar V, Tekade A, Patil G, Chaudhary K, et al. Solid lipid based nanocarriers: an overview. *Acta Pharm Zagreb Croat.* déc 2012;62(4): p.433-72.
- [226] Pardeike J, Hommoss A, Müller RH. Lipid nanoparticles (SLN, NLC) in cosmetic and pharmaceutical dermal products. *Int J Pharm.* janv 2009; vol 366(1-2): p.170-84.
- [227] The Polymorphism of Glycerides. | Chemical Reviews [Internet]. [cité 4 sept 2023]. Disponible sur: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/cr60219a003>
- [228] Rajabi M, Mousa SA. Lipid Nanoparticles and their Application in Nanomedicine. *Curr Pharm Biotechnol.* 2016; vol 17(8): p.662-72.
- [229] Schwarz C, Mehnert W, Lucks JS, Müller RH. Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery. I. Production, characterization and sterilization. *J Controlled Release.* 1 avr 1994; vol 30(1): p.83-96.
- [230] Rahman HS, Othman HH, Hammadi NI, Yeap SK, Amin KM, Abdul Samad N, et al. Novel Drug Delivery Systems for Loading of Natural Plant Extracts and Their Biomedical Applications. *Int J Nanomedicine.* 2020 Apr 15; vol 15: p.2439-2483
- [231] Borges A, de Freitas V, Mateus N, Fernandes I, Oliveira J. Solid Lipid Nanoparticles as Carriers of Natural Phenolic Compounds. *Antioxidants.* 15 oct 2020; vol 9:998.
- [232] Souto EB, Almeida AJ, Müller RH. Lipid Nanoparticles (SLN®, NLC®) for Cutaneous Drug Delivery: Structure, Protection and Skin Effects. *Journal of Biomedical Nanotechnology.* December 2007; vol 3(4) : p. 317-331(15)
- [233] Gasco MR, Priano L, Zara GP. Chapter 10 - Solid lipid nanoparticles and microemulsions for drug delivery The CNS. *Prog Brain Res.* 2009; vol 180: p.181-92.
- [234] Deepa MK, Karthikeyan M, Abhay AD, Shruti PC, Omkar SD, Satish RC. Compendious review on solid lipid nanoparticles [Internet]. [cité 5 sept 2023]. Disponible sur: https://www.wjahr.com/admin/assets/article_issue/19042020/1589630373.pdf

- [235] Ting SST, Tomasko DL, Foster NR, Macnaughton SJ. Solubility of naproxen in supercritical carbon dioxide with and without cosolvents. *Ind Eng Chem Res.* 1 juill 1993; vol 32(7): p.1471-81.
- [236] Duan Y, Dhar A, Patel C, Khimani M, Neogi S, Sharma P, Siva Kumar N, Vekariya RL. A brief review on solid lipid nanoparticles: part and parcel of contemporary drug delivery systems. *RSC Adv.* 2020 Jul 17; vol 10(45): p.26777-26791.
- [237] Sjöström B, Bergenstahl B. Preparation of submicron drug particles in lecithin-stabilized o/w emulsions I. Model studies of the precipitation of cholesteryl acetate. *Int J Pharm.* 8 déc 1992; vol 88(1): p.53-62.
- [238] Akbari J, Saeedi M, Ahmadi F, Hashemi SMH, Babaei A, Yaddollahi S, et al. Solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers: a review of the methods of manufacture and routes of administration. *Pharm Dev Technol.* juin 2022; vol 27(5): p.525-44.
- [239] Yang R, Gao R, Li F, He H, Tang X. The influence of lipid characteristics on the formation, in vitro release, and in vivo absorption of protein-loaded SLN prepared by the double emulsion process. *Drug Dev Ind Pharm.* 2011 Feb; vol 37(2): p.139-48.
- [240] Lee YS, Johnson PJ, Robbins PT, Bridson RH. Production of nanoparticles-in-microparticles by a double emulsion method: a comprehensive study. *Eur J Pharm Biopharm Off J Arbeitsgemeinschaft Pharm Verfahrenstechnik EV.* févr 2013; vol 83(2): p.168-73.
- [241] Solid lipid nanoparticles: Preparation techniques, their characterization, and an update on recent studies. *J Appl Pharm Sci.* 5 juin 2020; vol 10(6): p.126-41.
- [242] Jawahar N, Meyyanathan SN, Gowtham R, Sumeet S. Solid lipid Nanoparticles for Oral delivery of Poorly Soluble Drugs [Internet] [cité 4 sept 2023]. Disponible sur: <https://www.jpsr.pharmainfo.in/Documents/Volumes/vol4issue07/jpsr%2004120702.pdf>
- [243] Freitas C, Müllerä RH. Spray-drying of solid lipid nanoparticles (SLN TM). *Eur J Pharm Biopharm Off J Arbeitsgemeinschaft Pharm Verfahrenstechnik EV.* sept 1998; vol 46(2): p.145-51.
- [244] Parvathy U, Jeyakumari A. Microencapsulation and spray drying technology. In 2018 [cité 5 sept 2023]. Disponible sur: <https://www.semanticscholar.org/paper/Microencapsulation-and-spray-drying-technology-Parvathy-Jeyakumari/1b821fe6ccea40969a1f60c53fc2e3cf232fd4f3>
- [245] Battaglia L, Peira E, Trotta M. Peptide-Loaded Solid Lipid Nanoparticles Prepared through Coacervation Technique [Internet]. [cité 4 sept 2023]. Disponible sur: <https://www.hindawi.com/journals/ijce/2011/132435/>
- [246] Mendoza-Muñoz N, Urbán-Morlán Z, Leyva-Gómez G, Zambrano-Zaragoza ML, Piñón-Segundo E, Quintanar-Guerrero D. Solid Lipid Nanoparticles: An Approach to Improve Oral Drug Delivery. *J Pharm Pharm Sci.* 2021; vol 24: p.509-532.
- [247] Mishra V, Bansal KK, Verma A, Yadav N, Thakur S, Sudhakar K, et al. Solid Lipid Nanoparticles: Emerging Colloidal Nano Drug Delivery Systems. *Pharmaceutics.* 18 oct 2018; vol 10(4):191.

- [248] Mukherjee S, Ray S, Thakur RS. Solid lipid nanoparticles: a modern formulation approach in drug delivery system. *Indian J Pharm Sci.* 2009 Jul; vol 71(4): p.349-58.
- [249] Subramaniam B, Siddik ZH, Nagoor NH. Optimization of nanostructured lipid carriers: understanding the types, designs, and parameters in the process of formulations. *J Nanoparticle Res.* 1 mai 2020; vol 22:141.
- [250] Gaur PK, Mishra S, Bajpai M, Mishra A. Enhanced oral bioavailability of efavirenz by solid lipid nanoparticles: in vitro drug release and pharmacokinetics studies. *BioMed Res Int.* 2014;2014:363404.
- [251] Mancini G, Gonçalves LMD, Marto J, Carvalho FA, Simões S, Ribeiro HM, et al. Increased Therapeutic Efficacy of SLN Containing Etofenamate and Ibuprofen in Topical Treatment of Inflammation. *Pharmaceutics.* 3 mars 2021; vol 13(3):328.
- [252] Nayek S, Raghavendra NM, Sajeev Kumar B. Development of novel S PC-3 gefitinib lipid nanoparticles for effective drug delivery in breast cancer. Tissue distribution studies and cell cytotoxicity analysis. *Journal of Drug Delivery Science and Technology,* 102073.
- [253] Negi JS, Chattopadhyay P, Sharma AK, Ram V. Development of solid lipid nanoparticles (SLNs) of lopinavir using hot self nano-emulsification (SNE) technique. *Eur J Pharm Sci.* 2013 Jan 23; vol 48(1-2): p.231-9.
- [254] Silva AC, Amaral MH, González-Mira E, Santos D, Ferreira D. Solid lipid nanoparticles (SLN)--based hydrogels as potential carriers for oral transmucosal delivery of risperidone: preparation and characterization studies. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 1 mai 2012; vol 93: p.241-8.
- [255] Singh R, Barry CE, Boshoff HIM. The three RelE homologs of *Mycobacterium tuberculosis* have individual, drug-specific effects on bacterial antibiotic tolerance. *J Bacteriol.* mars 2010; vol 192(5): p.1279-91.
- [256] Vaghasiya H, Kumar A, Sawant K. Development of solid lipid nanoparticles based controlled release system for topical delivery of terbinafine hydrochloride. *Eur J Pharm Sci.* 2013 May 13;49(2):311-22
- [257] Khurana LK, Singh R, Singh H, Sharma M. Systematic Development and Optimization of an in-situ Gelling System for Moxifloxacin Ocular Nanosuspension using High-pressure Homogenization with an Improved Encapsulation Efficiency. *Curr Pharm Des.* 2018; vol 24(13): p.1434-45.
- [258] Miao J, Du YZ, Yuan H, Zhang X guo, Hu FQ. Drug resistance reversal activity of anticancer drug loaded solid lipid nanoparticles in multi-drug resistant cancer cells. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 1 oct 2013; vol 110: p.74-80.
- [259] Yang A, Liu Z, Yan B, Zhou M, Xiong X. Preparation of camptothecin-loaded targeting nanoparticles and their antitumor effects on hepatocellular carcinoma cell line H22. *Drug Deliv.* juin 2016; vol 23(5): p.1699-706.

- [260] Videira M, Almeida AJ, Fabra A. Preclinical evaluation of a pulmonary delivered paclitaxel-loaded lipid nanocarrier antitumor effect. *Nanomedicine*. 2012 Oct; vol 8(7): p.1208-15.
- [261] Mishra V, Bansal KK, Verma A, Yadav N, Thakur S, Sudhakar K, et al. Solid Lipid Nanoparticles: Emerging Colloidal Nano Drug Delivery Systems. *Pharmaceutics*. déc 2018; vol 10(4):191.
- [262] Nicolas J, Couvreur P. Les nanoparticules polymères pour la délivrance de principes actifs .1 janv 2017; vol 33(1):11-7.
- [263] Lombardo D, Kiselev MA. Methods of Liposomes Preparation: Formation and Control Factors of Versatile Nanocarriers for Biomedical and Nanomedicine Application *Pharmaceutics*. mars 2022; vol 14(3):543.

RESUME

L'intérêt de l'utilisation des nanoparticules à base de lipides dans la formulation des médicaments

L'objectif d'un système d'administration de médicaments efficace est d'administrer les molécules thérapeutiques au site ciblé, en minimisant la dégradation prématurée du médicament tout en maintenant une quantité optimale de médicament au niveau du site d'intérêt, garantissant alors des résultats thérapeutiques optimaux et une prévention des effets secondaires nocifs liés à la prise du médicament. Cependant, les formulations conventionnelles des médicaments actuellement présents sur le marché ne permettent pas toujours de garantir la prise en charge thérapeutique d'une maladie de manière efficace. Cela est notamment dû aux nombreuses limitations que présentent ces systèmes classiques d'administration de médicaments telles qu'une faible absorption, une faible solubilité aqueuse du médicament, une faible biodisponibilité, une mauvaise observance du patient. Ce qui aboutit à une fluctuation des niveaux en médicament avec un risque accru de sous dosage associé à des effets secondaires nocifs.

Afin de surmonter les problèmes mentionnés ci-dessus, le développement de systèmes de transport de médicaments appropriés s'est vu être une solution prometteuse. En effet, l'incorporation de molécules bioactives dans des supports inertes et biodégradables permet non seulement d'améliorer grandement la solubilité et la biodisponibilité de ces molécules bioactives mais surtout d'augmenter leurs efficacités thérapeutiques et d'atténuer leurs toxicités. À l'heure actuelle, il existe de nombreux systèmes de transports de molécules bioactives et les nanoparticules à base de lipides se sont vu être les plus prometteur.

Véritable révolution dans le transport de molécules, les nanoparticules à base de lipides (LNP) ont su se démarquer des autres transporteurs médicamenteux de par leurs compositions, leurs biocompatibilités au système biologique humain et la facilité qu'elles ont à être modifiables. En effet, la force de ces systèmes de taille nanométriques (10 à 1000 nm) réside non seulement en tant que support médicamenteux afin d'améliorer la solubilité et donc la biodisponibilité du médicament mais aussi en tant que systèmes non toxiques pour l'homme de par leur constitution. Dans ce mémoire, nous allons mettre en lumière l'intérêt de l'utilisation des nanoparticules à base de lipides dans la formulation des médicaments en mettant l'accent sur les avantages qu'elles apportent tant dans l'administration efficace des molécules thérapeutiques que sur leurs biocompatibilités au système biologique humain.

The benefits of using lipid-based nanoparticles in drug formulation

The aim of an effective drug delivery system is to deliver therapeutic molecules to the target site, minimizing premature drug degradation while maintaining an optimal amount of drug at the site of interest, thus ensuring optimal therapeutic results and preventing harmful drug-related side effects.

However, conventional drug formulations currently on the market do not always guarantee effective therapeutic management of a disease. This is due in particular to the many limitations of these conventional drug delivery systems, such as poor absorption, low aqueous solubility, low bioavailability and poor patient compliance. This results in fluctuating drug levels, with an increased risk of under-dosing associated with harmful side-effects.

In order to overcome the above-mentioned problems, the development of suitable drug delivery systems has proved to be a promising solution. Incorporating bioactive molecules into inert, biodegradable carriers not only greatly improves their solubility and bioavailability, but also increases their therapeutic efficacy and reduces their toxicity. At present, there are numerous systems for transporting bioactive molecules, and lipid-based nanoparticles are proving to be the most promising.

A veritable revolution in molecule transport, lipid-based nanoparticles (LNPs) have set themselves apart from other drug carriers by virtue of their compositions, their biocompatibility with the human biological system and the ease with which they can be modified. Indeed, the strength of these nano-sized systems (10 to 1000 nm) lies not only in their ability to act as drug carriers to improve drug solubility and thus bioavailability, but also in their non-toxic nature for humans.

In this thesis, we will highlight the benefits of using lipid-based nanoparticles in drug formulation, focusing on the advantages they bring both in terms of efficient delivery of therapeutic molecules and their biocompatibility with the human biological system.

Mots-clés : Nanoparticules, Biodisponibilité, Liposomes, Nanoémulsions, SLN, LNP