HAL
archives-ouvertes.fr

Les nanoparticules dans l'industrie pharmaceutique : comparaison des méthodes de fabrication

Svetlana Jordanovska

▶ **To cite this version:**

Svetlana Jordanovska. Les nanoparticules dans l'industrie pharmaceutique : comparaison des méthodes de fabrication. Sciences pharmaceutiques. 2015. dumas-01243523

HAL Id: dumas-01243523
https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01243523

Submitted on 15 Dec 2015

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Université de Bordeaux

U.F.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Année 2015 N°135

Thèse pour l'obtention du

DIPLOME d'ETAT de DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement

Par: JORDANOVSKA Svetlana

Née le 14/09/1989 à Veles, République de Macédoine

Le 27/11/2015

Les nanoparticules dans l'industrie pharmaceutique : Comparaison des méthodes de fabrication

Directeur de thèse :

Mme Pascale GUEROULT, Dr. en Pharmacie

Jury :

M. Le Pr. Luc GRISLAIN	Président du jury, Dr. en Pharmacie
Mme Pascale GUEROULT,	Dr. en Pharmacie, MCU
M. Olivier de LESTANVILLE	Dr. en Pharmacie
M. Donat MEYER	Dr. en Pharmacie, Pr. associé à l'Université de Strasbourg

RESUME EN FRANÇAIS :

Aujourd'hui on peut trouver les nanotechnologies partout dans nos vies quotidiennes, et elles vont influencer énormément nos vies dans les années à venir. Le transfert des matières dans les nanodimensions modifie leurs propriétés physiques, ce qui est utilisé dans l'industrie pharmaceutique pour développer de nouvelles formes galéniques pour les médicaments peu solubles – les nanoparticules. Dans un premier temps, ce document va définir la notion de nanoparticule, leur intérêt pour l'industrie pharmaceutique, les types de nanoparticules actuellement sur le marché, ainsi que celles qui sont en cours de développement, et finalement, les risques de leur usage dans les produits pharmaceutiques. Dans un deuxième temps, les différentes technologies utilisées pour fabriquer des nanoparticules seront vues en détail, en les séparant en technologies « top-down » et « bottom-up ». Les principes des méthodes seront détaillés, en prenant en compte les avantages et inconvénients de chacune, ainsi que l'adaptabilité du procédé à l'échelle industrielle. Finalement, une conclusion générale statuera sur la situation actuelle de la production industrielle des nanoparticules pharmaceutiques.

TITRE ET RESUME EN ANGLAIS

Nanoparticles in the pharmaceutical industry: comparison of production methods

Today, nanotechnology is a great part of our daily lives, and it will become even more important in the future. Reducing the materials to the nano scale changes their physical characteristics, something that is used in the pharmaceutical industry to create new galenic forms for insoluble drugs – the nanoparticles. First, this document will define the notion of nanoparticle, the advantages of their use in the pharmaceutical industry, the types of nanoparticles currently available on the market and those currently in development, and finally the risks linked to their use in pharmaceutical products. Secondly, the different technologies used to manufacture the nanoparticles will be reviewed in detail, dividing them in "top-down" and "bottom-up". The principles of methods will be detailed, taking into account the advantages and disadvantages of each one, and also their adaptability for the industrial scale. Finally, a general conclusion will be done on the current state of industrial production of pharmaceutical nanoparticles.

DISCIPLINE

Pharmacie

MOTS-CLES :

Nanoparticule, pharmacie, industrie, production, méthodes

INTITULE ET ADRESSE DE L'U.F.R. OU DU LABORATOIRE :

UFR de Pharmacie, Université de Bordeaux

146, rue Léo Saignat, 33 076 Bordeaux

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier dans un premier temps Monsieur le Professeur Luc GRISSLAIN, qui m'a fait l'honneur de présider ce jury. Veuillez trouver ici l'expression de ma profonde et respectueuse reconnaissance pour m'avoir permis de réaliser ce travail.

A Madame Pascale GUEROULT, je vous remercie de votre disponibilité, votre aide et votre soutien tout au long de la préparation de cette thèse. Vous avez accompagné mon parcours universitaire depuis la première UE Industrie (Cycle du Vie du Médicament, 3ème année de Pharmacie), me permettant de découvrir et d'apprécier le milieu de l'industrie pharmaceutique.

Je remercie également Olivier de LESTANVILLE d'avoir accepté de juger ce travail. Olivier, en tant que mon responsable à Delpharm Huningue, ton support depuis la période de mon apprentissage est très important pour moi. J'apprécie l'expertise que tu m'as offerte dans la réalisation de cette thèse.

A Donat MEYER, je te remercie d'avoir accepté de juger ce travail. Si tu n'étais pas là, le M2 IP ne serait pas ce que c'est aujourd'hui. Merci pour tout ce que tu as fait pour le Master, tout ce que tu nous as fait voir et découvrir, ainsi que pour ton soutien continu tout au long de l'année.

Aussi, un grand merci à l'équipe de la pause de Delpharm (ceux qui sont toujours là et ceux qui sont partis) : Loïc, Milène, Noémie, Elba, Fanny, Anthony, Linda, Nounja et Catherine, merci pour les moments partagés !

Tous mes amis de la fac à Bordeaux, merci pour tout ! Aliénor, Carine, Eva, Lucie, Marie, Sandra, on a passé 6 ans ensemble, on a partagé le stress, les moments difficiles, et les rires, et on a survécu !

A Camille : nous voilà, pharmaciennes en industrie ! Merci beaucoup pour tout ton support de ces dernières 2 années, et sache que tu as une amie à vie en moi !

Stole et Elefterija, merci d'être mes bases macédoniennes à Bordeaux ! Je ne sais pas ce que je ferai sans vous deux, mais c'est sûr que mes années à Bordeaux auraient été beaucoup moins drôles !

Merci à ma famille (même s'ils ne parlent pas le français, je traduirai !) : Merci, papa, pour ton support pendant mes études, et aussi pour m'avoir fait travailler dans ta pharmacie quand j'étais plus jeune. C'est grâce à cette expérience-là que j'ai décidé de devenir pharmacienne.

Merci, Laze, le meilleur petit frère du monde ! C'est à toi maintenant, le prochain pharmacien dans la famille !

Finalement, merci, maman. Sans toi, je ne serai pas la personne que je suis aujourd'hui. J'espère que tu es fière de ta fille, où que tu sois.

TABLE DES MATIERES

Remerciements 2
Table des matières 3
Liste de figures 5
Liste de tableaux 5
Liste d'abréviations 6
I. Introduction 7
1. Les nanoparticules 7
1.1. Définition 7
1.2. Historique 8
2. Utilisations des nanoparticules 10
II. Les nanoparticules en pharmacie 12
1. Intérêt des nanoparticules 12
1.1. Augmentation de la solubilité 13
1.2. Diminution de la toxicité par extravasation 14
1.3. Protection de la dégradation 15
1.4. Réduction de l'élimination 15
1.5. Véctorisation du médicament 15
a) La vectorisation passive 16
b) La vectorisation active 17
2. Les médicaments reconnus 18
2.1. Les liposomes en tant que nanopharmaceutiques 18
2.2. Nanoformulations à base de lipides (non-liposomales) 19
2.3. Protéines et polypéptides PEGylés 19
2.4. Nanoformulations à base de polymères 19
2.5. Conjugaisons nanopharmaceutiques protéine-médicament 20
2.6. Nanoformulations à base de surfactants 20
2.7. Nanocristaux 20
2.8. Virosomes 20
2.9. Nanoparticules à base de métaux 21
3. Les formes en cours de dévéloppement 21
3.1. En phase clinique 21
3.2. En phase préclinique 22
a) Les micelles 23
b) Les dendrimères 24
c) Les nanoparticules à base d'albumine, de polysaccharides et les nanoparticules virales 24

d) Les nanoparticules métalliques 25
e) Les nanotubes en carbone 25
f) Les « quantum dots » 26
4. La nanotoxicité 26
4.1. Les poumons 28
4.2. La peau 29
4.3. Le foie 30
4.4. Le cerveau 30
III. La fabrication des nanoparticules dans l'industrie pharmaceutique 32
1. Les technologies « top-down » 32
1.1. Méthodes par broyage 32
1.2. Méthodes par homogénéisation à haute pression 34
a) Microfluidisation 35
b) Piston-gap homogénéisation 36
2. Les technologies « bottom-up » 37
2.1. Méthodes par précipitation 37
a) Précipitation contre-solvant 38
b) Précipitation contrôlée à gravité élevée 40
c) Nanoprécipitation « Flash » 41
d) Fluides supercritiques 43
e) Sonoprécipitation 46
2.2. Méthodes par évaporation 47
a) Spray drying 47
b) Réacteur de flux d'aerosols 49
c) Electrospraying 50
2.3. La polymérisation 50
2.4. L'ablation laser 51
3. Conclusion : Comparaison des méthodes 52
IV. Conclusion 56
Bibliographie 57

LISTE DE FIGURES

Figure 1 : Applications des nanoparticules 10
Figure 2: Surface de contact en fonction de la taille des particules 14
Figure 3: L'effet EPR 16
Figure 4: La vectorisation active 17
Figure 5: Liposome 18
Figure 6: Micelle 23
Figure 7: Dendrimère 24
Figure 8: Nanotubes en carbone 25
Figure 9: La toxicité des nanoparticules 27
Figure 10: Représentation du broyage dans un broyeur à billes 33
Figure 11: Broyeur à billes industriel 34
Figure 12: Schéma d'un homogénéisateur à haute pression [27] 34
Figure 13: Chambres de microfluidisation 35
Figure 14: Schéma d'un homogénéisateur "piston-gap" 36
Figure 15: Système de garnissage rotatif [21] 40
Figure 16: Schéma de jets d'impact de liquides confines [38] 41
Figure 17: Mélangeur en vortex à multi-entrées [21] 42
Figure 18: Expansion rapide des solutions supercritiques 44
Figure 19: Contre-solvant supercritique 45
Figure 20: Büchi Nano Spray Dryer [42] 48

LISTE DE TABLEAUX

Tableau 1 : Définition de « nanoparticule » et « nanomatériel » 8
Tableau 2 : Les problèmes avec les principes actifs "libres" et leurs implications 12
Tableau 3: Les méthodes de production de nanoparticules 52

LISTE D'ABRÉVIATIONS

ISO : International Organization for Standardization

PEG : Polyéthylene glycol

CSP : Code de la Santé Publique

EPR effect : Enhanced Permeability and Retention effect

MPS : Système Mononucléaire Phagocytique

MLV : Multi-Lamelar Vehicle

CMC : Concentration Micellaire Critique

SPION : SuperParamagnetic Iron Oxide Nanoparticles

USPION : Ultra-small SuperParamagnetic Iron Oxide Nanoparticles

FDA : Food and Drugs Administration

MRI : Magnetic Resonance Imagery

SWCNT : Single-Walled Carbon NanoTubes

MWCNT : Multi-Walled Carbon NanoTubes

FSC : Fluide SuperCritique

RESS : Rapid Expansion of Supercritical Solutions

GAS/SAS : Gas Anti-Solvent/Supercritical Anti-Solvent

I. INTRODUCTION

Aujourd'hui on peut trouver les nanotechnologies partout dans nos vies quotidiennes, que cela soit le secteur électronique (production des puces de la plus petite taille possible), le domaine des biotechnologies, ou tout simplement, les produits cosmétiques. Dans toutes les disciplines il y a un besoin permanent d'une taille de particules toujours plus petite. La nanonisation des produits est un facteur important du côté économique, et aussi du côté médical/pharmaceutique. Dans les approches thérapeutiques modernes, les nanotechnologies sont un des facteurs clés de la vectorisation du médicament, aujourd'hui et dans les années à venir. [1]

Les nanotechnologies vont influencer énormément nos vies dans les années qui suivent. Le transfert des matières dans les nanodimensions modifie leurs propriétés physiques, ce qui est utilisé dans l'industrie pharmaceutique pour développer de nouvelles formulations innovatrices pour les médicaments peu solubles – les nanoparticules. Les premiers exemples pour ce type de formes pharmaceutiques sont déjà sur le marché.

Depuis ces 10 dernières années, le nombre de principes actifs peu solubles augmente de plus en plus. D'après certaines études, environ 40% des médicaments en cours de développement ont des problèmes de solubilité. De plus, les nouvelles méthodes de haut « screening » amènent à la découverte d'encore plus de nouvelles molécules à pauvre hydrosolubilité. Par conséquent, une mauvaise solubilité dans l'eau signifie une mauvaise biodisponibilité.

Les technologies de production industrielle de ces formes seront analysées par la suite.

1. LES NANOPARTICULES

1.1. DEFINITION

La nanotechnologie est la science qui étudie les matériaux à l'échelle du nanomètre (ou 10^{-9} mètres), et c'est aussi l'étude de la manipulation de la matière à l'échelle atomique et moléculaire.

Une nanoparticule est le composant le plus fondamental dans la fabrication d'une nanostructure. Elle est beaucoup plus petite que les objets de la vie quotidienne qui suivent les lois du mouvement de Newton, mais plus grande qu'un atome ou une simple molécule qui sont gouvernés par les lois de la mécanique quantique. [2]

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

Tableau 1 : Définition de « nanoparticule » et « nanomatériel »

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

Par la suite, nous allons considérer en tant que nanoparticule toute particule de taille comprise entre 1 et 100nm (dans les 3 dimensions), dont des phénomènes uniques lui permettent de nouvelles applications. [3]

1.2. HISTORIQUE

Dans ce paragraphe, nous allons faire un rappel historique de l'essor des nanoparticules pharmaceutiques, leurs autres applications seront revues dans le paragraphe suivant.

A partir des années 60, les progrès théoriques et expérimentaux dans les domaines de la physique, la chimie, et les biosciences, ont permis le développement des nanotechnologies. [2] Plus précisément, les nanoparticules à usage pharmaceutique sont en fait issues des recherches effectuées dans le domaine des médicaments à libération contrôlée.[4]

Un des pionniers de la nanotechnologie était le Professeur Peter Paul Speiser, de l'Institut Fédéral de Technologie à Zurich. A la fin des années 60, son équipe était responsable du développement des premières nanoparticules pharmaceutiques, à utiliser dans les vaccins et pour la vectorisation du médicament. Dans un premier temps, ils avaient réalisé des nanocapsules contenant des particules virales ou antigéniques, fabriquées par polymérisation en milieu aqueux. Lors de l'administration par voie IV, ces nanocapsules permettaient d'obtenir une réponse plus forte au vaccin, donc une meilleure immunisation.

Dans les années 1977 et 1978, Richard Oppenheim et Jennifer Marty ont développé des nanoparticules à base d'albumine et gélatine. Pour faire ceci, ils ont appliqué la méthode de coacervation, déjà utilisée pour la fabrication de microparticules. Le principe de base de cette méthode est de provoquer la désolvatation d'une molécule dissoute en rajoutant un agent tensioactif à la solution. Pour obtenir des nanoparticules, Oppenheim et Marty

arrêtaient l'addition de tensioactif juste avant la séparation des phases, puis en rajoutant un aldéhyde dans la solution, ils stabilisaient les particules ainsi formées. Plus de 20 ans plus tard, cette technologie a été utilisée, entre autres, pour le transport d'oligonucléotides à travers des membranes cellulaires, et pour le transport de médicaments à travers la barrière hémato-encéphalique.

En 1979, les premières nanoparticules biodégradables étaient fabriquées par Patrick Couvreur, un chercheur de Bruxelles. Elles étaient composées de poly(méthyle cyanoacrylate) et poly(éthyle cyanoacrylate).

Dans cette même période, aux Etats-Unis, des chercheurs de la John Hopkins University travaillaient sur un autre type de nanoparticules. Ils avaient appliqué un procédé dans lequel l'albumine était dissoute dans l'eau, ensuite émulsifiée dans l'huile. En chauffant jusqu'à 175-185°C, la protéine était dénaturée, et des particules de taille entre 300 et 1000nm étaient obtenues. Ces particules étaient ensuite radiomarquées avec du technétium et leur distribution dans le système réticulo-endothélial était étudiée. Plus tard, des particules de magnétite étaient introduites dans le process. Le but était de pouvoir cibler ces nanoparticules magnétiques dans l'organisme à l'aide d'un champ magnétique externe – une idée intéressante, mais difficilement applicable sur les parties plus internes du corps.

Le début des années 80 est marqué par des recherches sur l'effet du polymère utilisé sur la nanoparticule obtenue. L'acide poly(lactique), ainsi que son co-polymère l'acide poly (lactique-co-glycolique), font partie des polymères les plus importants de l'administration parentérale. Ce type de nanoparticules fût synthétisé pour la première fois en 1981 par Robert Gurny aux Etats-Unis.

C'est au début des années 80 que la communauté scientifique a montré les grands avantages de l'utilisation des nanoparticules dans les médicaments anti-cancéreux. Dans beaucoup d'études, une meilleure efficacité, ainsi qu'une toxicité diminuée étaient observées.

Plus tard, leurs bénéfices étaient aussi prouvés dans l'amélioration de la biodisponibilité des anti-infectieux et des médicaments de thérapie génique.

Une autre découverte importante des années 80-90 fût la préparation de nanoparticules avec des chaines de poly(éthylène glycol) (PEG) attachés. Les nanoparticules non-enrobées sont rapidement opsonisées et éliminées par les macrophages du système réticulo-endothélial (foie, rate, poumons, moelle osseuse). Par contre, les nanoparticules enrobées en poly(oxy-éthylène)-poly(oxypropylène) (poloxamer 338 et poloxamine 908 respectivement) avaient un temps de circulation sanguine plus long et une métabolisation par le foie diminuée.

Dans les années 90, des chercheurs en Russie ont prouvé que des nanoparticules polymériques, contenant différents principes actifs et enrobées en polysorbate 80 (Tween® 80) pouvaient traverser la barrière hémato-encéphalique – ceci est un développement important dans le traitement de tumeurs cérébrales.

Les premiers médicaments issus des nanotechnologies apparaissent sur le marché dans les années 2000. Le premier produit commercialisé était l'Abraxane™ (paclitaxel) en 2005. [4]

Aujourd'hui, il y a plus de 60 médicaments actuellement sur le marché, et des centaines qui sont dans les dernières étapes de développement (études cliniques). Ces produits seront revus un peu plus en détail dans le chapitre 2.

2. UTILISATIONS DES NANOPARTICULES

Lorsque l'on pense aux nanoparticules et leurs applications potentielles, on tend à imaginer des technologies très sophistiquées. Or, même si cela peut paraître surprenant pour certains, la majorité des utilisations actuelles des nanoparticules n'a rien de particulièrement « spectaculaire ». La figure 1 présente les différents domaines industriels où l'on peut retrouver des nanoparticules.

Figure 1 : Applications des nanoparticules

Document non libre de droits, non reproduit par respect du droit d'auteur

Un bon exemple est le noir de carbone mentionné dans le paragraphe précédent. Il s'agit d'une poudre amorphe, constituée de nanoparticules de taille entre 20 et 50 nm. Produit de la combustion incomplète d'une huile aromatique lourde, ou un gaz naturel, le noir de carbone est utilisé pour le renforcement du caoutchouc, majoritairement dans les pneus de voitures.

Les produits alimentaires représentent, aussi, une source d'application des nanoparticules. Des nanoparticules en silicone amorphes (connues sous le code E551) sont utilisées en tant

qu'agents antiagglomérants pour les poudres et épaississants dans les pâtes. Comme pour de nombreuses autres nanopoudres le débat est important pour savoir si cette silicone amorphe est un nanomatériel, et ce car lors de la production, les nanoparticules primaires s'agglomèrent pour former des particules de plus grande taille. Or, il peut être difficile de distinguer les nanoparticules primaires d'autres agglomérats ou agrégats.

Une autre application majeure des nanoparticules est le domaine des cosmétiques, plus particulièrement, les produits solaires. Ces produits contiennent des nanoparticules d'oxyde de zinc et de dioxyde de titane, parce qu'ils ne sont pas colorés, et reflètent/diffractent la lumière UV plus efficacement que les particules de plus grande taille, améliorant ainsi la protection de la peau aux rayons UV. La petite taille de particules permet d'obtenir un produit transparent, d'où l'intérêt porté par les consommateurs.

Aujourd'hui, on se sert beaucoup des propriétés optiques des nanoparticules pour améliorer l'apparence des matériels, par exemple, dans les peintures des voitures. Les deux dernières couches de peinture sont la couche colorée, et la couche transparente, qui protège la couleur de l'environnement. Mercedes-Benz a introduit une couche transparente en production en 2003, qui permettait d'un côté, d'avoir une meilleure résistance aux rayures, et d'un autre côté, d'obtenir une surface plus brillante.

Les aimants liquides, aussi appelés ferroliquides, sont un autre exemple de nanoparticules. Les ferrofluides sont des suspensions ultrastables consistuées de petites nanoparticules magnétiques dans un liquide, ils combinent le comportement normal d'un liquide avec des propriétés superparamagnétiques. Dans un champ magnétique, le moment magnétique des nanoparticules tend à s'aligner avec la direction du champ magnétique, ce qui résulte en une magnétisation macroscopique du liquide. La possibilité de contrôler le flux d'un ferroliquide, ainsi que sa position à l'intérieur d'un appareil technique donnent lieu à de nombreuses applications, par exemple dans les ammortisseurs, ou dans les enceintes de musique en tant que matériel de transfert de la chaleur.

Celles-ci ne sont que quelques unes des applications actuelles des nanoparticules dans le monde. Néanmoins, la timeline de développement de l'échelle laboratoire au produit commércialisé est assez longue, pouvant aller au délà de 20 ans de recherches. Cela étant dit, vu leur fort potentiel dans différents domaines industriels, les nanoparticules sont le centre d'intérêt des scientifiques.

II. LES NANOPARTICULES EN PHARMACIE

Une étude réalisée en 2012 sur l'état mondial des produits pharmaceutiques issus des nanotechnologies a identifié 67 nanodispositifs et 33 nanopharmaceutiques actuellement sur le marché. Au total, 25 dispositifs et 122 médicaments en cours de développement faisaient l'objet de 789 études cliniques. [5]

Par la suite, on va uniquement considérer les nanopharmaceutiques (donc, les produits rentrant dans la définition du médicament établie par la Code de la Santé Publique[6]). Les médicaments discutés ci-dessous ont tous été appelés des « nanopharmaceutiques », « nanomédicaments » ou « nanodrugs » dans des publications scientifiques ou des rapports des médias.[7]

1. INTERET DES NANOPARTICULES

De nombreuses propriétés pharmacologiques et pharmacocinétiques des principes actifs dits « libres » peuvent être améliorées en modifiant la forme galénique du médicament. Les nanoparticules ont la capacité, en fonction de leur design, de changer la pharmacocinétique du médicament (que cela soit l'administration, la distribution, la métabolisation ou l'élimination dans l'organisme), améliorer sa solubilité ou fonctionner en tant que réservoirs de principe actif (dans le cas des formes à libération prolongée).[8]

Le tableau 2 résume les problèmes pouvant être rencontrés avec un principe actif « libre » et l'amélioration possible apportée par une forme nanoparticulaire.

Tableau 2 : Les problèmes avec les principes actifs "libres" et leurs implications

Problème	Implication	Effet de la nanoparticule
Mauvaise solubilité	Risque de précipitation du principe actif	Une nanocapsule, nanoparticule micellaire ou liposomale peut offrir des milieux hydrophiles et hydrophobes, ce qui augmenterait la solubilité du PA
Destruction des tissus et organes sains	L'extravasation des médicaments cytotoxiques peut endommager les tissus sains et résulter en leur nécrose	Libération régulée par la nanoparticule, ce qui réduit ou élimine son extravasation dans les tissus sains
Dégradation rapide *in-vivo*	La molécule de principe actif est modifiée ou dégradée dans l'organisme : perte de l'activité pharmacologique	La nanoparticule protège le PA de la métabolisation. Des doses plus faibles du PA doivent être administrées
Clairance trop élevée	Le principe actif est éliminé trop rapidement par le foie ou les reins, nécessitant des administrations fréquentes ou des doses élevées	La mise en forme nanoparticulaire modifie la pharmacocinétique, ce qui peut ralentir la clairance

Problème	Implication	Effet de la nanoparticule
Mauvaise biodistribution	Les médicaments à distribution large peuvent agir au niveau des organes sains, limitant ainsi la dose du médicament pouvant être administrée	La forme nanoparticulaire permet de réduire le volume de distribution et diminue les effets indésirables dans les tissus non ciblés
Peu de sélectivité pour les tissus ciblés	La distribution du médicament dans les tissus normaux peut donner des effets indésirables, résultant en une restriction de la quantité de médicament pouvant être administrée. Des concentrations faibles du PA dans les tissus ciblés peuvent donner un effet thérapeutique suboptimal	Les nanoparticules peuvent permettre la vectorisation, ou ciblage, du médicament dans les tissus malades. De plus, des ligands peuvent être rajoutés sur leur surface pour augmenter encore plus leur spécificité

1.1. AUGMENTATION DE LA SOLUBILITE

Plus de 40% des molécules identifiées par des programmes de « screening » combiné aujourd'hui ont une mauvaise solubilité dans l'eau. La mise en forme galénique est difficile à réaliser en utilisant les méthodes conventionnelles, et la formulation est associée à de nombreux problèmes de performance, tels que :

- Mauvaise biodisponibilité ;
- Difficultés de commercialiser la molécule, même si elle remplit les critères de sécurité et efficacité, car la mise en forme pharmaceutique n'est pas réalisable ;
- Variations de la biodisponibilité en fonction de la prise alimentaire (avant/après repas) ;
- Pas de proportionnalité dose/effet ;
- Dosage suboptimal ;
- Utilisation d'excipients « forts », tels que grandes quantités de co-solvants ;
- Précipitation incontrôlable ;
- Non compliance de la part du patient (car le schéma thérapeutique est inadapté)

Mettre ces molécules hydrophobes sous forme de nanoparticules permet d'obtenir des nanodispersions aqueuses stables ayant une durée de vie acceptable. Ces dispersions peuvent ensuite être traitées et utilisées pour fabriquer des formes médicamenteuses solides.

L'avantage des nanoparticules est que, plus leur taille est petite, plus la surface de contact augmente (cf. Figure 2). L'augmentation de la surface de contact, et par conséquent l'augmentation des interactions de surface, augmente la vitesse de dissolution. Néanmoins, il faut penser à utiliser des stabilisants, ou tensioactifs, pour réguler la tension de surface des nanoparticules et éviter leur agrégation en particules de plus grande taille.

Figure 2: Surface de contact en fonction de la taille des particules

Document non libre de droits, non reproduit par respect du droit d'auteur

L'activité pharmacologique d'une substance est dépendante de sa capacité à se dissoudre et interagir avec sa cible biologique. La mauvaise biodisponibilité des principes actifs hydrophobes qui n'est pas liée à une mauvaise perméabilité membranaire peut être attribuée à la cinétique de dissolution de la molécule. La vitesse de dissolution est directement proportionnelle à la surface totale des particules, selon l'équation de Noyes-Whitney :

$$V = \frac{dm}{dt} = k \times S \times (C_s - C)$$

V – vitesse de dissolution
k – constante de la vitesse de dissolution (intrinsèque)
S – Surface totale des particules à dissoudre
C_s – Concentration du PA à saturation
C – Concentration du PA dans le milieu

L'augmentation de la surface des particules va avoir un effet important sur la biodisponibilité orale de la molécule. Une bonne dissolution maximise la quantité de principe actif libre d'être absorbée. [9]

1.2. DIMINUTION DE LA TOXICITE PAR EXTRAVASATION

Un problème rencontré souvent avec les médicaments cytotoxiques est une extravasation non voulue du principe actif dans les tissus sous-cutanés à l'endroit d'administration lors de l'injection, ce qui peut provoquer des ulcères nécrotiques (ex. avec la doxorubicine).

Lorsque le principe actif est porté par une nanoparticule, sa libération est régulée par la particule. Ceci peut significativement réduire ou complètement éliminer l'extravasation accidentelle, puisque les tissus sains sont caractérisés par un endothélium vasculaire continu, à travers lequel les nanoparticules ne peuvent pas traverser.

La situation est différente dans les cas des tumeurs, où l'extravasation du médicament est un effet souhaité (cf. *1.5 Vectorisation du médicament*).

1.3. PROTECTION DE LA DEGRADATION

Un autre problème potentiel peut être la métabolisation du principe actif libre dans l'organisme. Soit par addition ou suppression des groupements fonctionnels, soit par dégradation complète, la molécule peut perdre la majorité, voire toutes ses propriétés pharmacologiques. A cause de cette dégradation, il est souvent nécessaire d'administrer des doses assez élevées du médicament pour obtenir l'effet thérapeutique souhaité.

Le rôle de la nanoparticule dans ces cas est de protéger le principe actif des attaques enzymatiques, chimiques ou immunitaires. Ceci permet de diminuer le dosage du médicament, car il n'y a plus besoin de compenser la partie du médicament qui serait métabolisée.

1.4. REDUCTION DE L'ELIMINATION

L'élimination trop rapide du principe actif de l'organisme peut présenter un obstacle majeur dans le développement d'un médicament. Une clairance rénale élevée va nécessiter une augmentation de la dose ou du nombre de prises journalières.

Comme dans le cas des principes actifs facilement métabolisés, la nanoparticule peut encapsuler le principe actif, ce qui va ralentir son élimination.[10]

1.5. VECTORISATION DU MEDICAMENT

Idéalement, pour qu'un médicament soit efficace, il doit, dans un premier temps, pouvoir pénétrer les barrières physiologiques et atteindre le tissu ou organe malade dans la même quantité administrée au départ et sans perdre son activité pharmacologique. Ensuite, une fois que la cible est atteinte, le médicament doit agir uniquement au niveau des cellules malades, sans avoir un effet sur les cellules saines.

Ces deux stratégies sont associées à une amélioration de l'efficacité du traitement et de la qualité de vie du patient, grâce à l'augmentation de la concentration du médicament dans la cible et la diminution des effets indésirables dose-dépendants. Ce principe est connu sous le nom de vectorisation, ou ciblage, du médicament.

Dans le cas de nanoparticules, pour qu'elles puissent effectivement transporter le principe actif jusqu'au tissu ciblé, elles doivent pouvoir rester dans la circulation pendant longtemps sans être éliminées. En général, les nanoparticules « standard » (dont la surface n'a pas été modifiée) sont captées par le système réticuloendothélial (le foie et la rate) en fonction de leur taille et surface.

- *La taille* : Elle doit être suffisamment grande pour éviter leur extravasation dans les capillaires sanguins, mais aussi suffisamment petite pour éviter la capture par les macrophages du système réticuloendothélial. La taille de la sinusoïde de la rate et la fenestra des cellules de Kuffer du foie varie entre 150 et 200nm, alors que l'endothélium des vaisseaux d'une tumeur a des gap jonctions entre 100 et 600nm. Par conséquent, les nanoparticules doivent être inférieures à 100nm pour pouvoir traverser ces structures vasculaires.
- *La surface* : Elle doit idéalement être hydrophile, pour éviter la capture par les macrophages. Ceci peut être réalisé soit en enrobant la nanoparticule par un polymère hydrophile, par exemple le PEG, soit en utilisant un couple de co-polymères pour la matrice de la particule, avec un polymère hydrophile et un polymère hydrophobe.

A) LA VECTORISATION PASSIVE

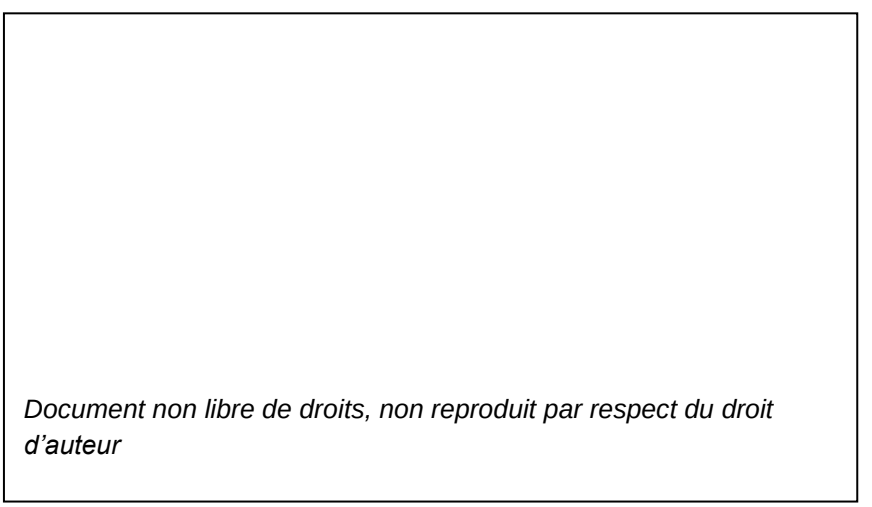
En utilisant la pathophysiologie spécifique des tissus malades (infectés ou tumoraux), les nanoparticules sont capables de porter le principe actif jusqu'aux cibles, grâce à l'effet EPR, ainsi qu'au microenvironnement des tumeurs.

- *L'effet de perméabilité et rétention renforcées* (ang : EPR effect - enhanced permeability and retention effect) : Dans certains états pathologiques, tels que les tissus enflammés ou tumoraux, la perméabilité du tissu vasculaire augmente au point que les nanoparticules, qui sont normalement exclues des tissus, peuvent extravaser et se retrouver dans l'espace tissulaire interstitiel, où elles vont s'accumuler. (cf. Figure 3)

  Dans le cas d'une inflammation, un remodelage vasculaire est activé par le système immunitaire, augmentant ainsi la perméabilité vasculaire pour que les leucocytes puissent extravaser.[8]

  Dans le cas des tumeurs, les cellules cancéreuses nécessitent la formation de nouveaux vaisseaux sanguins (néovascularisation), ou elles recrutent les vaisseaux existants pour qu'ils les fournissent en oxygène et éléments nutritifs. Ceci fait que les vaisseaux tumoraux sont très désorganisés et dilatés, avec un drainage lymphatique compromis et des gap jonctions assez larges entre les cellules endothéliales. [11]

Figure 3: L'effet EPR



- *Le microenvironnement des tumeurs* : L'environnement autour des cellules tumorales est différent de celui des cellules normales. Les cellules cancéreuses se multiplient assez rapidement, et par conséquent, elles ont besoin de beaucoup plus d'oxygène et éléments nutritifs. Pour avoir plus d'énergie, les cellules tumorales utilisent la glycolyse, ce qui crée un environnement acide.
  Des nanoparticules pH-sensibles peuvent être utilisés pour cibler ces cellules. Ce type de nanoparticules serait stable au pH physiologique de 7,4, mais elles se dégraderaient dans le milieu acide des tumeurs, libérant ainsi le principe actif.

B) LA VECTORISATION ACTIVE

A la différence de la vectorisation passive, qui utilise les propriétés intrinsèques des nanoparticules pour faire le ciblage, la vectorisation active consiste à inclure un ligand ou un anticorps sur la nanoparticule spécifique d'une cible dans l'organisme. Ce mécanisme est d'autant plus intéressant en vue de la surexpression de certains récepteurs ou antigènes par les cellules malades, les distinguant des cellules saines.[12]

Des recherches ont déjà été réalisées pour tester l'efficacité d'un anticorps directement fixé sur la molécule de principe actif. Il a été prouvé que ce n'était pas très efficace dans le traitement du cancer, principalement parce que le nombre de molécules qui peuvent être fixées sur l'anticorps sans compromettre sa reconnaissance immunitaire était limité.

Par contre, si le porteur du principe actif est la nanoparticule, et le ligand ou anticorps est juste conjugué à la particule, beaucoup plus de médicaments peuvent faire l'objet d'une vectorisation active.

Figure 4: La vectorisation active

Document non libre de droits, non reproduit par respect du droit d'auteur

Lors de la conception de la structure de ces nanoparticules, il faut tenir compte de certains facteurs pour obtenir une efficacité optimale :

- *L'expression de l'antigène ou récepteur* : Idéalement, l'antigène ou récepteur ciblé par la nanoparticule doit être exprimé uniquement au niveau de la cellule malade, et pas au niveau de la cellule saine. Aussi, il doit être exprimé de manière homogène sur toutes les cellules malades. Finalement, ces antigènes ou récepteurs ne doivent pas être libérés dans la circulation sanguine.

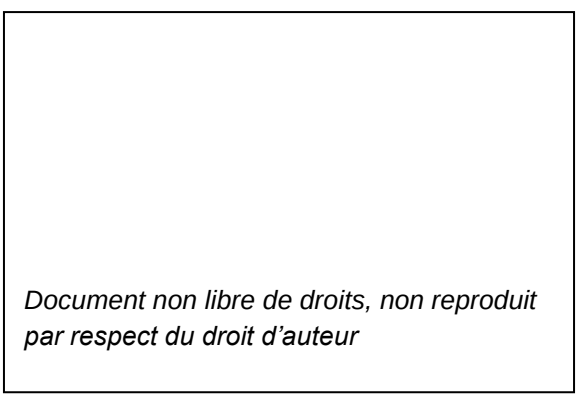
- *L'internalisation de la nanoparticule ainsi conjuguée* : Il est important que la conjugaison nanoparticule-ligand puisse être internalisée une fois liée à la cellule cible. En général, cette internalisation se déroule selon le mécanisme d'endocytose. [11]

2. LES MEDICAMENTS RECONNUS

2.1. LES LIPOSOMES EN TANT QUE NANOPHARMACEUTIQUES

Les liposomes sont formés à partir de phospholipides et cholestérol dans un milieu aqueux. Ils sont caractérisés par une ou plusieurs phases internes aqueuses, qui sont entourées par une ou plusieurs bicouches phospholipidiques. En fonction de la méthode de fabrication, un liposome peut avoir une taille entre 25 et 1000 nm.

Figure 5: Liposome



Les liposomes sont utilisés dans la vectorisation du médicament à cause de leur capacité d'encapsuler des molécules hydrophiles dans leur phase interne, ainsi que des molécules hydrophobes dans leur bicouche phospholipidique.

Les liposomes sont formés spontanément lors de l'hydratation des phospholipides secs. Ce procédé peut durer des jours, voire des semaines s'il n'est pas perturbé. Par contre, en rajoutant de l'énergie cinétique (ultrasons ou chauffage, par exemple) la formation des liposomes peut être accélérée.

Il est important de pouvoir contrôler la distribution de la taille des liposomes pour optimiser leur utilisation en tant que produits pharmaceutiques. Ceci peut être réalisé en les faisant passer plusieurs fois à travers des membranes à porosité définie sous pression élevée.

La capacité des liposomes à incorporer une variété illimitée de molécules est utilisée pour donner de nouvelles fonctionnalités à des molécules de bas poids moléculaire, déjà approuvées et mises sur le marché.

Il y a 3 mécanismes d'action selon lesquels un médicament liposomal peut agir au niveau de l'organisme :

- *L'effet de perméabilité et rétention renforcé (EPR)* : Si une nanoparticule liposomale a une demie-vie de circulation suffisamment longue, une portion du médicament va s'accumuler passivement dans le tissu interstitiel de la tumeur, et en même temps il va

éviter les autres tissus à cause de son incapacité d'extravaser à partir d'une structure vasculaire normale.

- *Le ciblage du système mononucléaire phagocytique (MPS) :* L'internalisation rapide par les cellules du MPS était considérée comme un problème dans l'utilisation des liposomes lors de leur découverte. Les liposomes injectés par voie intraveineuse cherchent soit à agir au niveau des cellules ou des organes du MPS, soit ils essayent de les éviter. L'effet final dépend presque exclusivement de l'absence ou présence des chaines PEG sur la surface du liposome.
- *Les liposomes multilamellaires :* (Multi-Lamellar Vehicle = MLV) Ce sont les liposomes de choix lorsque l'on les utilise en tant que médicament à libération lente ou prolongée. Ces liposomes sont composés de plusieurs bicouches membranaires, chaque bicouche entourant un compartiment aqueux dans lequel sont dispersées des molécules hydrophiles à bas poids moléculaire. Une fois injectés, ces liposomes vont se désintégrer lentement, libérant ainsi le médicament de manière contrôlée.

Tout ceci démontre que les avantages principaux d'utilisation des liposomes sont : une pharmacocinétique modifiée, une biodisponibilité améliorée, et une toxicité réduite.

2.2. NANOFORMULATIONS A BASE DE LIPIDES (NON-LIPOSOMALES)

Abelcet et Amphotec (amphotericine B) sont des médicaments que l'on peut citer dans cette catégorie. Ce type de nanoparticules a plus ou moins les mêmes caractéristiques que les médicaments liposomales. De plus, dans le cas d'Amphotec, il a été déterminé que son comportement une fois introduit par voie IV est le même que celui du médicament libre. On estime que la nanoparticule lipidique se désintègre au moment de l'injection.

2.3. PROTEINES ET POLYPEPTIDES PEGYLES

En général, les macromolécules physiologiques utilisées à des fins thérapeutiques, telles que les protéines, les enzymes et les polypeptides, peuvent déjà être considérées comme des nanopharmaceutiques en se basant uniquement sur leur taille. Néanmoins, la nanoingénierie rajoute des fonctions ou des propriétés supplémentaires à la molécule originale.

La PEGylation des macromolécules biologiquement actives augmente en général leur rayon hydrodynamique, prolonge leurs temps de circulation et de rétention, diminue leur protéolyse, diminue leur excrétion rénale et protège les éléments antigéniques de la détection du système immunitaire.

2.4. NANOFORMULATIONS A BASE DE POLYMERES

Il s'agit d'un groupe de nanothérapeutiques très hétérogène. Eligard®, Genexol®, Opaxio®, et Zinostatin Stimalamer® peuvent tous être qualifiés en tant que nanopharmaceutiques si on utilise les mêmes critères d'évaluation que pour les liposomes. Le principe actif est incorporé dans des nanoformulations à base de polymères, ce qui donne comme résultat une

pharmacocinétique significativement modifiée. Le ciblage passif grâce à l'effet EPR et une libération prolongée sont les mécanismes d'actions résultant de ce type de formulation.

2.5. CONJUGAISONS NANOPHARMACEUTIQUES PROTEINE-MEDICAMENT

Dans les années 2000, l'albumine a été un centre d'intérêt en tant que vecteur potentiel de molécules thérapeutiques capable d'améliorer la pharmacocinétique du médicament libre.

Le prototype de médicaments à base d'albumine est sans doute l'Abraxane®, qui est constitué de nanoparticules d'albumine conjuguée avec du paclitaxel. Cette formulation modifie la pharmacocinétique du médicament, ce qui permet l'accumulation passive dans le tissu tumoral grâce à l'effet EPR.

Kadcyla® and Ontak®, un médicament immunoconjugué et une protéine recombinante, respectivement, sont des prototypes d'un ciblage thérapeutique.

2.6. NANOFORMULATIONS A BASE DE SURFACTANTS

Fungizone® est une préparation consistant en un mélange solide d'amphotéricine B (insoluble dans l'eau) et de sodium déoxycholate. Lors de l'addition d'une solution tampon, le déoxycholate disperse la molécule en formant des micelles. Néanmoins, lors de l'injection IV, la solution micellaire est diluée, résultant en une concentration du déoxycolate inférieure à la CMC (concentration micellaire critique). Par conséquent, les micelles se désintègrent, et la pharmacocinétique du médicament est celle de la molécule libre. Dans ce cas, la formulation micellaire sert uniquement pour solubiliser la substance active.

2.7. NANOCRISTAUX

Les nanocristaux constituent un groupe de nanopharmaceutiques assez unique, vu qu'ils sont composés de 100% de la substance active. Ce sont des nanoparticules à caractère cristallin. Il n'y a pas de matrice, comme dans le cas des nanoparticules polymériques. La dispersion des nanocristaux dans un liquide permet d'obtenir des nanosuspensions, une forme qui est très utilisée pour augmenter la solubilité de certaines molécules insolubles dans l'eau. En général, les particules dispersées doivent être stabilisées, en utilisant des surfactants ou des stabilisants polymériques. [1]

2.8. VIROSOMES

La capacité des virus d'insérer leur information génétique dans les cellules de leurs hôtes est quelque chose qui a été très étudié dans le cadre de la thérapie génique.

Un virosome est constitué d'une bicouche phospholipidique à l'intérieur de laquelle sont incorporées des protéines dérivées de virus, permettant la fusion avec la cellule cible.[13]

Rexin-G®, décrit comme « le premier médicament injectable de ciblage issu de la génétique moléculaire », est composé d'un dérivé du facteur de von Willebrand qui est incorporé dans l'enveloppe du virus de la leucémie murine. Le virus est « vidangé » de ses propres gènes viraux, qui sont remplacés par le gène codant d'une forme mutée de la cycline G1 humaine.

2.9. NANOPARTICULES A BASE DE METAUX

Feridex® est une solution aqueuse colloïdale de particules superparamagnétiques d'oxyde de fer (superparamagnetic iron oxide nanoparticles = SPION). Ces particules ont un diamètre d'environ 5nm, mais leur surface est modifiée avec du dextran, ce qui augmente leur diamètre hydrodynamique à 150 nm.

Les nanoparticules d'oxyde de fer enrobées sont appelées SPIONs si leur taille hydrodynamique est supérieure à 50nm. Si elles sont inférieures à 50nm, ce sont des SPIONs ultra-petites.

Ces nanoparticules sont rapidement internalisées par les cellules et organes du système MPS en tant que matière particulaire non-physiologique. Les cellules malignes ont la même capacité mais à un niveau moindre. En utilisant l'IRM, des lésions hépatiques et splénaires deviennent plus faciles à repérer (plus foncées) entre les tissus sains environnants – le contraste et la netteté de l'image sont améliorés.

Ferumoxytol (Feraheme™) est approuvé par la FDA pour le traitement de l'anémie ferrique chez les patients adultes insuffisants rénaux. Ce médicament libère du fer à l'intérieur des macrophages. De cette façon, le fer entre soit dans le « pool » intracellulaire de fer, soit il est transféré à la transferrine plasmatique.

NanoTherm® est un produit thérapeutique fabriqué à partir du matériel inorganique non-physiologique. Plus précisément, il est composé de SPIONs de 15nm enrobés d'aminosilane, qui sont directement introduits dans la masse tumorale solide. Une exposition à un champ magnétique changeant de polarité 100 000 fois par seconde fait que ces particules augmentent significativement leur température centrale. En fonction de la longueur d'exposition les températures atteintes vont varier, et elles vont soit directement détruire la tumeur (ablation thermique), soit elles vont la sensibiliser pour la chimiothérapie (hyperthermie). De plus, vu que la majorité des nanoparticules vont rester à l'endroit d'administration, le traitement peut être réitéré.

3. LES FORMES EN COURS DE DEVELOPPEMENT

3.1. EN PHASE CLINIQUE

Les applications médicales des nanoparticules deviennent de plus en plus intéressantes et un grand nombre de médicaments sont actuellement en études cliniques.

Les liposomes et les conjugaisons polymère-molécule (tels que les médicaments PEGylés) sont les formes prédominantes. Un inconvénient de l'utilisation des liposomes est leur élimination rapide par les cellules du système réticulo-endothélial. Plusieurs stratégies ont été développées pour résoudre ce problème. La plus utilisée consiste en la production des

liposomes ayant un temps de demi-vie long en les enrobant avec un polymère inerte et biocompatible, tel que le PEG (polyéthylène glycol). La couche de polymère protège la surface du liposome et permet d'éviter sa reconnaissance par les opsonines. Une autre stratégie est d'augmenter l'accumulation des liposomes dans les cellules ciblées par vectorisation active. Un exemple de ceci est Onco TCS, une forme liposomale de vincristine développée par INEX Pharmaceuticals (Canada) pour le traitement du lymphome agressif non-Hodgkinien. En utilisant des systèmes de transport transmembranaire (ang. TCS : transmembrane carrier system), ce médicament permet le ciblage intracellulaire de la vincristine. Les études cliniques de phase I et II ont démontré qu'Onco TCS a un temps de demi-vie plus long, une accumulation plus élevée dans les tumeurs et un profil de libération mieux contrôlé que ceux de la vincristine libre.

Le PEG est très utilisé afin de renforcer la pharmacocinétique de nombreuses formulations nanoparticulaires. Il s'agit d'une molécule consistant en une chaine polymérique flexible hautement hydratée qui réduit l'adsorption par les protéines plasmatiques, la métabolisation de la molécule, ainsi que la clairance rénale des petites molécules. Tout ceci prolonge le temps de demi-vie de la molécule dans l'organisme. Le PEG est aussi non-immunogénique et non-toxique, donc très pratique pour des applications thérapeutiques. Ces propriétés intéressantes ont conduit à la conception de nombreux produits à base de PEG actuellement en phase de développement.

Un autre polymère intéressant utilisé dans la formulation des conjugaisons polymère-molécule est N-(2-hydroxypropyl) methacrylamide (HPMA). C'est un polymère linéaire hydrophile dont les chaines latérales peuvent être fonctionnalisées, permettant le lien avec différents ligands pour la vectorisation active. En conjuguant des petites molécules hydrophobes, tel que le paclitaxel, sur la chaine de HPMA, sa solubilité dans l'eau est fortement améliorée. Le HPMA est aussi un polymère biodégradable et non-immunogénique.

En plus des liposomes et nanoparticules conjuguées, d'autres formes telles que des nanoémulsions, dendrimères et nanoparticules inorganiques ont montré un vrai potentiel thérapeutique. Ces formes ont permis de découvrir beaucoup de stratégies innovantes dans le domaine des nanoparticules. Un exemple intéressant est NB-001, une nanoémulsion destinée au traitement topique de l'herpès génital. Un autre exemple est VivaGel, un médicament à base de dendrimères de poly-L-lysine qui serait un traitement préventif pratique, sûr et accessible contre le VIH et l'herpès chez les femmes. [14]

3.2. EN PHASE PRECLINIQUE

Le succès de ces dernières années et le potentiel des nanoparticules en ont fait un véritable centre d'intérêt pour les chercheurs académiques et industriels. Les nombreuses découvertes récentes ont conduit au développement de systèmes nanoparticulaires plus complexes. En plus des liposomes et des conjugaisons polymériques, les formes les plus investiguées sont les nanoparticules polymériques, les micelles, les nanocapsules, les dendrimères, les nanoparticules virales, les nanoparticules à base d'albumine, à base de polysaccharides, les nanoparticules métalliques les nanotubes en carbone et les « quantum dots ». Ces nanoparticules ont montré un potentiel thérapeutique dans pratiquement tous les domaines de la médecine, comme l'oncologie, la cardiologie, l'immunologie, la neurologie, l'ophtalmologie, la pneumologie, l'orthopédie et l'odontologie.

Récemment, les micelles polymériques de taille entre 10-200nm ont retenu l'attention en tant que véhicules de vectorisation du médicament. Les micelles polymériques sont formées par auto-assemblage des copolymères consistant en 2 ou plusieurs chaines polymériques à différents degrés de solubilité dans l'eau. Ces copolymères s'assemblent spontanément pour former une structure micellaire dans un milieu aqueux afin de minimiser l'énergie libre du système. Plus précisément, lors d'un contact direct avec de l'eau, la partie hydrophobe centrale minimise l'exposition au milieu aqueux, alors que la partie hydrophile forme l'enveloppe externe qui stabilise le centre de la micelle.

La structure micellaire est idéale pour la vectorisation du médicament (Figure 6). Son noyau hydrophobe peut porter le médicament, particulièrement les molécules peu solubles dans l'eau, avec une capacité de charge élevée (5-25% de la masse de la micelle). L'enveloppe hydrophile peut offrir une protection stérique de la micelle en milieu aqueux et porter des groupements fonctionnels permettant plus de modulation de la micelle.

Au contraire des conjugaisons polymère-molécule, chaque micelle polymérique peut porter plus de médicament grâce à sa plus grande taille et peut libérer ce médicament d'une manière plus régulée. La molécule encapsulée peut être libérée par érosion de la surface, par diffusion à travers la matrice polymérique, ou par diffusion suite au gonflement du polymère. Des modifications des conditions externes, telles que le pH ou la température, peuvent aussi déclencher la libération du médicament.

Figure 6: Micelle

Document non libre de droits, non reproduit par respect du droit d'auteur

Les micelles polymériques sont en général plus stables dans le sang que les liposomes et les autres micelles avec surfactants parce que certains copolymères amphiphiles ont une concentration micellaire critique significativement plus basse.

Les systèmes micellaires polymériques peuvent aussi être utilisés pour co-transporter 2 ou plusieurs médicaments à hydrosolubilité similaire ou différente pour thérapie combinée, ou pour administrer 2 ou plusieurs médicaments de différentes classes thérapeutiques, par exemple un agent d'irradiation et un médicament. La modification de la surface des micelles avec différents ligands ou anticorps permet d'obtenir un ciblage plus précis, ce qui augmente leur spécificité et efficacité, et en même temps aide à diminuer la toxicité. Poly(acide D,L-lactique), poly(acide D,L-glycolique), poly(ε-caprolactone) et leurs copolymères à différentes proportions sont parmi les polymères biodégradables les plus utilisés dans la fabrication des micelles.

B) LES DENDRIMERES

Les dendrimères constituent une autre classe innovante apparue récemment dans le domaine des nanoparticules. Ce sont des macromolédules globulaires hautement ramifiées, avec beaucoup de ramifications provenant d'un noyau central.

Figure 7: Dendrimère

Document non libre de droits, non reproduit par respect du droit d'auteur

Grace à leur architecture, différentes molécules (principes actifs et/ou ligands) peuvent être conjuguées à leur périphérie. [15] Les ramifications sont composées d'unités répétitives, formant plusieurs couches appelées des générations. Récemment, des chercheurs de Michigan ont développé un dendrimère G5 à base de polyamidoamine, d'un diamètre de 5nm et plus de 100 groupements amine primaire à sa surface. En fixant du folate en tant que ligand de ciblage et du méthotrexate en tant que substance active, le dendrimère était 10 fois plus efficace que le méthotrexate libre. De plus, le méthotrexate dentrimérique avait une toxicité systémique plus faible. Ces propriétés intéressantes des dendrimères de polyamidoamine ont conduit à d'autres études similaires.

C) LES NANOPARTICULES A BASE D'ALBUMINE, DE POLYSACCHARIDES ET LES NANOPARTICULES VIRALES

Ces nanoparticules présentent une classe composée de biopolymères. Leur potentiel thérapeutique est assez important grâce à leurs propriétés biologiques spécifiques.

La conjugaison des molécules actives de petites tailles avec l'albumine ou avec le polysaccharide chitosan permet d'améliorer leur stabilité et leur biodistribution.

Concernant les virus, on peut les considérer comme des nanoparticules vivantes avec une structure noyau-enveloppe. Le noyau contient des agents infectieux qui peuvent contrôler la transcription et traduction à l'intérieur des cellules cibles, alors que l'enveloppe contient différentes protéines libres, ou incrustées dans une membrane lipidique.

D) LES NANOPARTICULES METALLIQUES

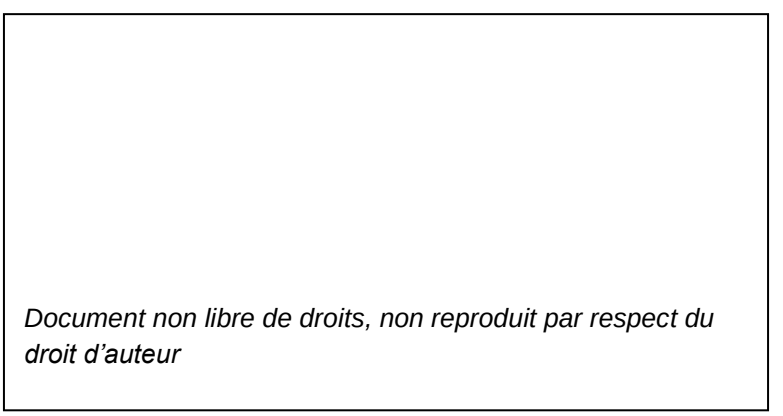
Les nanoparticules les plus étudiées actuellement sont les SPIONs et les nanoparticules en or. Récemment, les SPIONs ont été utilisées dans la thermothérapie pour le traitement des tumeurs cérébrales chez le rat. Les études ont prouvé que suite à ce type de traitement, les rats traités survivaient 4,5 ans de plus que les rats témoin. En ce qui concerne les nanoparticules en or, elles montrent un fort potentiel dans le domaine de la photothérapie infrarouge.

E) LES NANOTUBES EN CARBONE

Les nanotubes en carbone présentent beaucoup de propriétés physico-chimiques intéressantes et ont été étudiés en détail ces dernières années pour des applications biologiques et biomédicales.

Il s'agit des cylindres de feuilles de graphène, classifiés en 2 catégories : single-walled carbon nanotubes (SWCNTs) – des nanotubes à une feuille, or multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs) – des nanotubes à plusieurs feuilles.

Figure 8: Nanotubes en carbone



Les SWCNTs ont des diamètres de 1-2 nm, et des longueurs qui peuvent aller de 50nm à 1cm. Ce sont des nanomatériaux unidimensionnels qui se comportent différemment des nanoparticules sphériques, ce qui offre de nouvelles perspectives dans les domaines de la recherche pharmaceutique et médicale. Leur surface de contact est assez large, ce qui permet d'accrocher un grand nombre de molécules et ligands sur le nanotube. De plus, leur structure leur donne des propriétés optiques assez intéressantes, permettant de les utiliser pour la thérapie photothermale, ainsi que dans l'imagerie médicale. (La thérapie photothérmale consiste en l'utilisation des irradiations electromagnétiques, le plus souvent du domaine de l'infrarouge, pour le traitement de différentes pathologies, entre autres le cancer [16]).

Les MWCNTs ont des diamètres plus larges, de 10-100nm, ce qui peut permettre des applications différentes à celles des SWCNTs, notamment dans la vectorisation de biomolécules de grandes tailles, telles que l'ADN, dans les cellules cibles.

Les études actuellement disponibles, réalisées sur les modèles *in vivo* et *in vitro*, indiquent que les nanotubes sont assez intéressants en tant que vecteurs de siARN (small interfering ARN), paclitaxel et doxorubicin (des médicaments anti-cancéreux).

Bien que la biodistribution et l'effet à long terme de ces nanotubes soient toujours étudiés ce type de nanoparticules présente un potentiel intéressant dans les domaines de la médecine et de la pharmacie.[17]

F) LES « QUANTUM DOTS »

Ce sont des nanocristaux semi-conducteurs, appelés des « quantum dots », ou points quantiques. Ils ont une structure de noyau-enveloppe. Ils sont devenus indispensables dans le domaine de la recherche biomédicale, surtout dans l'imagerie et détection par fluorescence, grâce à des propriétés optiques assez uniques.

L'application médicale de ces « quantum dots » est actuellement la vectorisation traçable du médicament, parce qu'ils sont capables de suivre la pharmacocinétique et la pharmacodynamie des molécules portées par les « quantum dots ».

Récemment les « quantum dots » ont commencé à être étudiés dans l 'optique d'une vectorisation de médicament, avec le noyau de la particule portant la molécule active, et des ligands sur l'enveloppe pour permettre le ciblage. Grâce aux signaux émis par les « quantun dots » il est possible de suivre le transit des médicaments en temps réel, ce qui est un plus par rapport aux autres nanoparticules. Des essais réalisés avec du captopril et avec de la doxorubicine ont donné des résultats intéressants, mais beaucoup plus d'études doivent être réalisées avant de pouvoir passer aux études cliniques pour ce type de nanoparticules. Ceci est d'autant plus important pour connaitre l'effet à long terme de ces particules, surtout sachant qu'il y a un risque de toxicité non négligeable s'ils contiennent souvent des métaux lourds dans leur noyau. [18]

4. LA NANOTOXICITE

Comme expliqué dans les paragraphes précédents, le potentiel des nanoparticules dans le domaine de la santé est assez important. Par contre, elles restent très conversées en raison des problèmes de sécurité et de toxicité. En effet, plusieurs éléments doivent être pris en compte pour l'utilisation d'un médicament à base de nanoparticules :

- *La surface de contact* : Les nanoparticules sont développées précisément à cause de leur petite taille, permettant d'avoir une surface importante. Cette surface est en contact avec les tissus de l'organisme, et elle est le déterminant principal de la force de la réponse pharmacologique, par conséquent son effet toxicologique peut aussi être important. Les mêmes caractéristiques qui font que les nanoparticules ont une réactivité unique, vont aussi avoir un impact sur la toxicité.
- *Les propriétés physico-chimiques :* Les nanoparticules ont des propriétés physico-chimiques différentes de celles des particules de plus grande taille, ce qui peut être à l'origine d'une distribution différente dans le corps, un passage à travers la barrière hémato-encéphalique, ou déclencher la coagulation du sang dans les vaisseaux.

Ceci signifie qu'il faut mettre l'accent sur la pharmacocinétique des nanoparticules lors de la recherche et développement des médicaments issus des nanotechnologies.

- *La toxicité du médicament vs. la toxicité des nanoparticules* : En général, lorsque l'on étudie la toxicité d'un médicament nanoparticulaire, on investigue la toxicité de la formulation entière, et non pas celle des nanoparticules toutes seules. Ceci signifie que l'on ne discrimine pas entre la toxicité du principe actif et celle de la nanoparticule. Il est important d'évaluer la toxicité de la nanoparticule « vide » (sans PA), surtout dans le cas des nanoparticules peu ou pas biodégradables (car elles présentent un risque d'accumulation dans l'organisme, pouvant conduire en des réactions inflammatoires). [19]

Figure 9: La toxicité des nanoparticules

Document non libre de droits, non reproduit par respect du droit d'auteur

La figure 9 présente les différents impacts des nanoparticules en fonction des voies d'administration. L'effet toxicologique dépend non seulement de la dose administrée, mais aussi de la nature de la nanoparticule.

Par la suite, la toxicité sur chacun des organes sur la figure sera détaillée. L'accent sera mis sur les particules non-biodégradables, qui risquent d'engendrer plus d'effets toxiques en raison de leur accumulation.

4.1. LES POUMONS

La voie pulmonaire est une voie d'administration intéressante : la thérapie n'est pas invasive, les poumons ont une surface d'absorption assez importante, et l'effet du premier passage est évité.

Les types de nanoparticules étudiées d'un point de vue toxicologique sont principalement des nanoparticules polymériques, des nanotubes en carbone, des nanoparticules en silice et des nanoparticules en argent.

- *Les nanoparticules polymériques :* Ce type de nanoparticules montre beaucoup de potentiel pour le traitement de différentes pathologies pulmonaires, telles que l'asthme, la broncho-pneumonie chronique obstructive, la tuberculose et le cancer du poumon. Elles sont biocompatibles et adaptées à la libération prolongée du médicament. Parmi les polymères utilisés on peut citer des polymères organiques, tels que le chitosan, l'alginate, l'albumine, et la gélatine, ainsi que des polymères synthétiques, tels que le PLGA.
  Les études actuellement disponibles démontrent que ces particules polymériques ont des profils toxicologiques intéressants. Dans le cas des particules conjuguées de matériaux synthétiques et organiques, les résultats des études indiquent que le fait d'utiliser des polymères organiques permet de « masquer » la particule du système immunitaire, évitant ainsi la réaction inflammatoire.
- *Les nanotubes en carbone :* Ces nanotubes sont étudiés pour leur utilisation potentielle dans les domaines de la vectorisation, la thérapie photodynamique et en tant que trame dans l'ingénierie et reconstitution des tissus (cultures cellulaires). Ils sont divisés en deux catégories : SWCNT (Single-Walled Carbon NanoTubes) et MWCNT (Multi-Walled Carbon NanoTubes), avec les premiers considérés comme plus toxiques (parce qu'ils ont une surface totale plus grande).
  Les études ont démontré la cytotoxicité de ce type de nanoparticules. Elles peuvent conduire à des pathologies pulmonaires inflammatoires, telles que granulomes épithélioïdes et des inflammations interstitielles. Il est estimé que ces effets viennent de l'agrégation et l'accumulation des nanotubes dans les poumons. Par conséquent, des méthodes de meilleure dispersion des nanotubes sont actuellement en étude en vue de diminuer ce type d'effets indésirables.
- *Les nanoparticules en silice :* Déjà très utilisés dans l'industrie chimique, cosmétique et agro-alimentaire, ces nanoparticules ont récemment été introduites dans le domaine biomédical. Elles sont considérées comme étant non-dangereuses à des quantités modérées (< 20 µg/ml).
  Par contre, des essais *in vitro* sur des nanoparticules en silice ont démontré un potentiel d'agglomération à une concentration de 25 µg/ml, et une cytotoxicité dose-dépendante à 50 µg/ml. De plus, une cytotoxicité taille-dépendante a aussi été observée, avec les nanoparticules de plus petite taille (plus toxiques que les grandes).
  Finalement, des études ont aussi démontré l'induction d'une réaction inflammatoire au niveau des poumons par des nanoparticules en silice. Néanmoins, à plus long terme il a été observé que des médiateurs anti-inflammatoires régulaient la réaction et atténuaient la réponse du système immunitaire. Si cela semble permettre l'utilisation des nanoparticules en silice par voie pulmonaire, mais uniquement à doses modérées ; il reste cependant, indispensable de réaliser plus d'études pour mieux appréhender leur toxicité notamment à doses élevées.
- *Les nanoparticules en argent :* La toxicité aigüe et chronique de ce type de particules a déjà été étudiée *in vivo* chez le rat. Dans les toxicités aigües, aucun changement

significatif n'était observé, même aux concentrations maximales. De plus, il n'y avait pas de différences statistiques entre les groupes de rats testés et les groupes témoins. Par contre, lors d'expositions chroniques, des changements alvéolaires inflammatoires et granulomateux, temps- et dose-dépendants, ont été observés.

4.2. LA PEAU

La peau est l'organe le plus grand du corps et elle représente la première barrière entre l'extérieur et l'intérieur de l'organisme. Des nanoparticules appliquées topiquement peuvent potentiellement pénétrer la peau et accéder à la circulation systémique.

- *Les nanoparticules en argent :* Ces nanoparticules ont des propriétés antimicrobiennes, raison pour laquelle elles sont très utilisées dans de nombreux produits, de pansements médicaux jusqu'aux vêtements. Il est déjà connu que l'application topique d'argent peut induire une pathologie bénigne appelée argyria, une décoloration bleue-grise de la peau. Ceci implique une dose journalière maximale recommandée en argent.
  De plus, des essais toxicologiques *in vitro* ont déjà été réalisés avec des nanoparticules en argent, montrant une augmentation en radicaux libres et en stress oxydatif dans les cellules exposées. La toxicité est dose dépendante et varie en fonction de l'enrobage de la particule (les particules non-enrobées étant plus toxiques). Plus d'études devraient être réalisées pour connaitre mieux la toxicité cutanée des nanoparticules en argent. Néanmoins, les résultats actuellement disponibles indiquent que cette toxicité est réversible.
- *Les nanoparticules en dioxyde de titane :* Ces nanoparticules ont plusieurs propriétés qui font qu'elles sont très utilisées dans le domaine des crèmes solaires et cosmétiques. Elles protègent de la lumière UV et offrent une meilleure présentation esthétique aux crèmes.
  Des études *in vitro* ont démontré que les nanoparticules en dioxyde de titane présentent une cytotoxicité dépendante du type cellulaire, impactant différentes fonctions de la cellule, telles que la prolifération, la différentiation, la mobilité et l'apoptose. Néanmoins, ces effets n'ont pas été retrouvés *in vivo*.
- *Les nanoparticules en silice :* Elles sont fréquemment utilisées dans les produits cutanés pharmaceutiques et cosmétiques. Peu de données toxicologiques sont disponibles aujourd'hui pour ce type de nanoparticules. Certaines études *in vitro* faites sur des cultures cellulaires de kératinocytes montrent une toxicité dose-dépendante, mais ces effets ne se sont pas retrouvés lors des études *in vivo*.
- *Les nanoparticules en or :* La perméabilité de la peau vis-à-vis ce type de nanoparticules a déjà été démontrée. Par conséquent, elles sont envisagées aujourd'hui pour les médicaments à usage topique.
  Par contre, les études toxicologiques sont contradictoires. D'après certaines études, les nanoparticules en or de plus grande taille sont plus toxiques, alors que d'après d'autres, une cytotoxicité plus importante était observée pour les plus petites nanoparticules. Ces différences peuvent s'expliquer par la distribution des particules à l'intérieur des cellules, mais il est nécessaire de réaliser plus d'études pour comprendre le mécanisme de leur toxicité.

4.3. LE FOIE

Etant le site du premier passage hépatique, le foie est particulièrement vulnérable aux nanoparticules. Il a été prouvé que c'est l'endroit d'accumulation de substances administrées, même très longtemps après l'arrêt du traitement. Par conséquent, l'évaluation de la toxicité hépatocellulaire est très importante.

- *Les nanoparticules en or :* Des études *in vivo* sur des souris ont démontré une cytotoxicité taille-dépendante pour des nanoparticules en or de taille entre 8 et 37nm. Des effets systémiques sévères ont été observés, tels que fatigue, pas d'appétit, perte de poids, et changement de la couleur des souris. La mortalité était quasiment de 100%.
  Il est estimé que la toxicité est le résultat des changements inflammatoires aigus et une apoptose consécutive. De plus, cette toxicité varie aussi avec la voie d'administration, une injection péritonéale étant beaucoup plus toxique pour le foie qu'une injection intraveineuse normale.
- *Les nanoparticules en argent :* Plusieurs études ont prouvé que ces nanoparticules ont tendance à s'accumuler dans le foie et à induire une augmentation du stress oxydatif. Le degré de la toxicité dépend de la concentration des particules, de leur taille, de leur forme, ainsi que de leur capacité à épuiser le stock d'antioxydants de la cellule.
- *Les nanoparticules en silice :* même si elles sont très utilisées dans le domaine biomédical, peu de données existent concernant leur toxicité hépatocellulaire, et les études disponibles sont contradictoires. D'après certaines études, des nanoparticules de plus grande taille peuvent induire une nécrose des cellules hépatiques, alors que les nanoparticules de taille inférieure à 25nm ne sont pas toxiques. Contrairement à ces études, d'autres essais indiquent que ce sont les particules plus petites qui présentent une toxicité plus importante.
  Plus d'études doivent être réalisées pour pouvoir conclure sur la toxicité des nanoparticules en silice, notamment sur l'importance de leur taille, de l'enrobage (ou non) de la particule, ainsi que de la voie d'administration.
- *Les « quantum dots » :* Leur structure générale comprend un noyau inorganique, et une couche externe organique.
  Les études réalisées sur ce type de nanoparticules indiquent que leur toxicité est due à la libération du métal présent dans le noyau de la cellule, qui va ensuite s'accumuler au niveau du foie. Le métal peut ensuite rester accumulé pendant très longtemps, ce qui est dangereux pour le foie, qui a une affinité pour les intoxications aux métaux. La taille des nanoparticules va aussi jouer un rôle, les quantum dots de plus petite taille étant les plus toxiques.

4.4. LE CERVEAU

Le cerveau, à la différence du foie, a une capacité de régénération très limitée, ce qui nécessite une protection particulière vis-à-vis de tout type d'influence exogène. Cette protection est faite par la barrière hémato-encéphalique (BHE). Néanmoins, dans le cas de certaines pathologies, telles que les tumeurs cérébrales ou la maladie de Parkinson, il faut trouver des moyens de traverser cette barrière pour que le médicament puisse atteindre sa cible. Ainsi, il est nécessaire de prouver que les nanoparticules qui vont agir au niveau du cerveau ne vont pas être toxiques pour le système nerveux central (SNC).

- *Les nanoparticules en or :* Elles sont intéressantes pour le domaine de l'imagerie médicale du SNC. De nombreuses études in vitro et in vivo ont été réalisées pour déterminer la toxicité de ces nanoparticules pour les cellules du SNC. Les résultats obtenus indiquent qu'elles peuvent induire une réponse inflammatoire lorsqu'elles sont de très petite taille (3nm), mais ceci n'a pas été observé pour les nanoparticules plus grandes.
- *Les nanoparticules en argent :* Au contraire des nanoparticules en or, il a été prouvé que les nanoparticules en argent ont des propriétés neurodégénératives. D'après les études actuellement disponibles, ces nanoparticules peuvent provoquer la destruction de la BHE, un gonflement des astrocytes et la dégénération neuronale chez le rat. La distribution et la toxicité au niveau du cerveau sont dépendantes du temps et de la concentration.
  Ce risque de destruction des cellules neuronales par les nanoparticules en argent doit encore être investigué, surtout par rapport à l'influence de la taille des particules sur la toxicité. Néanmoins, on peut déjà conclure que la toxicité cérébrale doit impérativement être évaluée lorsque ce type de nanoparticules est utilisé pour un médicament qui va atteindre la circulation générale.
- *Les nanoparticules supraparamagnétiques :* Les SPIONs et les USPIONs sont actuellement très étudiées pour différentes applications thérapeutiques et diagnostiques. Néanmoins, elles peuvent potentiellement induire une cytotoxicité et influencer les fonctions et les composants normaux de la cellule.
  Des études in vitro ont prouvé que les SPIONs peuvent induire la génération des radicaux libres et bloquer les fonctions mitochondriales, ce qui peut être neurotoxique ou aggraver un problème neurologique déjà existant.
  De plus, il existe une association entre le type d'enrobage de la SPION et la cytotoxicité. Il a été démontré que la toxicité peut être contrôlée en modifiant la couche externe de la SPION, ce qui est assez intéressant pour l'utilisation de ce type de nanoparticules.
- *Les « quantum dots » :* Dans le domaine neurologique, ces nanoparticules peuvent être utilisées en tant qu'outils thérapeutiques ou diagnostiques. Il y a peu d'études toxicologiques disponibles actuellement, mais celles qui ont déjà été réalisées (chez la souris) n'ont pas démontré de signes d'inflammation, ni de dégénération neuronale. Evidemment, plus d'études sont nécessaires pour pouvoir conclure sur la toxicité, mais ces premiers résultats indiquent que ce type de nanoparticules présente un certain potentiel d'utilisation pour les médicaments du SNC.

Pour conclure, les mêmes propriétés qui font que les nanoparticules sont des formes pharmaceutiques intéressantes, leur confèrent aussi des profils toxicologiques différents de ceux des formes de plus grande taille. De nombreuses études ont déjà été réalisées, mais elles sont encore insuffisantes pour appréhender l'impact de la taille, de la composition, ainsi que de la voie d'administration sur la toxicité des nanoparticules.[20]

III. LA FABRICATION DES NANOPARTICULES DANS L'INDUSTRIE PHARMACEUTIQUE

Comme vu précédemment, les applications actuelles et potentielles des nanoparticules pharmaceutiques sont en pleine expansion et couvrent une large gamme de médicaments. C'est pourquoi, il est très important d'avoir des méthodes de production à grande échelle.

Ces dernières années, beaucoup de recherches scientifiques ont été réalisées dans le cadre du développement de méthodes de production de nanoparticules. Ces méthodes peuvent être classées dans 2 grandes catégories :

- *Les technologies « top-down »,* (« du haut vers le bas ») dans lesquelles la fabrication commence avec des particules de grande taille, qui sont ensuite traitées de différentes manières, souvent mécaniques, pour arriver jusqu'à l'échelle nano. Ceci peut être réalisé par broyage des particules ou par homogénéisation à haute pression ;
- *Les technologies « bottom-up »,* (« du bas vers le haut ») où les nanoparticules sont générées par agrégation à partir d'une dispersion moléculaire.

Les deux méthodes ont leurs avantages et inconvénients. En général, les technologies « top-down » permettent d'obtenir des particules cristallines (plus stables), mais nécessitent beaucoup d'énergie ou de pression pour arriver jusqu'à l'échelle nano. Au contraire, les procédés « bottom-up » demandent beaucoup moins d'énergie, mais les particules obtenues peuvent être cristallines ou amorphes. De plus, même si elles sont cristallines, il faut pouvoir contrôler la croissance des cristaux pendant la fabrication pour limiter la taille de la particule à l'échelle nano. [21]

Par la suite, nous allons voir en détail les différentes méthodes de production de nanoparticules qui sont utilisées aujourd'hui, avec l'intérêt de chacune, ainsi que ses avantages et inconvénients.

1. LES TECHNOLOGIES « TOP-DOWN »

1.1. METHODES PAR BROYAGE

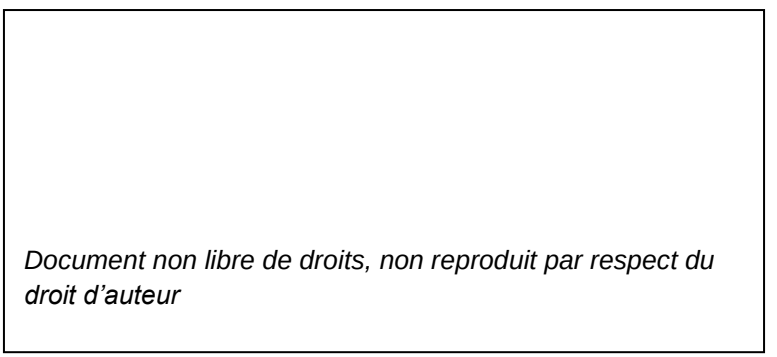
Le broyage permet de réduire la taille des particules sous l'effet d'une force mécanique. La méthode la plus connue et la plus utilisée pour réduire la taille des particules, le broyage peut permettre de produire des nanoparticules, mais cette–technologie a une limite au-delà de laquelle on ne peut plus diminuer la taille des particules, et ce quel que soit l'énergie apportée au système.

Dans le domaine pharmaceutique différents broyeurs peuvent être utilisés. Néanmoins, les broyeurs comme le broyeur à mortier ou le broyeur à couteaux, qui sont des broyeurs grossiers, ne sont pas adaptés pour la production des très petites particules. Le type de broyeur le plus utilisé, dans ce but, est le broyeur à billes ou boulets, et le plus souvent en milieu liquide. (Même s'ils existe des exemples avec des poudres sèches). [22], [23])

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

1. Au début, les particules sont aplaties à cause des forces de compression dues à la collision des billes ;
2. Ensuite, des changements significatifs sont observés : la taille et la forme des particules sont modifiées par des fracturations et soudages à froid, qui sont prédominants dans cette étape du procédé ;
3. Le mélange devient homogène, et les particules ont une taille très réduite ;
4. La limite du broyage est atteinte. Une fois arrivé à cette étape, la taille des particules ne change plus, même si on apporte de l'énergie ou si on prolonge la durée du mélange. [24]

Figure 10: Représentation du broyage dans un broyeur à billes



Comme on peut voir, la production de particules est influencée par le fractionnement et les interactions interparticulaires pendant le broyage. Ces interactions sont d'autant plus importantes que les particules sont inférieures à 1µm, en raison du nombre élevé de collisions des particules dues à leurs mouvements Browniens, et des faibles distances interparticulaires. Par conséquent, il est important de stabiliser les particules dans la suspension pour éviter leur agglomération et pouvoir avancer dans le broyage.

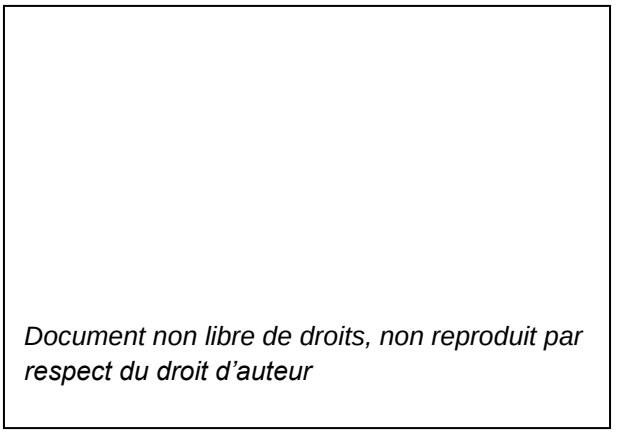
En plus des fractionnements et de la stabilité de la suspension, la qualité du broyage dépend aussi de la rhéologie de la suspension. Dans les suspensions visqueuses (avec concentration importante des particules à broyer et/ou attractions interparticulaires importantes) la vitesse du broyage est très réduite, ce qui résulte en une efficacité du broyage réduite. Si la viscosité devient trop importante, la réduction de la taille des particules n'est plus possible.

La limite du broyage est aussi influencée par les forces interparticulaires attirantes, qui dans le cas des nanoparticules peuvent impacter la rhéologie de la suspension. En général, on ne peut pas descendre à moins de 10 nm. [25]

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

- La méthode est bien connue et simple à utiliser ;
- On peut préparer des nanosuspensions de médicaments qui ont une mauvaise solubilité dans l'eau et dans des solvants organiques ;
- La concentration en nanoparticules dans la suspension finale peut être très variée ;
- La méthode peut être utilisée en milieu industriel [26]

Figure 11: Broyeur à billes industriel

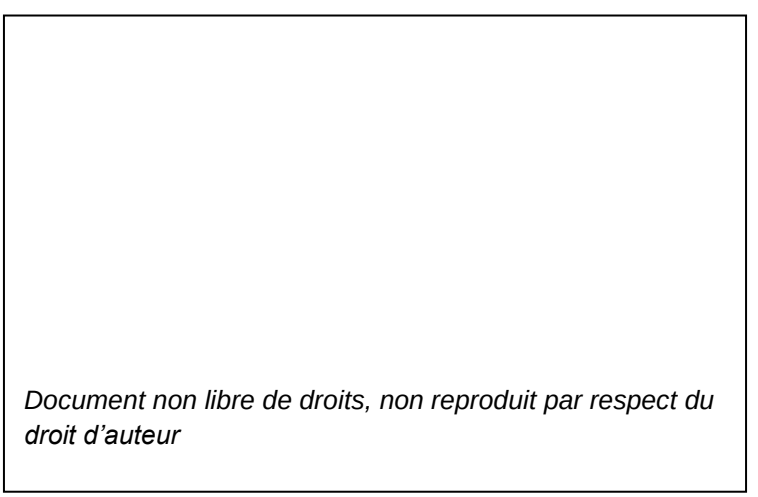


Par contre, pour tout matériel nanocristallin préparé dans un broyeur à billes la contamination à la surface et à l'interface des particules est un risque majeur. En particulier, la contamination due aux billes peut être une source de problèmes. Par conséquent, il est important d'utiliser des billes dont la surface est couverte d'une couche protectrice. [24] De plus, on peut avoir des problèmes d'adhérence des particules sur les parois du mélangeur, résultant en un mélange de mauvaise qualité.

1.2. METHODES PAR HOMOGENEISATION A HAUTE PRESSION

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

Figure 12: Schéma d'un homogénéisateur à haute pression [27]



L'origine de ce cisaillement est la restriction du flux sous haute pression à travers la vanne restrictive.

La pression appliquée va provoquer une augmentation de la température due à la chaleur de la compression. Cette température va aussi être augmentée en raison du cisaillement, et de la conversion partielle de l'énergie mécanique en chaleur. On peut observer des

montées en température de 17-21°C par 100 MPa qui devront être prises en considération notamment avec des substances actives sensibles à la chaleur. [28]

La fabrication des nanoparticules par homogénéisation est intéressante parce qu'elle offre la possibilité de produire en mode continu, donc on peut travailler avec des quantités importantes. Actuellement, l'homogénéisation peut être réalisée selon 2 principes : La microfluidisation et la « piston-gap » homogénéisation. Ces techniques seront détaillées par la suite.

A) MICROFLUIDISATION

La microfluidisation est une méthode qui utilise un jet de liquide. La suspension accélérée passe à grande vitesse à travers une chambre d'homogénéisation spécialement adaptée au procédé. On peut avoir soit

- des chambres de type Z, où la suspension change plusieurs fois de direction, ce qui amène à la collision des particules soumises à des forces de cisaillement ;
- des chambres de type Y, où la suspension est séparée en 2 flux qui vont entrer en collision à la fin.

Figure 13: Chambres de microfluidisation

Document non libre de droits, non reproduit par respect du droit d'auteur

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

- La pression appliquée, ainsi que le nombre de passages à travers la chambre : plus la pression est importante, plus les particules sont petites, jusqu'à un certain plateau (comme dans le cas du broyage). La même proportionnalité s'applique au nombre de passages, par contre plus le nombre de passage est important, plus la distribution de taille est étroite.
- Les tensioactifs utilisés et leur concentration peuvent aussi avoir une grande influence sur la taille des gouttelettes d'une émulsion. En général, les tensioactifs qui sont des petites molécules, comme les polysorbates (Tween), vont permettre de fabriquer des gouttelettes plus petites. En outre, plus la concentration en tensioactif est importante, plus les gouttelettes seront petites. Par contre, lors de l'utilisation de tensioactifs comme la β-lactoglobuline, grosse molécule protéique, la taille des gouttelettes augmente avec la concentration en tensioactifs. L'explication la plus probable

semble être que ceci est dû à la dénaturation de la β-lactoglobuline pendant le procédé. (Dans les cas des nanosuspensions, les tensioactifs sont moins importants pour la taille des particules. Ils sont nécessaires pour stabiliser la suspension, mais ils n'ont pas d'impact sur la taille)

- La viscosité va aussi impacter la taille des gouttelettes. En général, plus une suspension ou une émulsion est visqueuse, plus les particules obtenues vont être grandes. Cependant, ceci peut être contrôlé jusqu'à un certain point en utilisant des surfactants. (Le choix du surfactant sera fonction de la suspension/émulsion elle-même.)[29]

L'inconvénient majeur de la microfluidisation est que, dans certains cas, le procédé est très long, avec de nombreux passages à travers la chambre. De plus, la distribution de taille est souvent large, avec parfois même des microparticules dans la suspension finale.[30] En outre, si la pression, ou si le nombre de passage de la suspension dans la chambre est trop important on risque d'induire une coalescence entre les nanoparticules, ce qui entraine agglomérats de grande taille. Par conséquent, les paramètres du procédé doivent être bien connus pour chaque produit à fabriquer.[31]

B) PISTON-GAP HOMOGENEISATION

La « piston-gap » homogénéisation est une méthode qui a été mise en place en tant qu'alternative à la microfluidisation dans les années 90. Le principe de base est de faire rentrer la suspension tout d'abord dans un cylindre de diamètre relativement large, qui se rétrécit à la fin. La suspension passe ensuite à travers cette petite ouverture, ou « gap » à haute vitesse, pour ressortir à l'autre extrémité dans un autre cylindre large.

Figure 14: Schéma d'un homogénéisateur "piston-gap"

Document non libre de droits, non reproduit par respect du droit d'auteur

D'après la loi de Bernoulli, le débit d'un liquide dans un système clos par section reste constant. Par conséquent, la diminution du diamètre du cylindre induit une hausse de la pression dynamique importante, et en même temps, une baisse de la pression statique quand le liquide est dans le gap. Ici, la pression statique du liquide est plus basse que sa pression statique à l'air libre. Ceci fait que le liquide commence à bouillir, formant ainsi des bulles d'air qui implosent quand elles sortent du gap et reviennent dans les conditions de pression normales.

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

- La pression de l'homogénéisateur : Comme avec le broyage, plus on amène d'énergie au système, plus les particules seront petites, avec toujours une limite au-delà de laquelle la taille ne diminue plus. Les pressions utilisées sont souvent supérieures à 500 MPa.
- Le nombre de cycles de passage dans l'appareil : comme pour la microfluidisation, plus le produit passe dans le gap, plus la taille diminue, et plus la distribution de taille est étroite.
- La substance active elle-même : Certaines substances sont plus rigides que d'autres, donc il peut être plus difficile de diminuer la taille de leurs particules.

2. LES TECHNOLOGIES « BOTTOM-UP »

Ces technologies sont beaucoup plus récentes que les technologies « top-down ». Le principe de base de toutes ces méthodes est de partir de la substance à l'état moléculaire et d'induire sa croissance jusqu'à l'échelle nano, sans que la particule ainsi formée grandisse trop. Donc, une maîtrise du contrôle de la croissance est indispensable dans ces procédés.

Même si les technologies « bottom-up » sont plus avancées et montrent beaucoup de potentiel dans la production des nanoparticules, la majorité ne sont toujours pas utilisées à l'échelle industrielle.

2.1. METHODES PAR PRECIPITATION

La précipitation consiste en plusieurs étapes : une première réaction chimique, (avec une supersaturation subséquente (quand la solution contient plus de soluté qu'elle ne peut en dissoudre)[32]), une nucléation (la formation d'une nouvelle structure par auto-assemblage [33]), une diffusion du soluté et finalement une croissance de la particule.

Des particules à la taille de nanomètres peuvent être obtenues en micro-mélangeant (i.e. en réalisant une mélange très fine) les réactifs rapidement pour augmenter la nucléation, et en même temps, en supressant la croissance de la particule.

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

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

mélange, la nucléation est presque uniforme dans l'espace, et donc la distribution de la taille des particules est contrôlée.

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

A) PRECIPITATION CONTRE-SOLVANT

Cette méthode de fabrication de nanoparticules par précipitation contre-solvant permet d'obtenir des hydrosols pharmaceutiques en utilisant des appareils très simples. (Les hydrosols sont des nanosuspensions aqueuses de principes actifs peu solubles dans l'eau.)

Un mélange réalisé dans un bécher de laboratoire en utilisant un agitateur magnétique est suffisant pour obtenir des nanoparticules si les matières premières et les conditions expérimentales sont optimales. Ceci est assez pratique pour la fabrication des nanoparticules à l'échelle laboratoire. Par contre, pour produire des nanoparticules en grandes quantités (à l'échelle industrielle), il est nécessaire d'utiliser des équipements plus complexes et plus facilement contrôlables.

De plus, les nanoparticules obtenues par cette méthode sont majoritairement amorphes. [34]

- *Les hydrosols à excipients macromoléculaires*

La production des nanoparticules en hydrosol utilisant comme excipient des macromolécules (ex. gélatine, albumine, collagène ou cellulose) consiste en 3 grandes étapes :

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

Le principe actif doit se lier aux nanoparticules physiquement ou chimiquement et ne pas précipiter en tant que particules individuelles.

Les médicaments qui peuvent être mis sous forme de nanoparticules en hydrosol incluent des corticostéroïdes, des hormones, le phénobarbital et d'autres molécules hydrophobes. Pour faciliter la dissolution ou pour stabiliser la solution, des tensioactifs peuvent être rajoutés au mélange.

- *Les hydrosols à nanoparticules en substance active pure*

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

Egalement, des antiagrégants et des stabilisants peuvent être rajoutés à la phase aqueuse. Un résultat intéressant a été obtenu lorsque l'on utilise un stabilisant électrostatique, tel que la lécithine. Ses molécules vont être adsorbées à la surface de la nanoparticule et elles vont lui conférer un potentiel zeta, (potentiel électrostatique), qui va empêcher l'agglomération.

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

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

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

Les molécules qui pourraient être mis sous forme d'hydrosol selon cette méthode sont la cyclosporine A et les dihydropyridines.

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

Exemple : La taille moyenne des nanoparticules d'itraconazole était de 30µm. (Les particules étaient obtenues par précipitation lors du mélange d'itraconazole dissout dans de l'acétone avec de l'eau).Par contre, les nanoparticules obtenues par le même procédé, mais en rajoutant du hydroxylpropylmethyl cellulose dans la phase aqueuse étaient de 600nm.

Les agents stabilisants couvrent la surface de la molécule et empêchent sa croissance. Par conséquent, ils doivent pouvoir interagir avec la surface de la nanoparticule. Cela a été observé avec la mauvaise performance des polymères relativement polaires, tels que le dextrane et l'hydroxyéthyl amidon, pour la stabilisation des nanoparticules de médicaments hydrophobes. D'un autre côté, des agents stabilisants ont montré un effet bien meilleur dans le même procédé.[21]

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

La composante clé de cette méthode est le garnissage rotatif qui contient du métal ou du plastique sous forme d'garnissage.

Figure 15: Système de garnissage rotatif [21]

Document non libre de droits, non reproduit par respect du droit d'auteur

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

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

La faisabilité de la méthode à gravité élevée pour produire de nanoparticules a été étudiée, avec l'acide benzoïque comme modèle en utilisant le mode réactif. Le but des études était d'évaluer l'influence de différents facteurs sur la taille des nanoparticules obtenues. Les paramètres pris en compte étaient : la vitesse de rotation, la concentration et le débit des réactifs (sodium benzoate et HCl). Ces études ont montré que les nanoparticules diminuaient de taille avec l'augmentation de chacun des facteurs cités :

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

- En augmentant la concentration, le même effet est observé. La supersaturation augmente, ce qui donne des nanoparticules de petite taille.

De plus, le micro-mélange intense dans le garnissage rotatif permet d'obtenir des particules ultrafines (jusqu'à une taille de 10nm) en augmentant la nucléation et en même temps en empêchant la croissance trop importante des particules. [35]

C) NANOPRECIPITATION « FLASH »

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

La formation initiale des nanoparticules est limitée par le mélange, plus précisément par le temps de mélange. Dans la nanoprécipitation « flash », on vise à homogénéiser le mélange en quelques millisecondes. Un temps de mélange court permet que la précipitation des particules commence uniformément. De ce fait, les propriétés des nanoparticules dépendent des cinétiques compétitives de l'agrégation du polymère et de la nucléation de la substance active. De plus, plus l'agrégation du polymère avance, plus le procédé est ralenti, ce qui stabilise la nanoparticule et arrête sa croissance. [36], [37]

1) JETS D'IMPACT DE LIQUIDES CONFINES

La précipitation « flash » qui utilise ce type de technologies permet d'obtenir des particules de taille micro et nano. La nanoprécipitation se passe dans une région de turbulence extrême et de mélange intense créés par un jet de solution de principe actif qui va rentrer en collision avec un jet de contre-solvant. Les deux jets viennent de directions opposées et entrent dans une petite chambre, ce qui nécessite un contrôle très précis de la vitesse pour éviter un flux et un mélange non équilibrés. [21]

Figure 16: Schéma de jets d'impact de liquides confines [38]

Lorsque les deux jets de liquides se mélangent, le contre solvant va induire la précipitation du médicament sous forme de fines gouttelettes. La taille des particules est inversement proportionnelle à la vitesse du jet de liquide et à la concentration du principe actif. La

proportion en volume de la solution du principe actif et du contre-solvant peut aussi impacter le procédé de précipitation. [36]

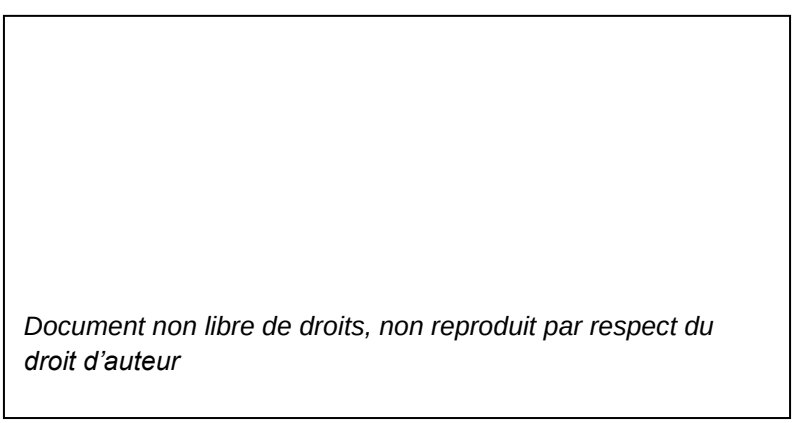
Le mélangeur à jets d'impact de liquides (cf. Figure 16) permet d'intensifier le transfert de masse et de chaleur dans le système multiphasique. Pendant le procédé, les fluides des jets sont séparés en filaments et fils très fins grâce au cisaillement créé par la vitesse du jet. Ceci permet d'obtenir un micro-mélange intense entre les éléments liquides.

Des essais de production de ce type de nanoparticules ont été réalisés sur des molécules hydrophiles et hydrophobes. Il a été déterminé que la méthode de précipitation avec jets d'impact de liquides confinés peut être utilisée pour la production des nanoparticules pour les deux types de substances. Le facteur principal qui va déterminer si cette méthode convient à la molécule est le temps de formation de la particule dans l'environnement en question, dépendant de la molécule elle-même. Pour être dans les conditions optimales, ce temps de formation doit être plus long que le temps de mélange, mais plus court que le temps de séjour dans l'appareil. Ceci veut dire que les nanoparticules doivent être formées avant de sortir de la chambre dans laquelle l'impact se passe. Si cela est le cas, les distributions de la taille des particules sont étroites (avec ou sans utilisation de surfactant). [38]

2) MELANGEUR EN VORTEX A MULTI-ENTREES

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

Figure 17: Mélangeur en vortex à multi-entrées [21]



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

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

la supersaturation et la nucléation sont importantes, plus des nucléi sont générés et plus la taille des particules est petite. [36]

La méthode de nanoprécipitation en vortex à multi-entrées montre beaucoup de potentiel pour la fabrication de nanoparticules et nanocapsules pour un grand nombre de médicaments différents. De plus, c'est une méthode envisageable à l'échelle industrielle pour des productions commerciales.

D) FLUIDES SUPERCRITIQUES

Toute substance amenée à une température et une pression supérieures à son point critique, où les phases liquide et gazeuse proprement dites ne sont plus distinguées est considérée comme un fluide supercritique. Par conséquent, la substance va avoir des propriétés physiques intermédiaires des deux phases.[39]

Comparée avec les autres technologies de précipitation, l'avantage de la précipitation utilisant des fluides supercritiques est qu'elle a le potentiel d'éliminer rapidement le fluide supercritique et le solvant sans passer par une étape de séchage excessif. Les effets adverses des solvants résiduels sur les procédés, la santé et l'environnement sont bien connus aujourd'hui. Par conséquent, le bénéfice d'utiliser les FSC est évident pour les industries concernées par la production des nanoparticules par précipitation.

La méthode des FSC permet la croissance contrôlée des particules jusqu'à la taille souhaitée. Une fois formées, les particules ne vont plus avoir besoin de traitements supplémentaires. [40]

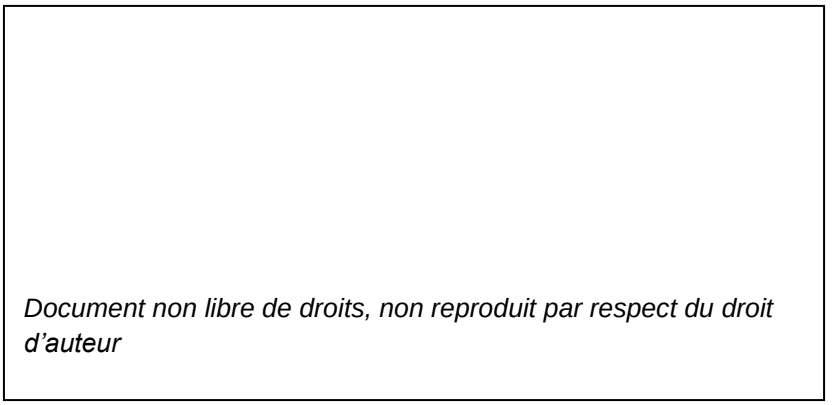
Le fluide supercritique le plus utilisé dans le cadre de cette méthode est le CO_2 supercritique, ou $scCO_2$ (T° = 31,1°C et pression = 72,9atm), qui a été considéré comme étant adapté pour l'usage pharmaceutique. (D'autres solvants organiques peuvent être utilisés, comme le propane, l'éthanol, l'acétone etc.)

Il existe différentes variantes de la technologie des SFC, dont on peut citer :

- *Expansion rapide des solutions supercritiques (RESS)*

RESS (Rapid Expansion of Supercritical Solutions) est une méthode qui consiste à saturer le fluide supercritique avec un principe actif solide ; ensuite, la solution est dépressurisée suite au passage au travers d'une conduite chauffée dans une chambre à pression basse. Ceci induit la nucléation de la substance active sous forme de particules très fines qui vont être extraites du flux du gaz. Le procédé est aussi appelé nucléation du fluide supercritique.

Figure 18: Expansion rapide des solutions supercritiques



En termes simples, lorsque le solide est précipité par la chute en pression brusque, il va tomber comme de la neige dans le gaz, ou comme du givre sur le verre. La morphologie des particules obtenues, cristallines ou amorphes, dépend aussi bien des caractéristiques physico-chimiques de la substance, que des paramètres du RESS (tels que la température, la chute de pression, la distance du spray de la surface, etc.)

La RESS peut être mis en place dans des équipements relativement simples, même si l'extraction des particules du flux de gaz n'est pas toujours facile à réaliser. Cependant, la simplicité des équipements est uniquement valable pour la production de petites quantités. Pour une production à l'échelle industrielle, l'extrapolation des résultats indique qu'il va falloir utiliser soit un système à plusieurs conduites, soit utiliser un disque poreux pour la sortie du jet.

Les plus grands inconvénients de la RESS sont la faible solubilité des composants dans les fluides supercritiques, ainsi que la difficulté de contrôle sur la taille des nanoparticules fabriquées.

Néanmoins, la technologie est utilisée pour la production commerciale de certains produits pharmaceutiques, par exemple des médicaments contenant l'aspirine, la caféine, la nifédipine, l'ibuprofène et beaucoup d'autres.[40]

- *Contre-solvant supercritique*

GAS/SAS (Gas Anti-Solvent/Supercritical Anti-Solvent) est une méthode qui a été développée pour réaliser la fabrication des nanoparticules en matériaux qui ne pouvaient pas être produites selon la méthode RESS à cause de la mauvaise solubilité des molécules dans le fluide supercritique.

Le principe de base de la méthode consiste à baisser le pouvoir de solubilisation du solvant polaire liquide dans lequel la substance active est dissoute en saturant le solvant avec du $scCO_2$, ce qui va faire précipiter la substance active. [41]

Dans cette situation, le fluide supercritique est soluble dans le solvant, mais la substance active n'est pas soluble dans le FSC. Par conséquent, le mélange du fluide supercritique avec le solvant va former une solution, et la supersaturation dans cette solution va faire précipiter la substance active.

Figure 19: Contre-solvant supercritique

Document non libre de droits, non reproduit par respect du droit d'auteur

Cette méthode peut être utilisée en mode discontinu, et on parle alors de GAS (Contre-solvant gazeux), ou en mode semi-continu, c'est-à-dire SAS (Contre-Solvant Supercritique).

Dans le mode discontinu, la cuve de précipitation est remplie avec une certaine quantité de la solution liquide et ensuite le FSC est rajouté jusqu'à obtention de la pression finale. Dans le mode semi-continu, la solution liquide et le FSC sont apportés en continu à la cuve de précipitation (en co-courant ou contre-courant).

Il y a plusieurs avantages et inconvénients à la méthode de contre-solvant supercritique : D'un côté, elle permet la fabrication de nanoparticules des substances actives insolubles dans des FSC dans les conditions normales. De plus, les nanoparticules peuvent être séchées rapidement en utilisant du $scCO_2$, permettant ainsi d'enlever les solvants résiduels, ce qui est assez intéressant pour des produits destinés à un usage pharmaceutique. Par contre, un inconvénient majeur est le contrôle de la taille des particules, qui n'est toujours pas maitrisé. En outre, le mélange entre le solvant et le FSC peut ne pas être uniforme et la durée du procédé est assez longue.[21]

Les procédés utilisant des contre-solvants supercritiques n'ont toujours pas été appliqués à l'échelle industrielle pour la production des nanoparticules inorganiques, mais par contre ils montrent beaucoup de potentiel pour les substances actives organiques et issues des biotechnologies. [40]

- *Autres variantes des technologies FSC*

D'autres variantes de la technologie de précipitation par fluides supercritiques existent, mais elles sont beaucoup moins utilisées. On peut citer :

- *Système d'extraction du solvant par aérosol* (ASES : Aerosol Solvent Extraction System) : ce procédé comprend une solution de la substance active dans un solvant organique qui est pulvérisée dans une cuve contenant le fluide supercritique ;
- *Dispersion des fluides supercritiques renforcée* (SEDS : Solution Enhanced Dispersion by Supercritical fluids) : Elle consiste en une co-pulvérisation de la solution de substance active, dissoute dans de l'eau, et le FSC, dissout dans un solvant organique, à travers des sprays différents ;
- *Particules des solutions saturées en gaz* (PGSS : Particles from Gas-Saturated Solutions) : Le procédé comprend la dissolution d'un fluide supercritique dans une substance active liquide, ou dans une solution ou suspension de la substance active, suivie par une dépressurisation du mélange à travers une conduite à la

sortie de laquelle des nanoparticules liquides ou solides sont formées, en fonction du système.[41]

E) SONOPRECIPITATION

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

Les ondes ultrasoniques provoquent :

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

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

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

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

Parmi les conditions opérationnelles pouvant influencer le procédé de précipitation, les plus importantes sont :

- La fréquence, intensité et puissance des ultrasons ;
- La taille de la sonde et son niveau d'immersion ;
- Le volume à précipiter ;
- La durée

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

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

Finalement, il n'y a pas beaucoup d'essais qui ont été réalisés jusqu'à présent dans le domaine de la nanoprécipitation par ultrasons, il s'agit donc encore d'une méthode plutôt expérimentale.[21]

2.2. METHODES PAR EVAPORATION

Lorsqu'une dispersion moléculaire liquide de concentration C est atomisée en gouttelettes de diamètre D, le diamètre d des nanoparticules à densité ρ obtenues après évaporation est calculé selon la formule : $\mathbf{d = D\,[C/\rho]^{1/3}}$

La densité de la particule n'atteindra peut-être pas la vraie densité de la molécule. Elle dépendra de la façon dont les molécules dispersées vont précipiter, ou plus précisément, de la façon dont l'intérieur de la gouttelette va se réarranger pour former la particule résultante.

A) SPRAY DRYING

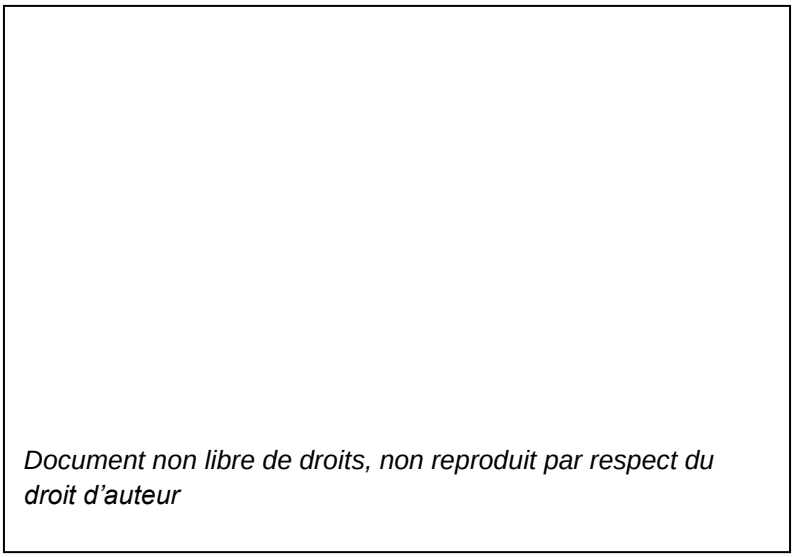
Le spray drying, ou séchage par nébulisation, permet d'atomiser une solution d'un médicament en fines gouttelettes dans un courant d'air chaud dans le but d'obtenir des particules solides.

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

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

Le schéma de l'appareil Büchi est détaillé dans la Figure 20. Le gaz de séchage entre par le haut, où il est réchauffé (environ 100°C), ensuite il passe à travers la chambre de séchage pour sortir au fond, où il est filtré avant de sortir de l'appareil. La solution à nébuliser arrive à la tête du spray par une pompe.

Figure 20: Büchi Nano Spray Dryer [42]



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

Ce type d'appareil permet la fabrication de :

- *Nanoémulsions encapsulées :*

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

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

- *Nanocristaux :*

Les poudres obtenues à la fin du séchage, à partir des médicaments hydrophiles et hydrophobes, étaient composées de fins nanocristaux, avec une taille uniforme et sous forme sphérique. Il a été démontré que la cristallisation de la substance active est contrôlée par l'évaporation des gouttelettes, c'est-à-dire, le cristal final obtenu dépend de la taille de la gouttelette initiale. [43]

- *Nanoparticules solides lipidiques :*

En général, les nanoparticules solides lipidiques sont préparées par homogénéisation à haute pression (cf. chapitre 1.2.). Le problème que l'on peut rencontrer avec le spray-drying est le risque que le lipide fonde pendant le séchage. Par contre, il a été démontré que l'humidité due à l'évaporation de l'eau pendant le séchage forme une couche autour des gouttelettes lipidiques, qui absorbe la majorité de la chaleur du gaz. Ceci protège les matériaux sensibles à la chaleur de la fusion et/ou dégradation pendant le procédé.

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

Comme dans le cas des nanoémulsions, l'introduction de ces particules solides lipidiques dans de l'eau permettait d'obtenir la dispersion initiale. [44]

Le fait de pouvoir reconstituer une solution à partir des nanoparticules ou nanocapsules est très important d'un point de vue de la stabilité du produit. Une poudre sèche est beaucoup plus stable et aura une durée de vie plus longue qu'une forme liquide.

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

B) REACTEUR DE FLUX D'AEROSOLS

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

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

Cette méthode permet la production de nanoparticules avec une distribution de taille étroite. De plus, les particules obtenues sont sphériques, et elles ont une surface bien lisse. Par contre, en augmentant trop la température du réacteur, on peut observer la formation de particules creuses, avec un diamètre plus grand. Ceci est dû au fait qu'une évaporation trop rapide du solvant peut induire la formation d'une couche solide à la surface de la particule, ce qui piège le solvant à l'intérieur de la particule. L'évaporation de ce solvant va amener à la formation de particules creuses. [45]

C) ELECTROSPRAYING

L'électrospraying, ou nébulisation électrohydrodynamique, est le procédé de génération et chargement simultanés de gouttelettes sous l'influence d'un champ électrique. Dans ce procédé, un liquide qui sort d'un nébuliseur est soumis à un champ électrique, ce qui induit une élongation du ménisque pour acquérir une forme de fuseau. Ce fuseau est ensuite déformé et cassé en gouttelettes grâce aux forces électriques.

Dans l'électrospraying, aucune autre énergie mécanique n'est nécessaire pour atomiser le liquide. La technique permet d'obtenir des nanoparticules de très petite taille. La charge et la taille des gouttelettes peuvent être facilement contrôlées en réglant le débit du liquide et le voltage du champ électrique. [46]

Un grand nombre de molécules peuvent être mises sous forme de nanoparticules grâce à cette méthode. L'électrospraying n'est pas seulement adapté à la production de nanoparticules de polymères synthétiques, mais aussi de polymères naturels, tels que des protéines ou hydrocarbures. De plus, les nanoparticules obtenues sont stables et les substances actives ne perdent pas leur bioactivité initiale.

S'agissant d'une méthode à fort potentiel dans le domaine des nanotechnologies, beaucoup d'études ont été réalisées sur des nanoparticules médicamenteuses produites par électrospraying. On peut citer : des nanofibres en chitosan, portant de la doxorubicine ; des nanoparticules en argent et silice (pour utilisation en tant que agent microbien) ; des nanocristaux de carbamazépine (qui avaient une meilleure solubilité dans l'eau que la molécule toute seule) ; et même des nanoparticules portant des cellules humaines – intéressant dans le domaine de la reconstruction tissulaire.

Les avantages de l'utilisation de la technique d'électrospraying pour la production des nanoparticules sont nombreux :

- Les tailles des particules obtenues sont très petites et uniformes (distribution de taille étroite)
- Les paramètres du procédé sont faciles à contrôler ;
- La production consiste en une étape ;
- La méthode peut être transposée à l'échelle industrielle.

L'inconvénient de l'électrospraying est le risque de dégradation de la molécule que l'on pulvérise, à cause de la chaleur utilisée pendant le séchage, et du cisaillement au niveau du spray. [47]

2.3. LA POLYMERISATION

Les nanoparticules peuvent aussi être préparées par polymérisation des monomères. (La polymérisation est une réaction chimique dans laquelle 2 ou plusieurs monomères se lient pour former des molécules de grande taille à motifs répétitifs – les polymères).[48]

Il s'agit d'un procédé qui consiste en l'addition d'un monomère dans une solution contenant un tensioactif sous agitation vigoureuse, ce qui induit la polymérisation. La substance active peut être introduite dans le mélange soit avant, soit après la réaction de polymérisation. La

suspension de nanoparticules ainsi formées est ensuite purifiée, soit par centrifugation, soit par re-suspension dans un milieu isotonique sans tensioactifs.

La polymérisation suit un mécanisme anionique, en raison de la présence des initiateurs nucléophiles tels que OH^-, $CH3O^-$ and $CH3COO^-$. Il y a formation de nanoparticules de faible masse moléculaire, en raison de la polymérisation trop rapide. Ces nanoparticules ne sont pas stables et vont se dégrader rapidement. Pour empêcher que cela se passe, la réaction doit se dérouler dans un milieu acide, en présence de tensioactifs et de stabilisants.

La taille et la masse moléculaire des nanoparticules dépendent :

- Des types de tensioactifs et stabilisants utilisés : Parmi les tensioactifs, on peut citer les polysorbates -20, -40, et -80 ; Parmi les stabilisants : dextrane-70, dextrane-40, dextran-10, poloxamer-188, -184, -237, etc.
- Du pH du milieu de polymérisation ;
- De la concentration en monomères ;
- De la vitesse de mélange. [49]

Un grand avantage de la polymérisation est qu'elle permet la production de particules plus complexes, telles que les dendrimères. Par contre, elle est difficile à mettre en place en milieu industriel. [50]

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

2.4. L'ABLATION LASER

L'ablation laser est une technologie qui peut être utilisée pour produire des nanoparticules de différentes compositions et morphologies, de plus en plus étudiée et appliquée dans différents domaines, dont la pharmacie.

L'ablation d'un matériel cible provoquée par l'irradiation d'un faisceau laser est un procédé très complexe. Le faisceau incident pulsatile pénètre la surface du matériel jusqu'à une certaine profondeur. Cette profondeur dépend de la longueur d'onde du laser et de l'index de réfraction du matériel lui-même. En général, elle est d'environ 10nm.

Le fort champ électrique créé par le laser est suffisant pour enlever les électrons du volume pénétré dans 10 picosecondes pour une nanoseconde d'irradiation laser. Les électrons libres oscillent ensuite dans le champ électromagnétique et peuvent entrer en collision avec les atomes du matériel, transférant ainsi leur énergie. La surface irradiée est ensuite chauffée et vaporisée. Si le débit du laser est suffisamment important, le matériel se transforme en plasma, qui contient différentes espèces énergétiques, telles que des molécules, des atomes, des électrons, des ions, et des particules. Cette composition lui confère des caractéristiques uniques : une température élevée, une pression élevée et une densité élevée. Par conséquent, la grande différence de pression entre le plasma produit et l'atmosphère environnante provoque une expansion rapide du plasma qui va ensuite se refroidir. Sous conditions adaptées de pression et de température (favorisant la condensation), le plasma va former des nucléi qui vont donner les nanostructures souhaitées, soit sur un substrat, soit dans un milieu froid liquide, contenant des micelles de sels métalliques (dans ce cas, les nanoparticules vont se former à l'intérieur des micelles). [51]

La taille des nanoparticules ainsi obtenues dépend de la puissance du faisceau laser, ainsi que de la concentration en sel dans le milieu liquide. Plus le faisceau est puissant, plus les particules obtenues sont grandes, et plus la distribution de taille est large. Par contre, en augmentant la concentration en sel, la taille des particules diminue.[52]

Parmi les avantages de cette méthode, on peut citer sa simplicité, la possibilité de synthétiser des nanoparticules métalliques ou semi-conducteurs, ainsi que la fabrication de nanoparticules à structures plus complexes, telles que des nanofibres, ou des nanoparticules creuses. De plus, l'ablation laser peut être utilisée pour fragmenter, modifier la forme ou encore pour conjuguer des nanoparticules fabriquées selon d'autres méthodes. Si les conditions de fabrication sont bien choisies (c'est-à-dire, les conditions de pression et température, la présence ou non de surfactants, l'intensité et la fréquence de pulsation du laser, etc), les particules obtenues sont très stables, ce qui est important dans le domaine du médicament. [53]

L'inconvénient de la méthode est que pour l'instant, elle n'est pas adaptée pour la production industrielle. De plus, les études actuellement disponibles se concentrent sur les métaux et les semi-conducteurs, et il y a moins d'informations sur les nanoparticules organiques. Par conséquent, plus de recherches doivent être réalisées sur cette technologie, qui semble néanmoins avoir de l'intérêt pour le futur.

3. CONCLUSION : COMPARAISON DES METHODES

Un grand nombre de technologies sont disponibles aujourd'hui pour la production des nanoparticules.

Le choix de la méthode doit se faire en prenant en compte différents facteurs, tels que le type de la particule, le domaine d'application, la taille souhaitée, etc. Dans les cas des produits pharmaceutiques, par ex, on va plutôt s'orienter vers les méthodes qui permettent d'obtenir des médicaments avec le minimum de traces résiduelles de solvants.

Le tableau ci-dessous résume les méthodes détaillées précédemment :

Tableau 3: Les méthodes de production de nanoparticules

Méthode	***Type de particules produites***	***Avantages***	***Inconvénients***	***Adaptée à la production industrielle***
Méthodes « top-down »				
Broyage	Nano-cristaux Nano-suspensions Nano-sphères	Méthode simple et utilisée depuis longtemps ; Les particules obtenues sont de caractère cristallin – plus stables.	Problèmes de stabilité des suspensions ; La réduction de la taille des particules est limitée ; Nécessite beaucoup d'énergie ; Risque de contamination par les billes Risque d'adhérence des matières sur les parois du mélangéur	Oui

Méthode	*Type de particules produites*	*Avantages*	*Inconvénients*	*Adaptée à la production industrielle*
Microfluidisation	Liposomes Nano-suspensions Nano-émulsions	Les suspensions et émulsions obtenues sont stables ; Peut fonctionner en mode continu ;	Procédé très long ; Distribution de la taille des particules peut être large ; La réduction de la taille des particules est limitée ; Nécessite beaucoup d'énergie ; Risque de coalescence Pas adapté pour les molécules sensibles à la chaleur	Oui
« Piston-gap » homogénéisation	Liposomes Nano-suspensions Nano-émulsions	Les suspensions et émulsions obtenues sont stables ; Peut fonctionner en mode continu ;	Distribution de la taille des particules peut être large ; La réduction de la taille des particules est limitée ; Nécessite beaucoup d'énergie ; Risque de coalescence Pas adapté pour les molécules sensibles à la chaleur	Oui
Méthodes « bottom-up »				
Précipitation « contre-solvant »	Nano-sphères Nano-capsules Solides ou en suspension	Distribution de taille étroite Utile pour les molécules hydrophobes Particules sèches peuvent être remises en suspension	Particules majoritairement amorphes (moins stables) Risque de solvant organique résiduel	Possible, mais peut être compliquée
Précipitation contrôlée à gravité élevée	Nano-fibres Nano-cristaux	Procédé rapide Permet d'obtenir des particules ultrafines La taille des particules est contrôlée	Particules majoritairement amorphes (moins stables) Risque de solvant organique résiduel	Possible
Jets d'impact de liquides confinés	Nano-sphères Nano-capsules	Procédé rapide Distribution de taille étroite Charge en SA importante Utile pour molécules hydrophiles et hydrophobes	Méthode compliquée Les nanoparticules doivent être formées avant de sortir de la chambre d'impact	Possible
Mélangeur à vortex en multi-entrées	Nano-sphères Nano-capsules	Distribution de taille étroite Charge en SA importante	Les nanoparticules doivent être formées avant de sortir de la chambre d'impact	Possible
Fluides supercritiques	Nano-cristaux	Possibilité de travailler en semi-continu Elimination efficace des fluides/solvants	La distribution de la taille des particules est moins contrôlée La durée du procédé peut être longue Mélange pas uniforme	Oui

Méthode	*Type de particules produites*	*Avantages*	*Inconvénients*	*Adaptée à la production industrielle*
Sonoprécipitation	Liposomes	Simple Peu ou pas de solvant organique utilisé	Difficile à mettre en œuvre pour des grosses quantités La durée du procédé est longue	Non
Spray-drying	Nano émulsions Nano-capsules Nano cristaux Nano particules solides lipidiques	Particules obtenues sont sèches (meilleure stabilité), mais peuvent être remises en suspension Distribution de taille étroite	Toujours pas adapté à l'échelle industrielle	Non
Réacteur de flux d'aérosols		Distribution de taille étroite	Risque d'obtenir des particules creuses si trop chauffées	Oui
Electrospraying	Nanofibres Nano-sphères Nano cristaux Nano particules métalliques	Adapté pour différentes molécules : biopolymères, polymères synthétiques, métaux… Particules stables Procédé simple (une étape) Distribution de taille étroite	Risque de dégradation de la molécule	Oui
Polymérisation	Nano particules organiques Dendrimère	Procédé simple Permet de produire des structures complexes	Dépend de la molécule et du polymère Contrôlé imparfait de la taille des particules	Non
Ablation laser	Nano particules métalliques et semi-conducteur Nanofibres	Méthode simple Permet de produire des structures complexes	Pas adapté au milieu industriel Peu de données sur l'efficacité pour les particules organiques	Non

Par conséquent, on peut conclure que :

- *Pour les méthodes « top-down » :*

Les méthodes « top-down » sont plus simples et déjà connues dans l'industrie pharmaceutique. Les particules obtenues en utilisant ces méthodes sont stables et cristallines. De plus, en gérant bien les paramètres du procédé, il est possible de contrôler la taille des particules. Également, on peut produire des lots de grande taille, vu que dans le cas de l'homogénéisation, il y a possibilité de travailler en mode continu.

Par contre, ces méthodes ont leurs contraintes. Les procédés nécessitent beaucoup d'apports en énergie, par conséquent le produit peut être exposé à des températures

élevées, ce qui est un inconvénient pour certains produits thermolabiles. Aussi, il y a des limites au-delà desquelles, il n'est plus possible de réduire la taille des particules. De plus, les procédés peuvent être longs, auquel cas on a même le risque que le produit coalesce dans l'appareil.

- *Pour les méthodes « bottom-up » :*

Dans le cas des méthodes « bottom-up », on peut voir que la variabilité des technologies permet de fabriquer des nanoparticules d'une qualité bien meilleure que celle des méthodes « top-down ». La variabilité des particules produites, ainsi que la distribution de taille étroite qu'ils offrent est assez intéressante, surtout en vue de la complexité des nanoparticules actuellement en cours de développement.

D'autre part, la grande majorité de ces méthodes n'est pas adaptée au milieu industriel. Les procédés sont souvent compliqués, et le grand nombre de paramètres susceptibles de jouer un rôle sur la qualité du produit fini, peut être contraignant. Ceci peut conduire à des coûts de production très importants, ce qui peut mettre en question la rentabilité de la molécule. Un grand nombre de médicaments conçus par ces technologies ne sont pas commercialisés en raison de leurs coûts élevés.

Pour conclure, les méthodes qui semblent avoir le plus de potentiel dans l'avenir pour la production industrielle des nanoparticules sont : toutes les méthodes « top-down », à cause de leur simplicité et le fait qu'elles sont déjà utilisées dans l'industrie pharmaceutique ; les méthodes de nanoprécipitation, et notamment celles à gravité élevée, avec les fluides supercritiques, et « flash » présentent aussi un certain intérêt. L'électrospraying, autre technologie innovante, pourrait être utilisée, vu la diversité des particules qu'elle permet de fabriquer.

Finalement, il est important de noter que pour la production industrielle des nanoparticules comme celles citées dans §II.3.2 (les formes en développement préclinique), il n'y a pratiquement aucune méthode qui peut être adaptée à l'échelle industrielle. Les formes telles que les dendrimères ont des structures et compositions beaucoup plus complexes et variées que les nanoparticules « classiques », par conséquent, de nouveaux procédés de fabrication vont devoir être mis en place pour permettre leur commercialisation.

IV. CONCLUSION

Vu les avantages qu'elles offrent par rapport aux formes pharmaceutiques traditionnelles, les nanoparticules sont des formes pharmaceutiques qui ont un grand nombre d'applications diverses dans le monde d'aujourd'hui. Actuellement, la recherche et développement en produits pharmaceutiques se dirige vers une approche plus ciblée, avec la vectorisation du médicament. Les nouvelles molécules et formes conçues pourraient profiter des nanotechnologies, et beaucoup plus dans les prochaines années.

Néanmoins, toutes les propriétés intéressantes des nanoparticules ne pourront jamais être exploitées sans la mise en place de méthodes de production efficaces, permettant de produire des nanoparticules de bonne qualité et en grandes quantités. Ce dernier point est un paramètre fondamental et limitant au développement des nanoparticules. La production en masse des nanoparticules présente beaucoup de challenges, du contrôle de la taille et de la forme, jusqu'à la maîtrise des paramètres critiques des procédés, la plupart parmi eux n'étant toujours pas bien connus.

De plus, un autre problème potentiel dans le développement de ces formes est leur toxicité. En vue de l'apparition relativement récente des nanoparticules en tant que formes pharmaceutiques, peu de données toxicologiques sont disponibles. Comme vu dans la première partie de ce document, les propriétés physico-chimiques particulières des nanoparticules leur confèrent des profils toxicologiques que l'on n'observerait pas ni avec la molécule libre, ni avec les particules plus grossières. Par conséquent, pour tout nouveau médicament à base de nanoparticules, les études toxicologiques réalisées devront déterminer pas seulement la toxicité du principe actif, mais aussi la toxicité de la particule entière.

On peut donc conclure que la production des médicaments à base de nanoparticules à l'échelle industrielle n'est encore qu'en phase initiale. Même si un grand nombre de recherches sont en cours dans le domaine, beaucoup d'études doivent être réalisées encore. De plus, il sera nécessaire de créer et développer de nouvelles technologies pour répondre à la demande croissante du marché des nanoparticules dans les années à venir.

BIBLIOGRAPHIE

[1] J.-U. A. H. Junghanns and R. H. Müller, "Nanocrystal technology, drug delivery and clinical applications," *Int. J. Nanomedicine*, vol. 3, no. 3, pp. 295–310, Sep. 2008.

[2] S. Horikoshi and N. Serpone, "Introduction to Nanoparticles," in *Microwaves in Nanoparticle Synthesis*, S. Horikoshi and N. Serpone, Eds. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2013, pp. 1–24.

[3] "Frequently Asked Questions | Nano." [Online]. Available: http://www.nano.gov/nanotech-101/nanotechnology-facts. [Accessed: 08-Jun-2015].

[4] J. Kreuter, "Nanoparticles—a historical perspective," *Int. J. Pharm.*, vol. 331, no. 1, pp. 1–10, Feb. 2007.

[5] M. L. Etheridge, S. A. Campbell, A. G. Erdman, C. L. Haynes, S. M. Wolf, and J. McCullough, "The big picture on nanomedicine: the state of investigational and approved nanomedicine products," *Nanomedicine Nanotechnol. Biol. Med.*, vol. 9, no. 1, pp. 1–14, Jan. 2013.

[6] *Code de la santé publique - Article L5111-1*, vol. L5111–1. .

[7] V. Weissig, T. K. Pettinger, and N. Murdock, "Nanopharmaceuticals (part 1): products on the market," *Int. J. Nanomedicine*, vol. 9, pp. 4357–4373, Sep. 2014.

[8] T. M. Allen and P. R. Cullis, "Drug Delivery Systems: Entering the Mainstream," *Science*, vol. 303, no. 5665, pp. 1818–1822, Mar. 2004.

[9] E. M. Merisko-Liversidge and G. G. Liversidge, "Drug Nanoparticles: Formulating Poorly Water-Soluble Compounds," *Toxicol. Pathol.*, vol. 36, no. 1, pp. 43–48, Jan. 2008.

[10] A. Z. Wang, R. Langer, and O. C. Farokhzad, "Nanoparticle Delivery of Cancer Drugs," *Annu. Rev. Med.*, vol. 63, no. 1, pp. 185–198, 2012.

[11] K. Cho, X. Wang, S. Nie, Z. (Georgia) Chen, and D. M. Shin, "Therapeutic Nanoparticles for Drug Delivery in Cancer," *Clin. Cancer Res.*, vol. 14, no. 5, pp. 1310–1316, Mar. 2008.

[12] U. K. Marelli, F. Rechenmacher, T. R. A. Sobahi, C. Mas-Moruno, and H. Kessler, "Tumor targeting via integrin ligands," *Pharmacol. Anti-Cancer Drugs*, vol. 3, p. 222, 2013.

[13] "Virosome," *Wikipedia, the free encyclopedia*. 28-Feb-2015.

[14] L. Zhang, F. Gu, J. Chan, A. Wang, R. Langer, and O. Farokhzad, "Nanoparticles in Medicine: Therapeutic Applications and Developments," *Clin. Pharmacol. Ther.*, vol. 83, no. 5, pp. 761–769, May 2008.

[15] E. R. Gillies and J. M. J. Fréchet, "Dendrimers and dendritic polymers in drug delivery," *Drug Discov. Today*, vol. 10, no. 1, pp. 35–43, Jan. 2005.

[16] "Photothermal therapy," *Wikipedia, the free encyclopedia*. 01-Jun-2015.

[17] Z. Liu, S. Tabakman, K. Welsher, and H. Dai, "Carbon nanotubes in biology and medicine: In vitro and in vivo detection, imaging and drug delivery," *Nano Res.*, vol. 2, no. 2, pp. 85–120, Mar. 2010.

[18] L. Qi and X. Gao, "Emerging application of quantum dots for drug delivery and therapy," *Expert Opin. Drug Deliv.*, vol. 5, no. 3, pp. 263–267, Mar. 2008.

[19] W. H. De Jong and P. J. Borm, "Drug delivery and nanoparticles: Applications and hazards," *Int. J. Nanomedicine*, vol. 3, no. 2, pp. 133–149, Jun. 2008.

[20] L. Yildirimer, N. T. K. Thanh, M. Loizidou, and A. M. Seifalian, "Toxicology and clinical potential of nanoparticles," *Nano Today*, vol. 6, no. 6, pp. 585–607, Dec. 2011.

[21] H.-K. Chan and P. C. L. Kwok, "Production methods for nanodrug particles using the bottom-up approach," *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 63, no. 6, pp. 406–416, May 2011.

[22] Y. B. Li, B. Q. Wei, J. Liang, Q. Yu, and D. H. Wu, "Transformation of carbon nanotubes to nanoparticles by ball milling process," *Carbon*, vol. 37, no. 3, pp. 493–497, Feb. 1999.

[23] L. C. Damonte, L. A. Mendoza Zélis, B. Marí Soucase, and M. A. Hernández Fenollosa, "Nanoparticles of ZnO obtained by mechanical milling," *Powder Technol.*, vol. 148, no. 1, pp. 15–19, Oct. 2004.

[24] "High energy ball milling process for nanomaterial synthesis." [Online]. Available: http://www.understandingnano.com/nanomaterial-synthesis-ball-milling.html. [Accessed: 20-Oct-2015].

[25] C. Knieke, C. Steinborn, S. Romeis, W. Peukert, S. Breitung-Faes, and A. Kwade, "Nanoparticle Production with Stirred-Media Mills: Opportunities and Limits," *Chem. Eng. Technol.*, vol. 33, no. 9, pp. 1401–1411, Sep. 2010.

[26] A. A. Date and V. B. Patravale, "Current strategies for engineering drug nanoparticles," *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, vol. 9, no. 3–4, pp. 222–235, Nov. 2004.

[27] V. B. Patravale, A. A. Date, and R. M. Kulkarni, "Nanosuspensions: a promising drug delivery strategy," *J. Pharm. Pharmacol.*, vol. 56, no. 7, pp. 827–840, Jul. 2004.

[28] "High pressure homogenisation - Food Tech Innovation Portal." [Online]. Available: http://www.foodtech-portal.eu/index.php?title=High_pressure_homogenisation. [Accessed: 20-Oct-2015].

[29] C. Qian and D. J. McClements, "Formation of nanoemulsions stabilized by model food-grade emulsifiers using high-pressure homogenization: Factors affecting particle size," *Food Hydrocoll.*, vol. 25, no. 5, pp. 1000–1008, Jul. 2011.

[30] C. M. Keck and R. H. Müller, "Drug nanocrystals of poorly soluble drugs produced by high pressure homogenisation," *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, vol. 62, no. 1, pp. 3–16, Jan. 2006.

[31] S. M. Jafari, Y. He, and B. Bhandari, "Optimization of nano-emulsions production by microfluidization," *Eur. Food Res. Technol.*, vol. 225, no. 5–6, pp. 733–741, Oct. 2006.

[32] "Supersaturation - Wikipedia, the free encyclopedia." [Online]. Available: https://en.wikipedia.org/wiki/Supersaturation. [Accessed: 01-Oct-2015].

[33] "Nucleation," *Wikipedia, the free encyclopedia*. 27-Oct-2015.

[34] M. E. Matteucci, M. A. Hotze, K. P. Johnston, and R. O. Williams, "Drug Nanoparticles by Antisolvent Precipitation: Mixing Energy versus Surfactant Stabilization," *Langmuir*, vol. 22, no. 21, pp. 8951–8959, Oct. 2006.

[35] J.-F. Chen, M.-Y. Zhou, L. Shao, Y.-Y. Wang, J. Yun, N. Y. K. Chew, and H.-K. Chan, "Feasibility of preparing nanodrugs by high-gravity reactive precipitation," *Int. J. Pharm.*, vol. 269, no. 1, pp. 267–274, Jan. 2004.

[36] H. Shen, S. Hong, R. K. Prud'homme, and Y. Liu, "Self-assembling process of flash nanoprecipitation in a multi-inlet vortex mixer to produce drug-loaded polymeric nanoparticles," *J. Nanoparticle Res.*, vol. 13, no. 9, pp. 4109–4120, Apr. 2011.

[37] J. C. Cheng, R. D. Vigil, and R. O. Fox, "A competitive aggregation model for Flash NanoPrecipitation," *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 351, no. 2, pp. 330–342, Nov. 2010.

[38] H. Chiou, H.-K. Chan, R. K. Prud'homme, and J. A. Raper, "Evaluation on the Use of Confined Liquid Impinging Jets for the Synthesis of Nanodrug Particles," *Drug Dev. Ind. Pharm.*, vol. 34, no. 1, pp. 59–64, Jan. 2008.

[39] "Supercritical fluid," *Wikipedia, the free encyclopedia*. 10-Oct-2015.

[40] K. Byrappa, S. Ohara, and T. Adschiri, "Nanoparticles synthesis using supercritical fluid technology – towards biomedical applications," *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 60, no. 3, pp. 299–327, Feb. 2008.

[41] J. Jung and M. Perrut, "Particle design using supercritical fluids: Literature and patent survey," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 20, no. 3, pp. 179–219, Aug. 2001.

[42] K. Baba and K. Nishida, "Calpain inhibitor nanocrystals prepared using Nano Spray Dryer B-90," *Nanoscale Res. Lett.*, vol. 7, no. 1, p. 436, Aug. 2012.

[43] X. Li, N. Anton, C. Arpagaus, F. Belleteix, and T. F. Vandamme, "Nanoparticles by spray drying using innovative new technology: The Büchi Nano Spray Dryer B-90," *J. Controlled Release*, vol. 147, no. 2, pp. 304–310, Oct. 2010.

[44] C. Freitas and R. H. Müller, "Spray-drying of solid lipid nanoparticles (SLNTM)," *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, vol. 46, no. 2, pp. 145–151, Sep. 1998.

[45] H. Eerikäinen, W. Watanabe, E. I. Kauppinen, and P. P. Ahonen, "Aerosol flow reactor method for synthesis of drug nanoparticles," *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, vol. 55, no. 3, pp. 357–360, May 2003.

[46] A. Jaworek, "Micro- and nanoparticle production by electrospraying," *Powder Technol.*, vol. 176, no. 1, pp. 18–35, Jul. 2007.

[47] R. Sridhar and S. Ramakrishna, "Electrosprayed nanoparticles for drug delivery and pharmaceutical applications," *Biomatter*, vol. 3, no. 3, p. e24281, Jul. 2013.

[48] "polymerization | a chemical reaction in which two or more molecules combine to form larger molecules that contain repeating structural units compare association 5." [Online]. Available: http://www.merriam-webster.com/dictionary/polymerization. [Accessed: 18-Oct-2015].

[49] K. S. Soppimath, T. M. Aminabhavi, A. R. Kulkarni, and W. E. Rudzinski, "Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices," *J. Controlled Release*, vol. 70, no. 1–2, pp. 1–20, Jan. 2001.

[50] J. P. Rao and K. E. Geckeler, "Polymer nanoparticles: Preparation techniques and size-control parameters," *Prog. Polym. Sci.*, vol. 36, no. 7, pp. 887–913, Jul. 2011.

[51] H. Zeng, X.-W. Du, S. C. Singh, S. A. Kulinich, S. Yang, J. He, and W. Cai, "Nanomaterials via Laser Ablation/Irradiation in Liquid: A Review," *Adv. Funct. Mater.*, vol. 22, no. 7, pp. 1333–1353, Apr. 2012.

[52] Fumitaka Mafuné, J. Kohno, Y. Takeda, T. Kondow, and H. Sawabe, "Formation and Size Control of Silver Nanoparticles by Laser Ablation in Aqueous Solution," *J. Phys. Chem. B*, vol. 104, no. 39, pp. 9111–9117, Oct. 2000.

[53] T. E. Itina, "On Nanoparticle Formation by Laser Ablation in Liquids," *J. Phys. Chem. C*, vol. 115, no. 12, pp. 5044–5048, Mar. 2011.