

UNIVERSITÉ DE NANTES

UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

ANNÉE 2017

N° 63

MÉMOIRE

DU DIPLÔME D'ÉTUDES SPÉCIALISÉES D'INNOVATION PHARMACEUTIQUE ET RECHERCHE

Soutenu devant le jury interrégional

Le 06 Octobre 2017

Par Camille LINOT

Conformément aux dispositions du Décret n° 2012-172 du 3 février

THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

***Les nanovecteurs en cancérologie :
état de l'art, avancées et perspectives***

Président :

Dr Émilie ALLARD-VANNIER

Directeur de thèse :

Pr Stéphane BIRKLÉ

Membres du jury :

Dr Lénaïc LARTIGUE

Dr François ETCHEVERRIGARAY



UNIVERSITE DE NANTES

Charte anti-plagiat de l'Université de Nantes

Approuvée par le Conseil d'administration de l'Université de Nantes en date du 21 octobre 2011

Préambule

L'Université de Nantes est engagée contre le plagiat, afin de garantir la qualité de ses diplômes et l'originalité des publications pédagogiques et scientifiques de ses personnels enseignants et/ou chercheurs. Les travaux quels qu'ils soient (devoirs, compte-rendu, mémoire, cours, articles, thèses), réalisés aussi bien par les étudiants que par les personnels universitaires, doivent toujours avoir pour ambition de produire un savoir inédit et d'offrir une lecture nouvelle et personnelle d'un sujet. La présente charte définit les règles à respecter en la matière, par l'ensemble des étudiants et universitaires.

Article 1

Les étudiants et les personnels sont informés que le plagiat constitue la violation la plus grave de l'éthique universitaire. Le plagiat consiste à reproduire un texte, une partie d'un texte, toute production littéraire ou graphique, ou des idées originales d'un auteur, sans lui en reconnaître la paternité, par des guillemets appropriés et par une indication bibliographique convenable.

Article 2

Les étudiants et les personnels s'engagent à ne pas commettre de plagiat dans leurs travaux, quels qu'ils soient : devoirs et compte-rendu remis par les étudiants à un enseignant, mémoire, cours, articles de recherche, thèse. Le fait de commettre un plagiat en vue d'obtenir indûment une note, un diplôme ou un grade universitaire est une circonstance aggravante. Le fait de commettre un plagiat dans un document destiné à être publié, mémoire de master ou de thèse, article à paraître dans une revue, est aussi une circonstance aggravante. La reproduction d'une œuvre originale sans le consentement de l'auteur est de plus qualifiée juridiquement de contrefaçon (articles L. 335-2 et L. 335-3 du code de la propriété intellectuelle).

Article 3

Les étudiants et les personnels s'engagent à citer, en respectant les règles de l'art, les travaux qu'ils utilisent ou reproduisent partiellement. Les reproductions de courts extraits en vue d'illustration, ou à des fins pédagogiques sont en effet autorisées sans nécessité de demander le consentement de l'auteur. Néanmoins, la méthodologie d'un travail universitaire, quel qu'il soit, implique que les emprunts soient clairement identifiés (guillemets) et que le nom de l'auteur et la source de l'extrait soient mentionnés. Les travaux universitaires ne consistent pas en la reproduction d'une ou de plusieurs sources, mais doivent toujours avoir pour ambition de produire un savoir inédit et d'offrir une lecture nouvelle et personnelle du sujet.

Article 4

L'Université de Nantes se réserve le droit de rechercher systématiquement les tentatives de plagiat par l'utilisation d'un logiciel de détection de plagiat. Les étudiants et les personnels s'engagent à communiquer, sur simple demande de l'Université, une version numérique de leur document avant publication, afin de permettre cette détection.

Article 5

Les manquements à la présente charte sont passibles de sanctions disciplinaires : avertissement, blâme, annulation du diplôme préparé, exclusion de l'Université pour une durée limitée, exclusion définitive de l'Université, exclusion de tout établissement public d'enseignement supérieur pour une durée limitée, exclusion définitive de tout établissement d'enseignement supérieur. Les auteurs présumés de plagiat seront systématiquement traduits devant la section disciplinaire compétente. La procédure disciplinaire ne préjuge pas d'éventuelles poursuites judiciaires dans les cas où le plagiat est aussi caractérisé comme étant une contrefaçon.

Toute information complémentaire sur les textes législatifs et réglementaires en vigueur et les règles de l'art pour la citation, peut être consultée dans le dossier plagiat sur le site de l'Université de Nantes : <http://www.univ-nantes.fr/charte-antiplagiat>.

Je dédie ce manuscrit à,

Léa, la femme de ma vie !

Pour le soutien, la compréhension et l'amour que tu m'as apporté pendant toutes ces années.

Benjamin, Nadège et Nathanaëlle, mes frères et sœurs.

Pour tous les moments passés ensemble.

Vos réussites ont été pour moi un moteur.

J'espère que vous serez fier de moi.

Mes parents.

Pour votre patience, votre soutien et votre volonté. C'est grâce à vous que je suis arrivé jusqu'ici.

Mes Grands-parents.

Vous avez été un modèle pour chaque jour de ma vie.

Merci pour toutes ses valeurs que vous m'avez transmises.

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier le docteur **Emilie ALLARD-VANNIER**, qui m'a fait l'honneur de présider ce jury. Je me dois également de la remercier pour ces cours à la faculté d'Angers.

Au professeur **Stéphane BIRKLÉ**, merci d'avoir accepté d'encadrer ce travail. Pour vos cours de Master qui m'ont permis de découvrir le domaine des biotechnologies et de la recherche.

Je remercie également le docteur **Lénaïc LARTIGUE** d'avoir accepté de juger ce travail. J'apprécie l'expertise que tu apportes dans le domaine des nanoparticules.

Au docteur **François ETCHEVERRIGARAY**, je te remercie d'avoir accepté de juger ce travail. En tant qu'ancien interne nantais, tu as su m'accompagner dans mon internat en pharmacie. Merci pour ces trois années partagées et pour ta bonne humeur permanente.

Un grand merci à toute **l'équipe 4** pour leur accueil pendant quatre ans : Marc, Christophe, Jeff, Daniel, Nicolas, Sophie, Delphine, Joëlle, Tiphaine, Virginie, Thibaut et Iza, merci pour les moments partagés.

A **ma famille Pharma**, merci pour tout ! J'ai passé 6 années inoubliables avec vous. On ne s'est sûrement pas rendu plus intelligent mais il faut bien décompresser ! Merci à tous d'être encore présents chaque jour !

A **Matthieu**, avec qui j'ai partagé les pauses les plus détendues entre les épreuves du concours. Pour ton amour des pâtes et du pesto. Pour ta simplicité et ton rire.

A **Erwann** et **Diane**, qui ont complété avec Matthieu cette fine équipe de P1, merci pour cette motivation qui nous a amené jusqu'ici.

A **Alex**, merci pour toutes ces années sous ta présidence, pour ces fou-rires en amphi et pour ces rattrapages qui t'étaient chers. Et Merci à Constance qui à la lourde tâche de te supporter chaque jour, merci pour ta culture lilloise !

A **Benito**, l'ami Lancelin, merci pour cette amitié folle, pour ta présence et ton soutien et toutes mes félicitations pour cette nouvelle vie que tu commences en bien bonne, belle compagnie ! Good game, ... tu connais la suite !

A **Eve-anne**, merci d'avoir toujours été là, pour ces doux moments passés à Rungis qui nous ont mené ici et pour ces fins de soirées où nous sommes les seuls survivants !

Merci à YM, Zilou, Pedro, Frodon, Charlène, Vincent, Joubi, Justine, Charlotte, Pauline, Teddy, Marie, Angèle, Caroline, Eleonore, Noémie, PH, Elise, Rhizlane tous membres de la **team Pharma**.

Merci à **Thomas** et **François**, éternels compères de lycée. Je suis fier de pouvoir vous compter parmi mes amis.

A VP, NicoP, NicoS et Guillaume, merci pour les fous rires des fins de journées nantaises autour d'un 21 !

A tous ceux que j'ai pu oublié et auprès desquels je m'en excuse.

A **Martine** et **Jean-Louis**, merci de m'avoir accueillis dans votre famille et merci de m'avoir apporté cette ouverture à de nouveaux horizons.

A **Alex**, **Thomas** et **Arthur**, mes trois beaux-frères, merci pour tous ces moments passés et merci pour ceux qui nous attendent.

A **Benjamin**, mon grand frère, merci pour ce modèle d'excellence, pour cet exemple que je tente de dépasser chaque jour ! Merci pour ton soutien et merci à ta femme et tes enfants, vous êtes géniaux !

A **Nadège** et **Natha**, mes grandes sœurs, merci de m'avoir montré la voie, j'ai toujours souhaité vous rattraper. Merci pour tous ce que nous partageons, merci pour ces neveux et nièces qui enchantent notre famille.

Merci **papa**, merci **maman**, de m'avoir amené jusqu'ici et de m'accompagner encore chaque jour. Merci d'avoir fait de moi la personne que je suis aujourd'hui. Merci pour cette vie que vous nous apportez. Je vous aime.

Enfin Merci à toi, la seule et l'unique qui partage et émerveille ma vie. **Léa**, merci d'accompagner mon quotidien, de m'encourager, de me motiver et de me supporter !

« Everything I do, I do it for you »

Table des matières

LISTE DES ABRÉVIATIONS	8
LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX	9
PRÉAMBULE	10
I- Introduction générale	11
I-1 Le Cancer	12
I-1-1 Définitions	12
I-1-2 Épidémiologie	12
I-1-3 Traitements	13
I-1-4 Classification	13
I-2 Les nanotechnologies	14
II- Les nanoparticules	19
II-1 Généralités	19
II-1-1 Définition	19
II-1-2 Intérêt	20
II-1-3 Applications	20
II-2 Les différents types de nanoparticules	21
II-2-1 Les liposomes et micelles	21
II-2-3 Les nanoparticules polymériques	23
II-2-4 Les Nanoparticules inorganiques	24
II-2-5 Les nanotubes de carbone	25
III- La vectorisation nanoparticulaire	27
III-1 Définition	27
III-2 Les générations de vecteurs nanoparticulaires	28
<i>III-3 Les stratégies de ciblage</i>	<i>30</i>
III-3-1 Le ciblage passif	30
III-3-2 L'intérêt de la pégylation	33
III-3-3 Le ciblage actif	34
III-4 Le vecteur idéal ?	40
IV- Exemples de stratégies de développement clinique	43
<i>IV-1 Sur le marché</i>	<i>43</i>
IV-1-1 Exemples cliniques d'utilisation de liposomes en oncologie	43
IV-1-2 Exemples cliniques d'utilisation de nanoparticules protéiques ou polymériques	44
IV-1-3 Exemples précliniques d'utilisation de la stratégie de ciblage actif	44
IV-1-4 Exemple clinique d'utilisation de stratégie de ciblage actif via une protéine conjuguée	45

IV-2 exemples de formes nanoparticulaires en cours de développement	45
IV-2-1 A partir de nanoparticules de fer	45
IV-2-2 A partir de nanoparticules d'or	46
IV-2-3 A partir de nanoparticules d'hafnium	47
V- La toxicité des nanoparticules	48
V-1 Les poumons	48
V-2 Les reins	49
V-3 Le foie	49
V-4 Le cerveau	50
VI- Les procédés de fabrication pharmaceutiques des nanoparticules	52
VI-1 Les procédés « top-down » ou descendants	52
VI-1-1 Le broyage	52
VI-1-2 L'homogénéisation à haute pression	53
VI-2 Les procédés « bottom-up » ou ascendants	54
VI-2-1 Méthodes par précipitation	54
VI-2-2 Méthodes par évaporation	54
VI-2-3 La polymérisation	55
VII- Les perspectives	56
VII-1 Cibler les cellules initiatrices de cancer	57
VII-2 Un traceur de médicament	57
VII-3 Applications théranostiques	58
Conclusion	60
Références bibliographiques	62

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ABC : *Accelerated Blood Clearance* = Clairance sanguine accélérée
 ADN : Acide Désoxyribonucléique
 AH : Acide Hyaluronique
 ANR : Agence Nationale de la Recherche
 ARN : Acide Ribonucléique
 CIC : Cellules initiatrices de cancer
 CPP : Cell penetrating peptides = Peptides pénétrants les cellules
 DM : Dispositif Médical
 EDC : Endocytose Dépendante des Clathrines
 EMR : Endocytose Médiée par un Récepteur
 EPR : *Enhanced Permeability and Retention* = Effet de perméabilité et de rétention accrue
 FDA : *Food and Drugs Administration* = Équivalent de l'ANSM aux États-Unis
 IgM : Immunoglobuline de classe M
 IRM : Imagerie par Résonance Magnétique
 MPS : *Mononuclear Phagocytic System* = remplace l'ancien système réticulo-endothéliale
 MWCNT : *Multi-Walled Carbon NanoTubes* = Nanotubes de carbone multi feuillet
 MWNT : *Multi-walled nanotubes* = Nanotubes multi feuillet
 NPs : NanoParticules
 OMS : Organisation Mondiale de la Santé
 PEG : PolyÉthylène Glycol
 PGA : *Poly(glutamic acid)* = Acide poly glutamique
 PGLA : Poly (acide lactique-co-glycolique)
 PLA : *Poly (lactic acid)* = Acide Poly lactique
 PSA : *Prostatic Specific Antigen* = Antigène prostatique spécifique
 SPIO : *SuperParamagnetic Iron Oxyde* = Oxyde de fer super paramagnétique
 SWCNT : *Single-Walled Carbon NanoTubes* = Nanotubes de carbone simple feuillet
 SWNT : *single-walled nanotubes* = Nanotubes simple feuillet
 TfR : *Transferrin Receptor* = Récepteur de la transferrine
 TNM : *Tumor-Node-Metastasis* = Tumeur-Ganglions lymphatiques-Métastases
 UMR : Unité Mixte de Recherche
 USPIO : *Ultrasmall Superparamagnetic Iron Oxyde* = Oxyde de fer Super paramagnétique de petite taille
 VEGF : *Vascular endothelial growth factor* = facteur de croissance de l'endothélium vasculaire

LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX

Figure 1 - Paul Ehrlich

Figure 2 : Echelle comparant les nanoparticules à l'atome et à des structures de l'ordre du micromètre

Figure 3 : Les Différents types de Nanoparticules utilisées en recherche.
D'après Faraji, Wipf 2009 et Kabanov, Vinogradov 2009

Figure 4 : Polymères biodégradables couramment utilisés dans l'application de délivrance de médicaments, d'après (Kamaly et al. 2012) [12]. PLA : poly (lactic acid) ; PGA : poly(glutamic acid) ; PLGA : poly(D,L-lactic-co-glycolide)

Figure 5 : schéma de l'évolution des nanoparticules, l'exemple du liposome

Figure 6 : microscopie électronique à balayage des vaisseaux sanguins de tissus normaux (foie)(A et B) et de nodules tumoraux hépatiques (C et D)

Figure 7 : Stratégies de ciblage tumoral, d'après Lammers, Hennink, et Storm 2008

Figure 8 : structure de base des anticorps et leurs différents fragments exemplifiés par IgG.

Tableau 1 : Définition de nanoparticule selon différentes institutions

PRÉAMBULE

Ce manuscrit présente une revue non exhaustive de la littérature sur le domaine des nanovecteurs appliqués aux traitements des cancers. Ce travail a été réalisé dans le cadre de mon mémoire de Diplôme d'Études Spécialisées en Innovations Pharmaceutiques et Recherche et de mes travaux de doctorat de l'université intitulés : « Amélioration de l'efficacité des agents chimiothérapeutiques utilisés dans le traitement des cancers thoraciques: combinaisons ou vectorisation. ». J'ai souhaité exposer l'état de l'art des connaissances dans le domaine des nanomédecines appliquées à la vectorisation d'agents anticancéreux.

Après une introduction générale sur le cancer et les nanotechnologie, La PARTIE II traite du domaine des nanoparticules en présentant les différents systèmes développés à ce jour et les stratégies mises en œuvre pour l'utilisation de ces entités en thérapeutique.

Dans La PARTIE III, Je reviendrais sur la vectorisation nanoparticulaire.

La PARTIE IV est une revue des nanovecteurs présents en application cliniques aujourd'hui, sur le marché ou en essais cliniques, pour le traitement du cancer et par type de nanoparticules.

Dans la PARTIE V, je présenterais les principales toxicités attribuées aux nanoparticules.

La PARTIE VI traitera des différents procédés de fabrication des nanoparticules.

Enfin la partie VII présentera les perspectives et utilisations futures des nanoparticules.

I- Introduction générale

L'étude des nanotechnologies, c'est à dire la recherche sur les nouveaux outils, techniques et procédés offerts par la miniaturisation, bouleverse de nombreux domaines scientifiques et notamment celui de la santé. Aujourd'hui, l'incorporation des nano-objets en médecine, permet d'entrevoir de nouvelles stratégies thérapeutiques, appelées nanomédecines, plus particulièrement en oncologie. Au cours des 25 dernières années, le nombre de produits thérapeutiques nanométriques, ou nanomédicaments, disponible dans le commerce a considérablement augmenté. Le *European Science and Technology Observatory* a publié une enquête en 2006 montrant un engouement certain des entrepreneurs pour ce secteur avec un doublement du nombre d'entreprises en développement ¹. Aujourd'hui, 20 nano-médicaments disposent d'une AMM en Europe ² et 40 aux Etats-Unis pour une utilisation clinique ³.

Le traitement du cancer regroupe souvent plusieurs types de thérapies. Les nanotechnologies ne visent pas à toucher de nouvelles cibles pharmacologiques mais à augmenter la spécificité anti-tumorale des traitements. De multiples avantages ont été démontrés à l'administration de médicaments via des nanoparticules (NPs) comme la capacité de formuler un médicament sans utiliser d'excipients toxiques. Cela permet de limiter la dose de principe actif présente dans la forme commerciale tout en améliorant ainsi la tolérance⁴. Par exemple, l'Abraxane® est une formulation du paclitaxel lié à une NP d'albumine humaine indiquée dans le cancer du sein, le cancer du poumon et le cancer du pancréas ⁵. Une étude randomisée de phase III dans le cancer du poumon en comparaison avec le taxol a montré un meilleur taux de réponse chez les patients traité par l'Abraxane®⁶.

Les nano-vecteurs permettent également d'améliorer la solubilité des médicaments hydrosolubles, de prolonger leur demi-vie plasmatique, de réduire les

effets secondaires comme l'immunogénicité et de modifier les modalités de libération du principe actif^{7,8}.

L'adressage ou la délivrance spécifique de molécules thérapeutiques vers un tissu constitue aujourd'hui un défi important pour le traitement du cancer. Actuellement les nano-médecines sont utilisées à 80% pour de la thérapie, 8 % en médecine régénérative et 12% en diagnostic, que ce soit *in vivo* ou *in vitro*. Sur tous les produits utilisant cette technologie, 184 produits thérapeutiques ont été développés (médicaments, vaccins, DM) et se répartissent dans différents secteurs médicaux : 31% oncologie, 23% maladies infectieuses, 23% cardiovasculaire, 15% immunologie et 8% ophtalmologie⁹.

I-1 Le Cancer

I-1-1 Définitions

Selon l'OMS, le « cancer » est un terme générique représentant un groupe de pathologie pouvant toucher toutes les parties de l'organisme¹⁰. On entend également parler de néoplasies malignes ou encore de tumeurs malignes. Cette maladie est caractérisée par un développement anarchique de cellules au sein d'un tissu. Complexe et meurtrier, il se compose d'un tissu malin formé par des mutations ou des instabilités génétiques d'une cellule saine où par des modifications moléculaires multiples. Les cellules résultantes de ces modifications sont capables de proliférer indéfiniment, laissant de côté les processus de mort programmée des cellules saines comme l'apoptose¹¹. Elles sont aussi capables de migrer vers d'autres tissus pour former ce qu'on appelle des métastases. Ce stade représente la dernière évolution spontanée de la plupart des cancers.

I-1-2 Épidémiologie

Le traitement contre le cancer représente certainement le challenge le plus important du 21^{ème} siècle. Le cancer est l'une des principales causes de décès dans le

monde avec 8,8 millions de morts en 2015 ¹⁰. C'est une maladie aux conséquences dévastatrices. En France métropolitaine, le nombre de nouveaux cas de cancer était estimé à 385000 (211000 hommes et 174000 femmes) avec une mortalité évaluée à 150000 décès pour l'année 2015. Ces chiffres ont doublé ces trente dernières années, mais cette augmentation peut s'expliquer par l'allongement de la durée de vie, par l'amélioration des techniques de détection et aussi par notre mode de vie et nos comportements à risques (nutrition, sédentarité, alcool, tabac,...¹²). Depuis les années 2000, le taux d'incidence du cancer chez l'homme est en légère baisse grâce à une diminution de la consommation d'alcool et de tabac, à contrario chez les femmes où l'augmentation du tabagisme les expose plus grandement au risque de développer un cancer lié au tabac. Les cancers de la prostate, du sein, le cancer colorectal et du poumon sont les cancers les plus fréquents¹³.

I-1-3 Traitements

Toutefois, le risque de décéder d'un cancer a diminué notamment grâce aux avancées en terme de diagnostic et de traitement. Aujourd'hui plusieurs thérapeutiques sont disponibles pour traiter le cancer : La chirurgie, la radiothérapie, la chimiothérapie, l'immunothérapie et l'hormonothérapie, misent en œuvre de manières successives ou complémentaires. Le traitement du cancer doit être adapté en fonction de chaque cas. La décision d'association est multifactorielle et s'effectue en fonction du type de cancer, de son extension, de l'état général du patient et de l'existence de comorbidités.

I-1-4 Classification

Les cancers sont divisés en deux classes : les cancers solides et les cancers liquides. Une néoplasie solide est constituée d'une masse cellulaire individualisée. On dénombre deux sous classes de tumeurs solides, les carcinomes ou adénocarcinomes et les sarcomes. Les premiers sont des cancers dérivant d'un épithélium comme la peau ou les poumons, et les seconds sont des cancers qui se développent à partir des

tissus conjonctifs des tissu mous (muscle, graisses,...). Les cancers de types solides représentent 90 % des cancers déclarés ¹⁴.

Les cancers liquides regroupent quant à eux l'ensemble des tumeurs touchant les cellules sanguines. On parle également dans ce cas de cancers hématologiques avec les leucémies, les lymphomes et les myélomes.

Il existe d'autres classifications : la classification TMN et la classification de stade d'évolution. La classification TNM (Tumor-Node-Metastasis) a été mise au point dans les années 1940 par le chirurgien français Pierre Denoix. Employée au niveau international aujourd'hui, elle permet d'estimer rapidement l'importance et l'étendu de la pathologie ¹⁵. La classification de stade d'évolution (on parle également de « *staging* ») se divise en 5 stades. Le stade 0 indique un cancer localisé. Le stade 1 désigne une tumeur de petite taille, localisée et sans extensions métastatiques. Le stade 2 indique une taille tumorale plus importante et un envahissement des ganglions lymphatiques proches. Pour le stade 3, la tumeur s'est développée au-delà de l'organe primaire et l'atteinte ganglionnaire est importante. Enfin le stade 4 désigne une tumeur extensive avec la présence de métastases. Grâce à ces éléments, il est plus aisé d'appréhender l'étendu du cancer pour un praticien et permet d'avoir un langage commun entre professionnels au niveau international.

I-2 Les nanotechnologies

Les nanotechnologies regroupent toutes les techniques, procédés et outils qui servent à l'utilisation de la matière à une échelle du nanomètre ¹⁶. Bien que les NPs soient de plus en plus étudiées, leur définition ne fait pas encore l'unanimité. Le tableau 1 reprend la définition d'une nanoparticule pour différentes organisations.

En général, les NPs sont des entités de taille de 1 à 100nm ¹⁷. Pourtant des objets de taille supérieure peuvent être nommés NPs. La limite supérieure de taille se définit plutôt vis à vis des propriétés physiques et chimiques de la NP plus précisément là où elles diffèrent de celles d'un même composé macroscopique. Ces

différences sont principalement dues au fait que le rapport surface/volume est très grand. Plus la taille de la NP est petite, plus la surface d'un système composé de NPs devient importante. Le comportement des atomes en surface, qui ont moins d'atomes semblables comme voisins, est alors très différent de ceux à l'intérieur d'une plus grosse particule où ils sont entourés d'atomes similaires.

Tableau 1 : Définition de nanoparticule selon différentes institutions

Nanoparticule	
ISO (International Organisation for Standardisation)	Une particule de taille de 1 à 100nm de diamètre
ASTM (Américan 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
BSI (British Standards Institution)	Toutes les dimensions ou diamètres sont de l'ordre du nanomètre
BAuA (Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin)	Toutes les dimensions ou diamètres sont de l'ordre du nanomètre

Les nanotechnologies ont un réel potentiel pour révolutionner de nombreuses procédures thérapeutiques afin de les améliorer, que ce soit au niveau de l'imagerie avec les points quantiques¹⁸ qu'au niveau thérapeutique avec la synthèse de

¹ Les nanocristaux de semiconducteurs, ou « quantum dots » (QDs) ou points quantiques, sont des nanoparticules fluorescentes dont l'émission est ajustable en fonction de leur taille et de leur composition, ce qui les rend très attractifs pour l'imagerie, l'affichage ou l'éclairage.

systèmes capables d'améliorer le délivrance tissulaire d'un agent thérapeutique. Plus particulièrement, elles permettent d'obtenir des solutions technologiques innovantes pour répondre à des problèmes médicaux récurrents essentiellement en terme de pharmacocinétique. Disposer de systèmes à l'échelle du nanomètre permet également d'agir directement à l'intérieur des cellules et d'obtenir des compétences totalement nouvelles. Cela est illustré par les NPs d'or et la résonance plasmonique de surface. Basée sur les oscillations collectives des électrons dans un métal, la résonance plasmonique de surface provoque sur les NPs d'or des différences de couleurs que ni l'or en vrac ni l'or atomique ne possèdent. Cette nouvelle propriété dépend directement de la taille des particules qui doivent se situer dans une distribution de grandeur très restreinte. Cette technique est notamment évoquée pour le traitement du cancer du sein via l'utilisation des NPs d'or¹⁹. On peut donc voir émerger des différences physiques, chimiques et biologiques dans les matériaux de taille nanométrique. Les nanomatériaux ont donc le potentiel de produire des nouvelles propriétés qu'elles soient optiques, électriques ou magnétiques. On pourra donc voir apparaître des nouvelles méthodes de diagnostics par exemple ou thérapeutiques via l'utilisation des propriétés magnétiques de ces systèmes.

Utilisé pour la première fois en 1995, ce terme de nanomédecine apparaît comme une solution thérapeutique notamment dans le cadre du traitement du cancer. Néanmoins l'idée d'un médicament qui serait acheminé de manière spécifique vers son site d'action émerge dès le début du XX^{ème} siècle par Paul Ehrlich, qui évoque le concept de «magic bullet », ou balle magique en français, symbolisant la trajectoire précise d'une balle vers son objectif²⁰. La plupart des médicaments présentent des propriétés physico-chimiques peu favorables au passage des barrières biologiques. L'arsenal thérapeutique du cancer est composé de molécules très efficaces mais aussi très toxiques et cette toxicité peut conduire à un arrêt de traitement.



Figure 1 - Billet de 200 Deutsche Mark à l'effigie de Paul Ehrlich.

« Pour utiliser la chimiothérapie avec succès, nous devons rechercher des substances qui ont une affinité pour les cellules des parasites et un pouvoir de les tuer plus que les dégâts causés par ces substances à l'organisme lui-même, de sorte que la destruction des parasites sera possible sans blesser sérieusement l'organisme. Pour ce faire, nous devons apprendre à viser les substances chimiques. »

Paul Ehrlich

Ainsi le développement des NPs pour le transport de principe actifs a permis au début des années 1970, de renforcer les performances des molécules antitumorales. Les travaux de Patrick Couvreur (UMR CNRS 8612, institut Galien Paris-sud) se sont orientés vers ce domaine. Les premiers essais ont eu lieu à la fin des années 70 dans le laboratoire du Professeur Peter Speicer à Zurich ²¹. Les nanomédecines vont permettre dans une application clinique, d'apporter les composés au niveau de la tumeur améliorant ainsi leur biodisponibilité ²². Dans le but de cibler le microenvironnement tumoral, les NPs peuvent être conçues pour se concentrer dans le tissu tumoral en utilisant les imperfections du réseau vasculaire irrigant la tumeur²³. D'autres techniques consistent à utiliser des ligands de ciblage pour augmenter la spécificité des systèmes.

L'académie des Sciences de Paris expose trois objectifs à l'utilisation de la nano-médecine :

- être de moins en moins toxique ;
- être plus spécifique de la cible thérapeutique à l'échelle du nanomètre ;
- obtenir des informations sur l'origine de la maladie ou sur le suivi thérapeutique à l'échelle du nanomètre.

Le développement de nano-vecteurs s'appuie non seulement sur les propriétés physico-chimiques apportées par l'échelle de taille de ces objets mais également par l'utilisation de nouveaux matériaux. Des liposomes aux micelles en

passant par les NPs polymériques et les nano-shells, trois générations de NPs sont utilisées, avec leurs avantages et leurs inconvénients, pour protéger un principe actif d'une éventuelle dégradation²⁴ (1ère génération), pour rendre furtif le principe actif (2^{ème} génération) mais aussi pour cibler spécifiquement le site d'action (3^{ème} génération) : « On peut aussi désormais modifier la surface de la NP pour lui permettre de se lier uniquement à certaines cellules malade, un peu comme une clé dans une serrure » (Patrick Couvreur) ²⁵.

Une recherche utilisant les deux mots clés « NP» et « l'oncologie » dans la littérature nous propose des milliers d'articles publiés (14540 articles, PudMed). Toutefois, seulement quelques-uns d'entre eux ont proposés des systèmes approuvés en clinique ²⁶. Plusieurs éléments sont responsables de cette situation comme le manque de connaissance sur les caractéristiques de la NP idéale, des modèles in vivo peu représentatifs des cas cliniques, des systèmes complexes qui sont coûteux mais aussi une certaine peur vis-à-vis des nano-objets et de leur devenir²⁷. Pourtant, selon une étude de la société Bionest Partners en 2011, le marché des nano-médecines, toutes disciplines confondues, était estimé à environ 60 milliards de dollars pour croître entre 97 et 130 milliards de dollars en 2016⁹.

La chimiothérapie anti-cancéreuse est une technique non sélective, tout comme la radiothérapie. En d'autres termes ces dernières détruisent les cellules tumorales comme les cellules saines, impliquant des effets secondaires parfois importants. Les cellules cancéreuses peuvent également développer une résistance aux principes actifs utilisés rendant la chimiothérapie inefficace. Les limites des traitements actuels et l'émergence des nanomédecines ont entraîné le développement de nombreux traitements alternatifs potentiels. Ainsi les traitements à bases de NPs ont un avenir prometteur dans la thérapie anticancéreuse en permettant de diminuer les effets secondaires, d'augmenter l'efficacité d'un traitement conventionnel ²⁷, ou encore le traitement des expansions métastatiques grâce à leur temps de circulation plasmatique prolongé²⁸.

II-Les nanoparticules

II-1 Généralités

II-1-1 Définition

Comme indiqué précédemment, une NP est un assemblage moléculaire formant une entité d'une dimension comprise entre 1 et 100 nm ²⁹. Selon certains auteurs, une autre définition qualifie de NP, un arrangement d'atome dont au moins une des dimensions se situe à l'échelle du nanométrique ; on parle de nano-objets ³⁰. Néanmoins, du point de vue physique, ces définitions ne sont pas validées. Leurs propriétés doivent être différentes de celles des objets micrométriques. En effet une entité de plusieurs centaines de nanomètres pourrait appartenir à l'échelle du micromètre mais la modification de ces propriétés physiques en fait néanmoins un nano-objet : des nanotubes de carbone (NTC), bien que d'un diamètre nanométrique, peuvent atteindre une longueur de l'ordre du millimètre.

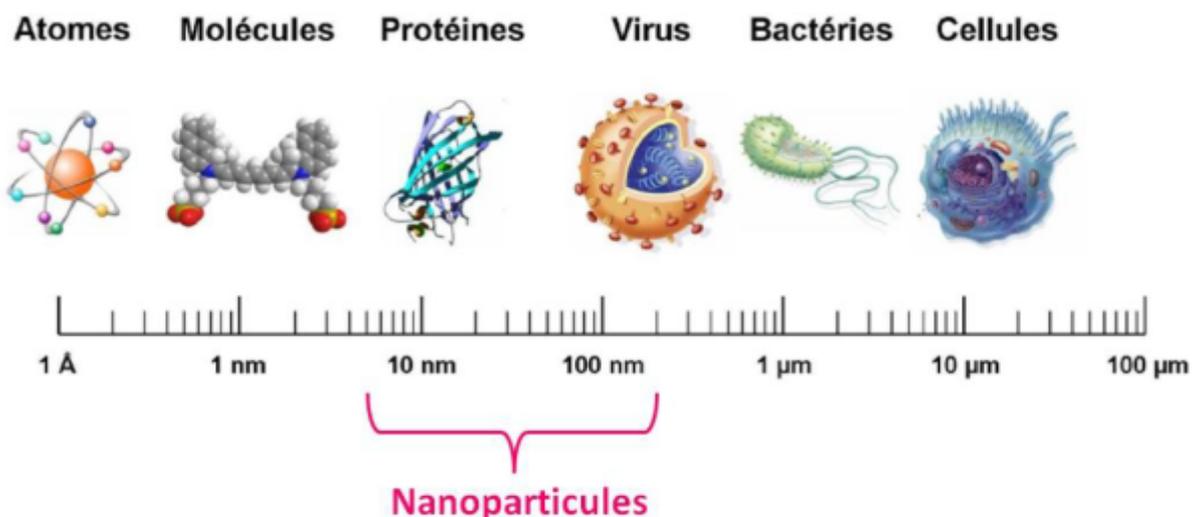


Figure 2 : Echelle comparant les NPs à l'atome et à des structures de l'ordre du micromètre.

II-1-2 Intérêt

Actuellement la grande majorité des nouvelles molécules arrivant sur le marché possèdent des propriétés pharmacocinétiques qui limitent le ciblage des cellules tumorales ³¹. L'absorption de ces principes actifs est souvent faible et la dégradation, la métabolisation et l'élimination sont importantes diminuant ainsi leur capacité à atteindre leur site d'action. L'utilisation de vecteurs de type nanoparticulaire apporte une solution nouvelle pour obtenir une concentration efficace au sein du tissu cible en diminuant les actions sur les cellules saines de l'organisme et donc les effets toxiques potentiels des molécules. Les propriétés des nano-objets leur donnent l'avantage de former dans un premier temps des solutions homogènes avec une sédimentation réduite (exemple des NPs lipidiques ³²) et dans un second temps de pouvoir esquiver les défenses de l'organisme, par leur taille, mais aussi de pouvoir cibler plus particulièrement des populations cellulaires.

II-1-3 Applications

Le principe de vectorisation s'applique essentiellement aux molécules chimiques (*Drug Delivery*) mais peut aussi être utilisé pour d'autres agents thérapeutiques comme les peptides et les acides nucléiques. On retrouve aussi des utilisations dans le domaine du diagnostic ³³, de la photothérapie ^{34,35} ou de la radiothérapie ³⁶. Dans chaque cas, les nanovecteurs permettent de transporter les agents thérapeutiques, des agents de diagnostic, des sources radioactives ou des photosensibilisateurs dans une zone cible pour diminuer l'impact de ces agents sur l'organisme.

En fonction du type de NPs (cf. II-2), leur application sera différente. Les particules inorganiques pourront être utilisées pour de la thérapie ou du diagnostic via leurs propriétés intrinsèques alors que les particules organiques, où l'on n'observe pas ces propriétés, joueront un rôle de protection et de transporteurs.

II-2 Les différents types de nanoparticules

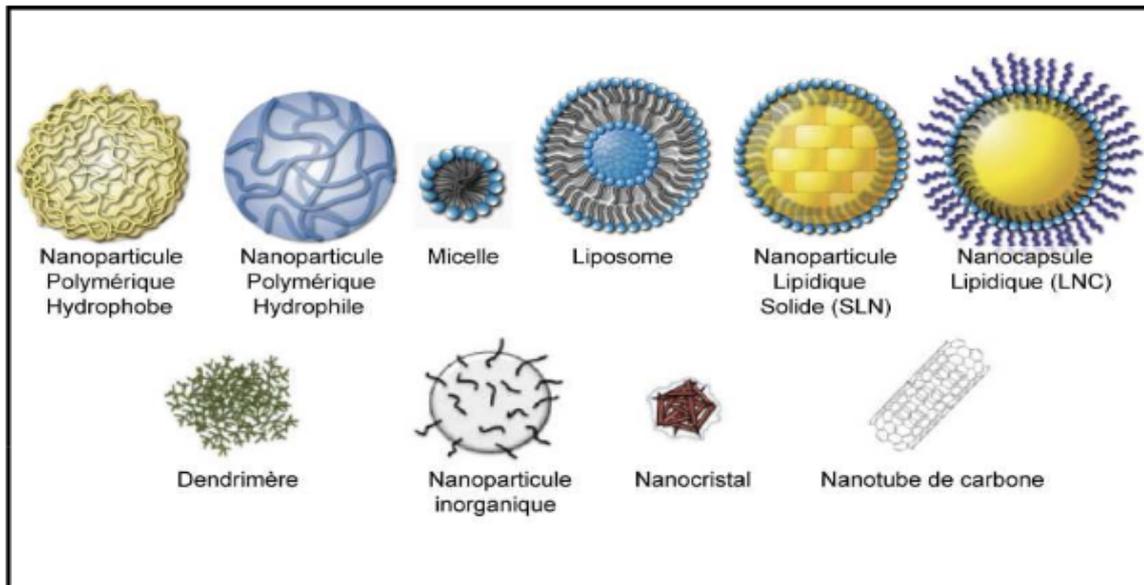


Figure 3 : Les Différents types de NPs utilisées en recherche. D'après Faraji, Wipf 2009 et Kabanov, Vinogradov 2009³⁷

II-2-1 Les liposomes et micelles

Systèmes vésiculaires sphériques, les liposomes s'étendent de quelques dizaines à plusieurs milliers de nanomètres de diamètre. Ils se composent d'une ou plusieurs bicouches de phospholipides qui renferment un ou plusieurs compartiments aqueux. Décrit pour la première fois en 1960 par Bangham, leur première utilisation fut celle de modèle membranaire pour l'étude et la caractérisation des membranes biologique comme la fluidité, la perméabilité ou la fusion inter-membranaire^{38,39}. Plus tard, l'industrie cosmétique les a employés comme vecteurs de substances et l'industrie pharmaceutiques comme vecteurs de médicaments ou supports de vaccins^{40,41}. La large utilisation de ce système est résolument due à ses capacités d'encapsulation⁴². En effet, un liposome est capable (1) d'internaliser des agents hydrophiles comme hydrophobes avec une grande efficacité, (2) d'agir comme un bouclier protecteur vis à vis des conditions extérieures, (3) d'être fonctionnalisé à sa surface et enfin (4) d'être biocompatibles et biodégradables. Les liposomes sont devenus les premiers nano-médicaments à

arriver sur le marché avec l'approbation du Doxil[®] (doxorubicine liposomale) au milieu des années 1990 dans les indications sarcome de Kaposi, cancer de l'ovaire et myélome multiple⁴³. Depuis, il y a eu un nombre croissant d'essais sur ce type de formulations⁴⁴.

Dans de nombreux cas, l'emploi d'un support de médicament approprié peut réduire la toxicité en modifiant la distribution temporelle et spatiale d'un médicament dans l'organisme. Actuellement, 10 systèmes de structure liposomale combinées avec un principe actif sont disponibles commercialement dans une ou différentes indications⁴⁵. En plus d'être biocompatible, les liposomes ont en commun une structure qui leur donne la possibilité d'intégrer des médicaments à la fois hydrophiles et hydrophobes^{46,47}. L'encapsulation d'un médicament dans la bicouche lipidique assure la protection contre les phénomènes naturels, tels que la dégradation enzymatique, la reconnaissance immunologique ou l'inactivation chimique⁴⁸. Le médicament sera ainsi moins métabolisé avant d'attendre le tissu cible et on observera une minimisation de l'exposition du tissu sain à la drogue. Ces deux effets contribuent à augmenter l'indice thérapeutique. Toutefois, les propriétés structurales de la bicouche lipidiques n'empêchent pas leur reconnaissance par les cellules mononuclées phagocytaires constituant le MPS (*Mononuclear Phagocytic System* anciennement appelé système réticulo-endothéliale) et donc d'une élimination importante de ce transporteur par ces cellules. C'est pourquoi d'autres systèmes ont été développés et semblent intéressants⁴⁹. Les micelles semblent ainsi pouvoir apporter des avantages pour remédier aux limites des liposomes.

Les micelles polymériques sont composées de polymères amphiphiles auto-assemblés⁵⁰. Leurs propriétés permettent de véhiculer des molécules hydrophobes. Vis à vis des liposomes, les micelles sont plus petites. Leur taille oscille entre 5 et 100 nm⁵¹. Leur structure permet de stabiliser la NP et d'améliorer la biocompatibilité et la protection du principe actif⁵⁰. Nombre de ces NP émergent dans les études cliniques avec des résultats notables comme l'étude de phase II BIND-014 qui s'intéresse à la

sécurité et l'efficacité d'une suspension de micelles nanoparticulaires pour vectoriser le Docetaxel, un agent antimitotique, dans les indications cancer de la prostate et cancer bronchique non à petite cellules⁴⁴. Seulement les résultats de la phase I sont publiés à l'heure actuelle. Ils présentent une bonne tolérance du traitement avec un profil pharmacocinétique unique par rapport au traitement conventionnel⁵².

A ce jour, l'utilisation des micelles en tant que vecteurs de médicament dans le traitement des cancers est très prometteuse.

II-1-3 Les nanoparticules polymériques

En 1979, Couvreur *et al.* mettent au point les premières NPs polymériques à base de poly-(alkyl-cyanoacrylates)²². Depuis, cette catégorie de NPs a attiré une attention croissante, plus particulièrement au cours de ces dernières années. Largement utilisés comme vecteurs d'agents thérapeutiques administrés par voie intraveineuse, comme le paclitaxel, l'intérêt des polymères, qu'ils soient d'origine synthétique, semi-synthétique, ou naturelle, réside dans leur biodégradabilité et dans leur facilité d'obtention et/ou de modifications, sans perte des propriétés physiques et chimiques. Ils émergent donc comme des outils intéressants pour la délivrance de médicaments puisque leurs produits de dégradation ne sont pas toxiques ou sont totalement éliminés de l'organisme. Par exemple le poly(acide lactique-co-glycolique) (PLGA) a été approuvé par la FDA puisqu'il est dégradé sous forme de dioxyde de carbone et d'eau⁵³.

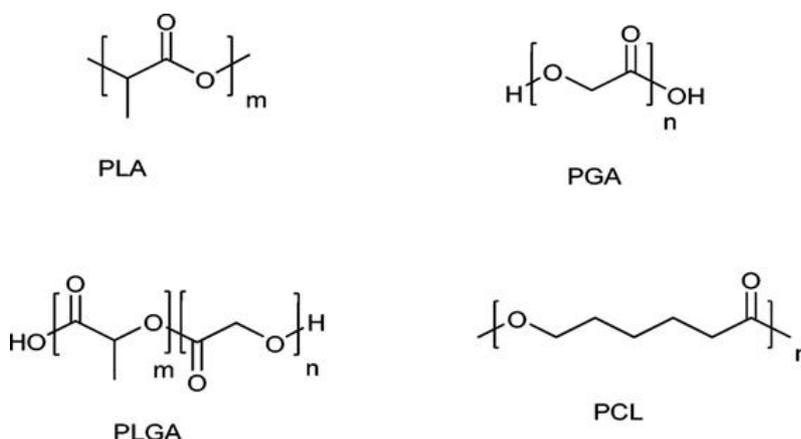


Figure 4 : Polymères biodégradables couramment utilisés dans l'application de délivrance de médicaments, d'après (Kamaly et al. 2012) [1]. PLA : poly (lactic acid) ; PGA : poly(glutamic acid) ; PLGA : poly(D,L-lactic-co-glycolide).

Ces systèmes ont démontré une activité thérapeutique accrue, une toxicité amoindrie, un prolongement de la bioactivité et enfin une augmentation de l'observance des patients grâce à la diminution des fréquences⁵⁴. Leur structure est basée sur un auto-assemblage de copolymères plus ou moins hydrophiles⁵⁵. Ils forment des entités sphériques et rigides. Il en existe deux types : les nano-sphères et les nano-capsules⁵⁶. Au sein des nano-sphères, le médicament est dispersé dans l'intégralité de la structure alors que dans la nano-capsule il est intégré dans un fluide de type huileux situé au centre de la capsule. Cependant de nombreux défis restent à relever comme la libération prématurée de la molécule d'intérêt. Cet inconvénient est l'un des principaux obstacles à une délivrance spécifique au site cancéreux. Un autre inconvénient réside dans l'utilisation de solvants organiques lors du processus de synthèse, ce qui peut se traduire par l'apparition de cytotoxicité⁵⁷.

II-1-4 Les Nanoparticules inorganiques

Ce type de NPs correspond à des NPs métalliques. Les principaux métaux rentrant dans leur constitution peuvent être le titane, l'oxyde de fer ou encore l'or⁵⁸. Si elles sont peu utilisées comme transporteurs de médicaments, ces NPs trouvent grâce dans le domaine de l'imagerie par résonance magnétique comme agent de contraste⁵⁹. Ainsi, les NPs d'oxyde de fer et d'oxyde de fer super paramagnétiques (SPIO) sont aujourd'hui très exploitées en tant qu'agent de contraste négatif en IRM. Elles permettent en effet d'améliorer la résolution de cette technique d'imagerie médicale et ainsi le diagnostic⁶⁰. Par ailleurs, certains de ses systèmes combinent actuellement l'amélioration du contraste en IRM avec le transport de composés thérapeutiques et constituent les NPs théranostiques⁶¹. Par exemple, le méthotrexate lié de façon covalente à des NPs de fer de type USPIO (*ultrasmall superparamagnétique iron oxyde*) associe le ciblage à de l'imagerie avec sa capacité à délivrer le principe actif en intracellulaire⁶². Bien que ces systèmes métalliques se développent énormément en ce moment, la majorité des matériaux approuvés par

les autorités sont indiqués dans le traitement d'une carence ferrique comme le Venofer® ou le Dexferrum®.

Les NPs d'or sont certainement les particules métalliques les plus étudiées car elles présentent les propriétés chimiques et physiques les intéressantes comme une gamme de taille adaptable de 2 à 200nm et une modification de surface simple permettant un ciblage spécifique. Ainsi certaines chimiothérapies comme les dérivés des sels de platine ont vus leur toxicité diminuée et leur cytotoxicité augmentée par un assemblage sur des NPs d'or⁶³.

II-1-5 Les nanotubes de carbone

Les nanotubes de carbone, découvert en 1991, sont des cylindres creux de feuilles de graphène, cristal de carbone formant le graphite⁶⁴. C'est le nombre de couches de ce cristal qui définit le nanotube comme monoparois SWNT ou multiparois MWNT⁶⁵. Ces NTC couvrent de multiples domaines comme la nanoélectronique ou la construction aéronautique. L'un des principaux inconvénients des NTC dans leur utilisation médicale est leur manque de solubilité dans les milieux aqueux. Une fonctionnalisation de surface avec différentes molécules hydrophiles permet toutefois d'améliorer leur solubilité et ainsi leur biocompatibilité⁶⁶. Cette biocompatibilité structurale a aussi permis d'étendre leur utilisation à la médecine avec les nano-capteurs pour la détection, des molécules biologiques par exemple, mais aussi à la vectorisation de médicaments grâce à leur forme creuse⁶⁷. Avec un diamètre de quelques nanomètres pour les SWCNT jusqu'à 100 nm pour les MWCNT associées à des longueurs variables, les NTC peuvent se comporter différemment des NPs sphériques étudiées jusqu'à maintenant. Un autre obstacle important est la toxicité des NTC notamment par leur taille⁶⁸. Les particules de moins de 100 nm ont des propriétés potentiellement nocives comme des effets tératogènes⁶⁹. Malgré ces inconvénients, la spécificité de surface et la structure des NTC font de ce type de NP des candidats intéressants pour la vectorisation de médicaments. En effet, intégré au sein du cylindre, le principe actif serait protégé et pourrait atteindre le secteur

intracellulaire tumorale, inaccessible pour la molécule libre, grâce aux différents mécanismes d'endocytose que proposent les NTC (Endocytose, diffusion passive,...). A noter que les NTC sont utilisés en imagerie médicale avec l'avantage de ne pas entraîner de fluctuation de spectre de fluorescence, contrairement aux NPs et aussi utilisés dans le traitement thermique du cancer pour les WMCNT⁷⁰.

III- La vectorisation nanoparticulaire

III-1 Définition

Une grande majorité des chimiothérapies anti-cancéreuses utilisées aujourd'hui sont administrées chez l'homme soit par voie orale ou par voie parentérale (injection intramusculaire, sous-cutanée ou intraveineuse) en fonction de leurs propriétés. D'une voie d'administration à l'autre, la pharmacocinétique, terme désignant l'étude du devenir du médicament dans l'organisme, peut être modifiée. Aussi, la quantité finale de molécules actives atteignant son site d'action correspond généralement à une très faible proportion de la dose administrée. De plus, il existe une déperdition de ces drogues dans les tissus sains environnants qui sera responsable d'effets secondaires indésirables. C'est pourquoi l'administration de médicaments est ajustée en fonction des paramètres pharmacocinétiques de chaque molécule et adaptée en fonction de la balance bénéfices/risques par les autorités en vigueur. Il existe à l'heure actuelle d'autres voies d'administration, qualifiée de locales, comme les topiques dermiques, les sprays ou les collyres ophtalmiques, permettant une application directe sur le site d'intérêt. Cette approche est néanmoins utilisable que dans certains cas où les tissus peuvent être facilement accessibles.

La vectorisation constitue une approche prometteuse pour pallier aux problèmes de biodistribution des médicaments⁷¹. La mise en jeu de vecteurs, qu'ils soient de types particuliers (NPs, liposomes...), moléculaires (polymères, anticorps conjugués,...) ou issus du vivant (virus, bactéries, hématies...), permet de transporter des molécules thérapeutiques sur leur site d'action tout en épargnant le ciblage des tissus sains. En effet, la vectorisation est la combinaison d'une molécule active avec un transporteur. Le principe actif se trouve alors protégé par son transporteur puis

délivré préférentiellement sur son site d'action. Ainsi, les concentrations et la fréquence d'injection seront diminuées améliorant donc la tolérance au traitement.

III-2 Les générations de vecteurs nanoparticulaires

Il existe plusieurs types de vecteurs nanoparticulaires, avec des évolutions particulières qui ont donné naissance à trois générations de vecteur (Figure 5). La première génération présente la structure la plus simple (Figure 5). Ils ont comme cible préférentielle le système hépatique car ils sont captés par les macrophages du foie et vont ainsi pouvoir être particulièrement efficaces pour apporter des médicaments dans ce tissu⁷². Contrairement aux vecteurs de première génération, les vecteurs de seconde génération ne sont pas captés par le foie grâce à des techniques de furtivité évitant ainsi l'opsonisation et la reconnaissance par le système immunitaire (Figure 5). Ainsi, la métabolisation du principe actif sera ralentie. Leur temps de rétention augmenté dans la circulation sanguine leur permet d'atteindre d'autres tissus pour y apporter de façon plus sélective le médicament⁷². La dernière génération de vecteur a été conçue pour améliorer cette sélectivité après avoir échappé au système hépatique (Figure 5). Grâce à des fonctionnalisations de surface, le vecteur pourra même cibler des compartiments cellulaires spécifiques et apporter le principe actif à un endroit précis⁷³.

Nous prendrons l'exemple du liposome, une structure vésiculaire biodégradable décrite précédemment. Le liposome est formé 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.

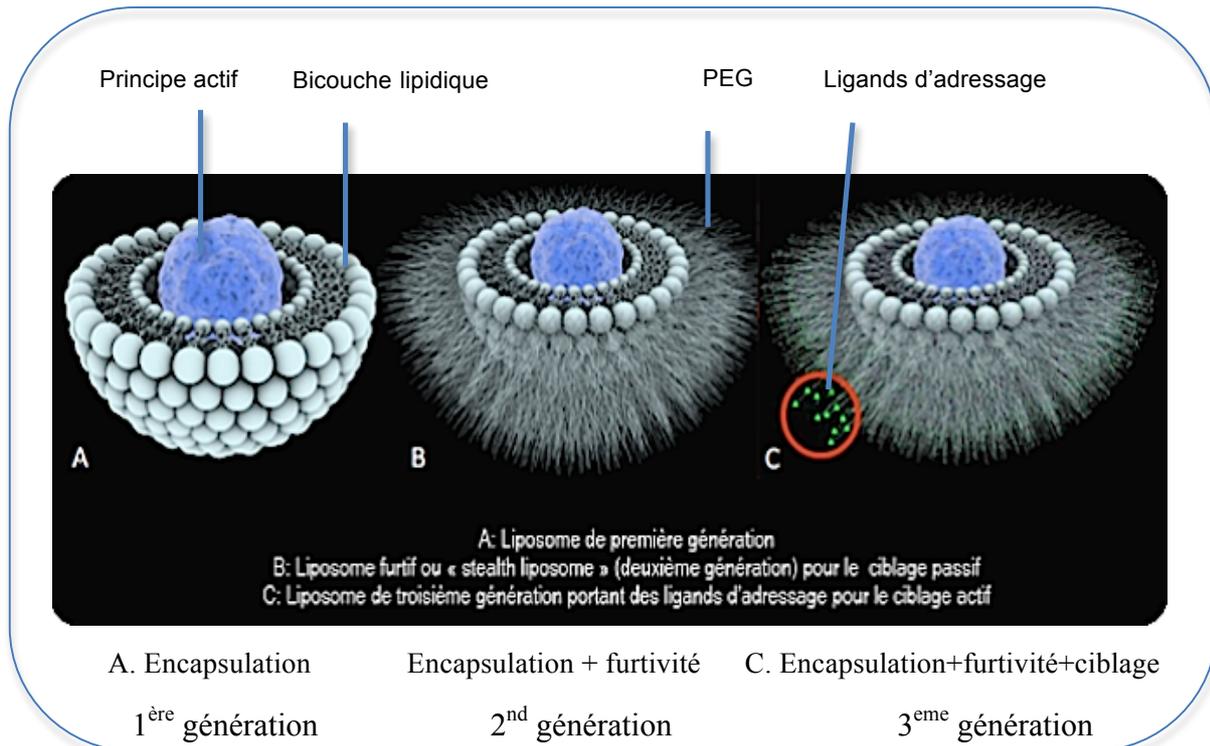


Figure 5 : schéma de l'évolution des NPs, l'exemple du liposome

Le liposome de première génération contient uniquement la molécule active au sein de sa structure. Lorsqu'il est injecté dans la circulation sanguine, ce vecteur déclenche une réaction immunitaire avec une activation des cellules de Kupffer, qui vont ensuite internaliser ce liposome. Ces macrophages vont détruire le liposome et donc libérer la molécule qui sera en mesure d'atteindre les cellules hépatiques avoisinantes (65).

Le liposome de seconde génération est surnommé furtif. Il doit cette propriété au nouveau composant intégré à la structure : le polyéthylène glycol (PEG). Ce polymère hydrophile diminue l'opsonisation par interaction hydrophobe en bloquant l'adsorption des protéines à sa surface. Les macrophages ne vont pas reconnaître ce liposome pégylé qui pourra circuler dans le système vasculaire. Le ciblage au niveau du tissu tumorale s'effectue ensuite par le phénomène de perméabilité et de rétention accrue (EPR) qui favorise le passage des petites structures à travers la

membrane vasculaire jusqu'au sein du tissu. Le ciblage est dans ce cas décrit comme passif car il est permis par les caractéristiques spécifiques du tissu ²³.

Enfin avec le liposome de troisième génération, un troisième composant rentre en jeu dans la structure. Il s'agit de ligands se fixant spécifiquement sur les cellules cancéreuses via des récepteurs de surface ⁷⁵. Ils sont considérés comme les plus évolués des liposomes. Les récepteurs fixés en surface vont permettre un ciblage actif et sélectif du tissu cancéreux visé, on parle d'adressage moléculaire.

III-3 Les stratégies de ciblage

III-3-1 Le ciblage passif

En général, l'administration d'agents thérapeutiques anticancéreux à bases de NPs se base sur l'effet de perméabilité et de rétention accrue (*EPR, Enhanced Permeability and Retention*) décrit en 1986 par Maeda ²⁰. Cette stratégie vise plus particulièrement à améliorer l'efficacité et la tolérance du médicament par des modifications de sa pharmacocinétique et de sa biodistribution.

La structure vasculaire de l'environnement tumoral est décrite comme défectueuse et anarchique⁷⁶. On voit donc apparaître des liaisons intercellulaires au niveau de l'épithélium vasculaire, qui sont lâches laissant apparaître des lacunes (figure 6). Ces brèches situées le long de la paroi vasculaire permettent l'extravasation des NPs préférentiellement à ce niveau, associée à une rétention à long terme des nanosystèmes favorisée par un drainage lymphatique fortement diminué²³. Les composés thérapeutiques de taille adaptée, ne dépassant pas celle des pores des vaisseaux perméabilisés (380 et 780nm)⁷⁷, peuvent donc traverser l'endothélium vasculaire et s'accumuler dans le tissu tumoral jusqu'à des concentrations 50 fois supérieures à celles obtenues dans les tissus sains.

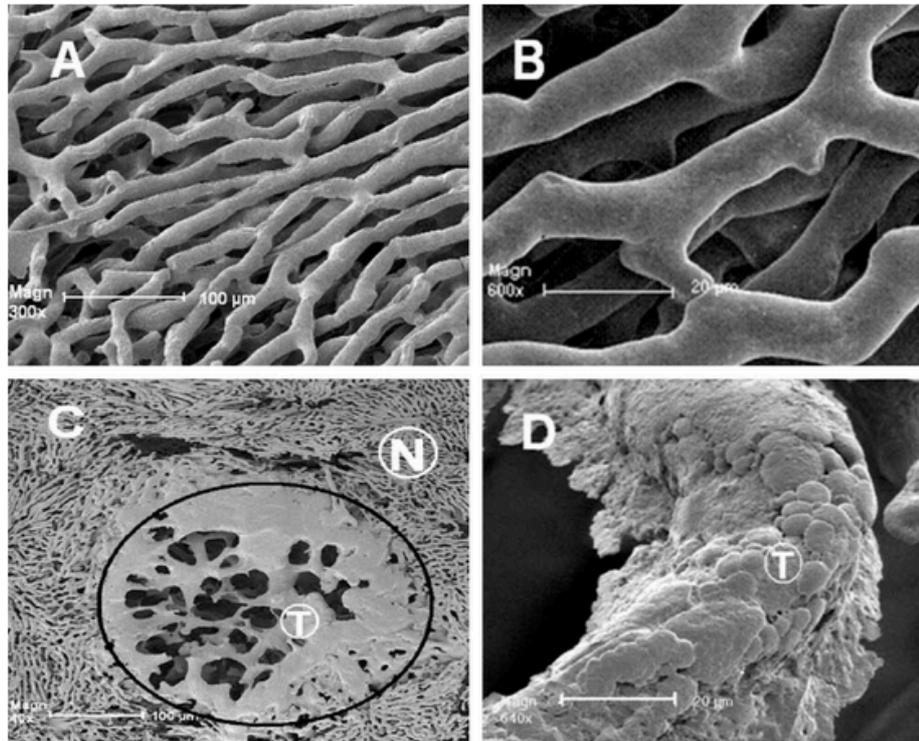


Figure 6 : Microscopie électronique à balayage des vaisseaux sanguins de tissus normaux (foie)(A et B) et de nodules tumoraux hépatiques (C et D) d'après Maeda, Bharate, and Daruwalla, "Polymeric Drugs for Efficient Tumor-Targeted Drug Delivery Based on EPR-Effect."²⁰

Pour que ce phénomène soit maximal, les composés utilisés ne doivent pas s'agréger, être stables et furtifs pour que leur temps de circulation dans l'organisme soit suffisamment long²³.

Pour se développer et survivre, la structure tumorale consomme un nombre important de nutriments. Pour en être capable elle doit se prémunir d'un réseau vasculaire suffisamment important pour ses besoins. Cette angiogenèse apparaît dès les premiers temps de la formation tumorale grâce notamment à la sécrétion de facteurs pro-angiogéniques de façon à développer un réseau nommé l'hypervasculature. Le facteur le plus étudié est le VEGF (*Vascular endothelial growth factor*, facteur de croissance de l'endothélium vasculaire). Ce facteur est particulièrement intéressant car il joue un rôle dans la croissance tumorale. De nombreux travaux de recherche ont permis de développer des anti-VEGF pour

inhiber la croissance tumorale⁷⁸. Dans les années 80, beaucoup d'études ont montré l'importance centrale du VEGF en tant que facteur de croissance vasculaire (invasion, migration, survie et activation) mais aussi en tant que facteur de perméabilité vasculaire⁷⁹⁻⁸¹. Notons également que d'autres médiateurs vasculaires peuvent également faciliter l'effet EPR comme les bradykinines, l'oxyde nitrique, les prostaglandines et l'enzyme de conversion⁸².

A côté de l'augmentation de la perméabilité des vaisseaux tumoraux, on observe une diminution du drainage lymphatique. La circulation lymphatique assure l'équilibre hydrique de l'organisme avec la fonction de drainage des produits du métabolisme cellulaire et aussi un rôle de défense contre les affections microbiennes notamment. Les composés plasmatiques qui normalement seraient drainés par ce réseau, se retrouvent bloqués dans l'espace péri-vasculaire de la tumeur où ils vont s'accumuler.

Actuellement, l'effet EPR est une base de nombreux systèmes de vectorisation à ciblage passif. Cependant plusieurs mises en garde sont à prendre en compte. Il a été décrit que pour une tumeur solide en croissance, à partir d'un certain stade on observe une perte de la densité vasculaire avec l'apparition d'une zone hypoxique centrale, parfois une ischémie et un espace nécrotique. Cette zone devient donc peu accessible aux NPs. En outre, un gradient de pression négatif présent aux niveaux des interstices de la tumeur peut limiter l'arrivée des NPs dans l'espace extravasculaire⁸³. Notons que la plupart des études de cet effet ont été réalisées sur des modèles tumoraux de rongeurs pour lesquels les tumeurs se développent beaucoup plus rapidement que chez l'homme. L'effet EPR est donc beaucoup plus prononcé dans les modèles tumoraux de rongeur. Des améliorations ont pu être mises en place chez l'homme en vue de meilleurs résultats comme par exemple l'utilisation de nano-vecteurs chargés en agents d'imagerie pour déterminer avant traitement et au cas par cas si l'effet EPR peut être exploité²⁷. Des traitements enzymatiques à base de collagénases ou de hyaluronidases⁸⁴ peuvent aussi être utilisés pour augmenter la

perméabilité des vaisseaux ou encore des agents anti-inflammatoires. Toutefois ces traitements présentent le désavantage d'augmenter le risque de dissémination du cancer via le développement accru de métastases ⁸⁵.

III-3-2 L'intérêt de la pégylation

La modification du système vectoriel peut aussi être une solution pour améliorer le ciblage passif par l'effet EPR. Comme indiqué ci-dessus, les NPs doivent pouvoir circuler longuement dans le sang pour exploiter au maximum l'effet de rétention et de perméabilité présent au niveau tumoral. Ainsi pour éviter les phénomènes d'opsonisation et d'élimination expliqués précédemment, une propriété de furtivité peut être conférée aux NPs via une fonctionnalisation de surface grâce à des polymères hydrophiles tels que les PEG ⁸⁶. Cette technique déjà bien connue dans d'autres domaines a été utilisée pour la première fois en 1977 pour diminuer le caractère immunogène de l'albumine, procédé décrit par Abuchomski et al. ⁸⁶. L'Adagen® (Pégademase bovine)(Orphan Europe) est la première molécule approuvée par la FDA en 1990 qui utilise cette technique dans le traitement des déficits immunitaires combinés sévères associés à un déficit en adénosine déaminase ADA ⁸⁷.

A l'heure d'aujourd'hui, on recense 11 molécules pégylées approuvées par la FDA ⁸⁸. Dans l'exemple du liposome, la pégylation permet de multiplier par 8 le temps de demi-vie de cette structure, passant de 2,5 h à environ 20h ⁸⁹. Les molécules de PEG vont empêcher les interactions avec de nombreuses protéines du sang par encombrement stérique⁹⁰. Ce procédé favorable à une meilleure pharmacocinétique des molécules serait cependant exposé à un autre effet physiologique appelé l'effet ABC pour « *Accelerated Blood Clearance* » ^{91,92}.

Dans deux modèles animaux différents, après une première injection de molécules pégylées, les auteurs ont observé une production d'anticorps spécifiques

anti-PEG de type IgM au niveau de la rate^{91,93}. Ainsi lors de la seconde injection, les IgM produites vont complexer les groupements PEG et activer leur élimination. Cet effet n'est plus ou peu visible à partir de la troisième injection et ne concerne peu ou pas les vecteurs chargés en cytotoxiques^{91,93}.

Toutes ces limites associées au ciblage passif des tissus tumoraux ont entraîné un intérêt grandissant pour d'autres approches et plus particulièrement celle du ciblage actif.

III-3-3 Le ciblage actif

Le ciblage actif ou « *active targeting* » implique l'utilisation de ligands capables de se lier à des récepteurs spécifiques, pour cibler les NPs sur le tissu d'intérêt. De nombreux travaux scientifiques ont mis en évidence des cibles spécifiques d'un type de cellules au cours de ces dernières décennies. C'est cette identification de marqueurs qui permet maintenant d'appréhender le ciblage actif. Des ligands sont fixés soit aux nano-assemblages soit aux agents thérapeutiques pour les orienter vers les cellules cibles exprimant le récepteur spécifique⁹⁴. Le choix du marqueur biologique est donc primordial pour assurer la spécificité du système. Il doit répondre à différents critères. Tout d'abord, la cible doit être exprimée à la surface des cellules ciblées pour être accessible. Elle doit être spécifique du tissu ciblé, voir surexprimée par celui-ci lorsqu'un ligand de forte affinité est disponible. Un exemple de ligand est illustré par les anticorps monoclonaux dirigés contre des antigènes tumoraux. Le ZEVALIN®(Schering S.A.) est l'exemple d'un vecteur utilisant le ciblage actif à base d'anticorps monoclonaux. L'Yttrium 90, radio-isotope, est fixé à un anticorps monoclonal spécifique de l'antigène CD20⁹³. Ce médicament est indiqué dans le traitement des patients atteints d'un lymphome non hodgkinien à cellules B CD20 positif⁹⁴. Dans le cas de cette pathologie on observe une augmentation des cellules B exprimant l'antigène CD20. L'anticorps monoclonal fixe préférentiellement son récepteur et apporte donc l'isotope au plus proche pour agir sur la cellule cancéreuse. Outre les anticorps, on trouve aussi comme types de ligands, les

fragments d'anticorps, des peptides, des acides nucléiques ou encore des vitamines

95

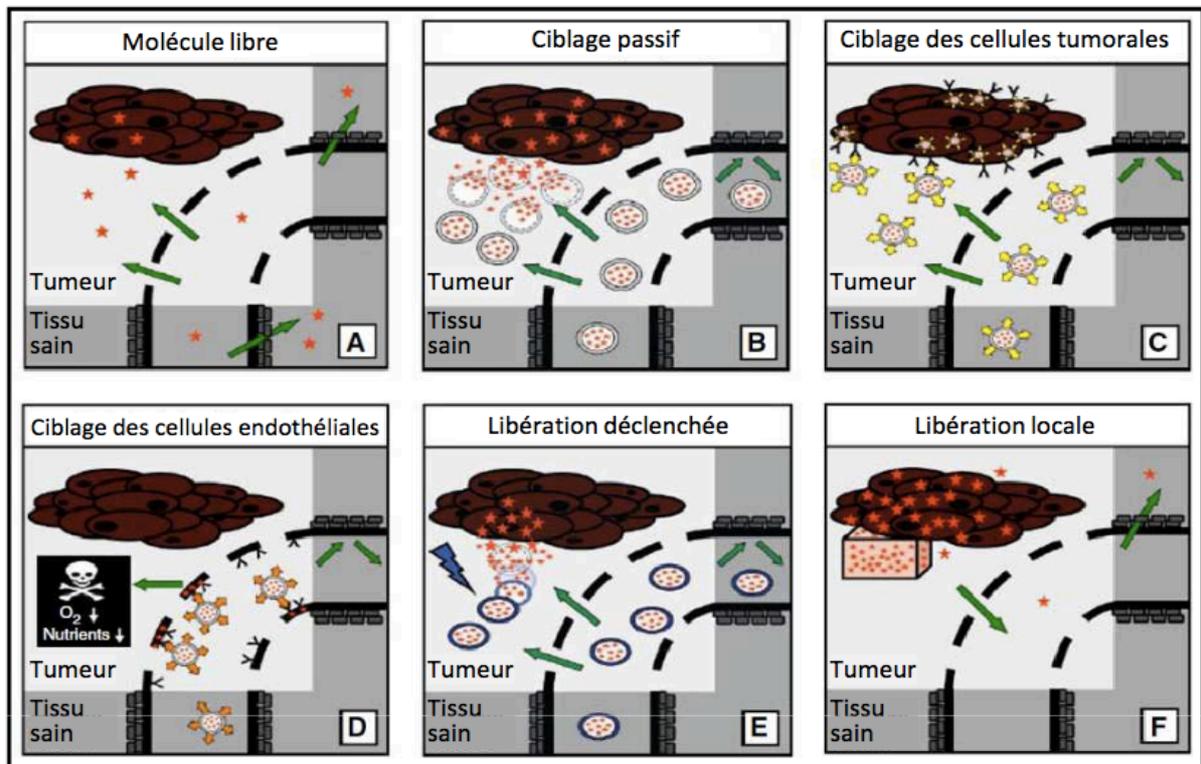


Figure 6 : Stratégies de ciblage tumoral, d'après Lammers et al. ²⁵

- A) Molécule libre retrouvée après injection en quantité semblable dans le tissu tumorale et le tissu sain.
- B) Stratégie de ciblage passif de molécules via un vecteur dans les cellules tumorale.
- C) Stratégie de ciblage actif de molécules par vecteur fonctionnalisé pour des récepteurs surexprimés par les cellules tumorales.
- D) Stratégie de ciblage actif de molécules par vecteur fonctionnalisé pour des récepteurs surexprimés par les cellules endothéliales ; réduction de l'apport en oxygène au tissu tumoral.
- E) Stratégie de ciblage actif associée à des structures nano-sensibles permettant une libération du principe actif.
- F) Système de libération prolongée implanté a proximité de la tumeur.

Depuis lors, de nombreux anticorps thérapeutiques ont été développés dans le traitement du cancer comme l'anticorps monoclonal humanisé trastuzumab (HERCEPTIN®) indiqué dans le traitement du cancer du sein, liant l'antigène HER2⁹⁶. Ces différents anticorps peuvent être liés à des radio-isotopes, à des médicaments ou à des NPs pour améliorer leur actions ou celle de la molécule liée.

III-3-3-1 Les agents de ciblage

Les ligands de ciblage sont par définitions des molécules capables d'identifier un récepteur spécifique. Comme décrit précédemment, le choix du ligand est primordial pour l'efficacité du ciblage actif. Les anticorps sont les agents les plus utilisés pour cette stratégie pour leur fort degré de spécificité et leur production devenue commune.

a. Les anticorps et fragments d'anticorps

Les anticorps sont des glycoprotéines de la superfamille des immunoglobulines. Ces molécules présentent une structure schématique commune en forme de « Y ». Elle se décompose en 4 chaînes polypeptidiques : 2 chaînes lourdes identiques et 2 chaînes légères identiques. Chacune de ces chaînes sont composées d'une région variable, qui forme le site de liaison à l'antigène, et d'une région constante. Différents types de fragments d'anticorps peuvent être obtenus par clivage enzymatique. La digestion de la molécule d'anticorps par la papaine libère 2 types de fragments : 2 Fab (*Fragment antigen binding*) et le fragment Fc (Fragment cristalisable)(figure 8). Le fragment Fc, très proche d'un anticorps à l'autre caractérisant l'espèce et l'isotype, peut interagir avec des récepteurs appelés FcR ou avec le complément. Les fragments Fab sont monovalent pour un antigène. La digestion par la pepsine forme quant à elle le fragment Fc précédemment cité et un fragment F(ab)₂ bivalent pour l'antigène.

La liaison d'un anticorps avec son antigène est la résultante de l'association entre le paratope et l'épitope. Cette réaction est spécifique et nécessite une bonne complémentarité stérique entre les deux sites réactifs. L'utilisation de ce type ligand a fait apparaître de nombreux défis et limites puisqu'ils ont une taille (environ 150 kDa) et une immunogénicité importante⁹⁸.

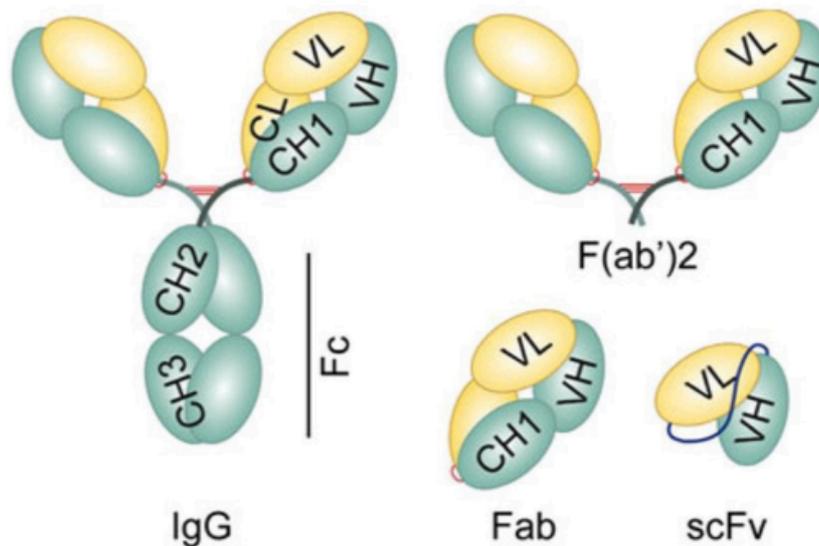


Figure 8 : Structure de base des anticorps et de leurs différents fragments, exemplifié par IgG (Peterson, Owens, et Henry 2006)⁹⁹. Les ovales représentent un domaine immunoglobuline. L : chaîne légère ; H : chaîne lourde ; C : domaine constant ; V : domaine variable ; IgG : immunoglobuline G ; Fc : fragment cristallisable ; Fab : fragment de liaison d'antigène ; F(ab')₂ : 2 fragment Fab reliés par l'intermédiaire de pont disulfure; scFv : single-chain variable fragment (domaine VL relié au domaine VH par un linker peptidique en bleu) ; Ligne rouge : pont disulfure inter-chaîne.

Lorsqu'ils sont conjugués à des NPs, ils augmentent la taille hydrodynamique des systèmes et donc les propriétés générales de la structure. C'est pourquoi l'ingénierie biologique a développé les fragments d'anticorps pour diminuer la taille du ligand. Les fragments scFv suscitent un intérêt important en raison de leur taille de l'ordre de 25kDa qui leur confère une immunogénicité plus faible et une meilleure internalisation dans les cellules¹⁰⁰. Grâce à ces avantages, les scFv sont très utilisés comme outils de diagnostic et agents thérapeutiques¹⁰¹.

b. Les aptamères

Les aptamères sont des oligonucléotides de 5 à 40 kDa présentant une activité de reconnaissance spécifique comme les anticorps puisqu'ils ont une grande sélectivité et une grande affinité pour leur cible¹⁰². Ils présentent l'avantage d'être moins immunogènes et doués d'une meilleure stabilité que les anticorps. Découverts et produits en 1990 dans deux Laboratoires américains^{103,104}, ils concurrencent actuellement les anticorps conventionnels avec leurs propriétés améliorées (stabilité,

coût, facilité de production, toxicité, spécificité). La liaison de ces molécules s'effectue sur la base de leur structure tridimensionnelle permettant ainsi à plusieurs séquences de reconnaître les mêmes cibles avec une très haute affinité de l'ordre du nM. Cependant cette constante d'affinité très basse ne permet pas d'assurer une spécificité totale. Des liaisons hors site ont été décrites dans la littérature entraînant des effets indésirables¹⁰⁵. Dans notre cas l'intérêt des aptamères réside dans leur capacité à transporter des médicaments dans des cellules ; transporter des médicaments cytotoxiques dans les cellules cancéreuses sans nuire aux cellules non cancéreuses. Des aptamères ciblant l'antigène membranaire prostatique spécifique ou PSA ont été utilisés pour apporter la doxorubicine dans les cellules cancéreuses de la prostate dans un modèle préclinique par exemple¹⁰⁶.

c. Les peptides pénétrants les cellules (CPP, *Cell Penetrating Peptides*)

Les CPP sont des ligands courts de nature peptidique, en général de moins de 30 A.A., utilisés pour leur propriété permettant de passer la membrane cellulaire. C'est en 1988 qu'on observe la première utilisation des CPP via la description de l'internalisation de la protéine TAT¹⁰⁷, impliquée dans la transcription du virus du VIH. Les CPP ont la capacité de traverser les membranes cellulaires via des interactions ioniques avec la surface cellulaire chargée négativement puisqu'ils sont en grande majorité chargés positivement. Dès lors, ces interactions non spécifiques entraînent des répercussions sur toutes les cellules rencontrées et donc de potentiels effets secondaires¹⁰⁸.

d. L'acide folique (vitamine B9)

Les vitamines sont des éléments indispensables au bon fonctionnement de chaque cellule vivante. Le cas des cellules cancéreuses est particulier puisqu'elles ont besoin d'un apport important en nutriments en raison de leur croissance rapide et anarchique. On observe alors une augmentation des récepteurs vitaminiques chez les cellules tumorales¹⁰⁹. L'acide folique ou vitamine B9, est une petite molécule dont dépendent les cellules pour leur prolifération et leur survie. Il a été décrit que les

principaux récepteurs à l'acide folique sont surexprimés dans plusieurs type de cancers comme le cancer de l'ovaire, du rein ou encore le mésothéliome¹¹⁰. L'acide folique est amenée dans les lysosomes après son endocytose dans la cellule ce qui représente un réel avantage vis à vis des autres ligands¹⁰⁸.

e. L'acide hyaluronique

Outre son implication dans la composition de la matrice extracellulaire et du liquide synoviale, l'acide hyaluronique (AH) est également impliquée dans la prolifération cellulaire par l'intermédiaire de plusieurs récepteurs comme le CD44, surexprimés à la surface des cellules tumorales. Composé de plusieurs groupements polaires, l'AH est capable de fixer des molécules d'eau adoptant une structure hydratée de 100 fois supérieure à son état sec¹¹¹. Cette propriété est couramment utilisée pour former une matrice de NPs plutôt qu'un ligand.

f. La transferrine

Cette glycoprotéine exerce la fonction de transporteur des ions de fer dans les cellules par son récepteur à la transferrine ou TfR. On dénombre deux types de récepteurs, TfR1 et TfR2, avec une affinité 25 fois supérieure pour les types 1. Ils sont exprimés par les cellules saines comme les hépatocytes et surexprimés par certaines cellules cancéreuses¹¹². Les systèmes nanoparticulaires à usage thérapeutique utilisent la transferrine comme ligand du fait de sa facilité d'obtention et de son faible coût d'obtention^{113,114}. D'autres éléments tels que les anticorps anti-TfR ou des fragments de peptides reconnaissant les TfR sont également utilisés en couplage avec des principes actifs.

La mise en évidence de nouveaux ligands avec une affinité importante pour la molécule d'intérêt est primordiale pour l'utilisation du ciblage actif des vecteurs nanoparticulaires. Il est nécessaire d'identifier des techniques de criblage moléculaire à grande échelle et minutieuses pour que le couple ligand/récepteur soit cliniquement pertinent. En effet les paires ligand/récepteur actuellement utilisées reposent sur des molécules connues⁴⁴. Aux vues des connaissances actuelles sur les

systèmes de NPs à ciblage actif, les difficultés et challenges d'une telle stratégie sont importants. Le ciblage actif est donc envisagé comme un adjuvant au ciblage passif plutôt quand tant que système à part entière.

III-4 Le vecteur idéal ?

Le système de vectorisation est donc conçu pour apporter une molécule active préférentiellement au niveau de sa cible tout en évitant sa dégradation et en limitant les différents effets secondaires qu'elle pourrait entraîner sur son chemin au sein des tissus sains. Pour être le plus compétent possible et être utilisé chez l'homme, le système de vectorisation doit montrer les caractéristiques qui suivent pour être qualifié de vecteur idéal :

- une biocompatibilité et biodégradabilité, ses composées doivent être relativement stables en milieu physiologique ;
- une taille suffisamment petite pour diffuser à travers les membranes physiologiques tout en étant suffisamment importante pour accueillir une forte quantité de molécules active ;
- Une facilité de transit intracellulaire et de récupération par les cellules cibles ;
- une diffusion limitée du composé lors de son transport jusqu'au site d'action ;
- une absence de dégradation prématurée du composé actif.

Un principe actif vectorisé voit sa biodistribution dans l'organisme bouleversée. Considéré comme étranger, le vecteur nanométrique doit affronter les divers systèmes de défenses de l'organisme, principalement constitués du système immunitaire et des systèmes de filtration. En effet, la molécule ne sera plus exposée à des phénomènes de diffusion au-delà du flux sanguin jusqu'aux organes et aux

cellules ; elle doit franchir de nombreux obstacles tels que la capture par la phagocytes, les dégradations enzymatiques, les organites cellulaires (endosomes), ainsi que la filtration rénale et hépatique. Dans la plupart des cas, le nanovecteur entre dans les cellules ciblées via un mécanisme actif d'endocytose¹¹⁵, ou dans le cas des liposomes par fusion avec la membrane plasmique^{115,116}. La taille de la structure est primordiale vis à vis de ce phénomène d'endocytose et d'élimination. Un objet de grande taille (>7-10um) sera retenu au niveau des capillaires de l'organisme alors qu'un objet de petite taille sera éliminé par le rein ou le foie. Le système immunitaire intervient quant à lui au moment où le vecteur rentre en contact avec les éléments sanguins. Ce système complexe est organisé autour de différents acteurs exposés ci-dessous.

1. Les phagocytes.

On compte parmi eux les monocytes, macrophages, cellules dendritiques et granulocytes. Ces cellules sont impliquées dans l'endocytose d'éléments étrangers (cellules mortes, pathogènes,...) et de leur dégradation¹¹⁷.

2. Les lymphocytes.

Principalement de deux types, B et T, ils sont impliqués dans la réponse immunitaire adaptative.

3. Les opsonines.

Substances solubles présentes dans le sérum, permettant d'augmenter le phénomène de phagocytose¹¹⁸.

Cette classe de molécule est représentée majoritairement par des protéines comme les anticorps ou les protéines du complément.

Le système immunitaire permet à l'organisme de se défendre par l'implication de ces différents acteurs de l'immunité pour éliminer les éléments étrangers. Ainsi, pour éviter d'être reconnu par ces sentinelles de l'immunité, le vecteur devra soit

avoir une taille 70 nm ou posséder des propriétés d'enrobage telle que la pégylation tout en conservant une taille suffisamment petite pour éviter une clairance rénal trop importante.

IV- Exemples de stratégies de développement clinique

IV-1 Sur le marché

De nombreux transporteurs de composés thérapeutiques de taille nanoparticulaires furent développés grâce aux travaux de Maeda sur l'effet EPR. La formulation de copolymère d'acide styrène-maléique conjugué à la néocarzinostatine (SMANCS) développés en 1979 sont les premiers conjugués polymériques cliniques approuvés au Japon en 1993¹¹⁹. D'après une revue publié dans *International Journal of Nanomedecines*, ont dénombre actuellement 67 nanodispositifs commercialisés et 43 nanomédicaments. Sur ces 43 nanomédicaments, 15 sont indiqués dans le domaine de l'oncologie⁴⁵.

IV-1-1 Exemples cliniques d'utilisation de liposomes en oncologie

Après l'approbation du Doxil®(Jansen Cilag) en 1995 comme première formulation liposomale pégylée anticancéreuse¹²⁰, plusieurs formes liposomales ont été approuvées par les autorités pour une utilisation clinique : Marqibo®(Talon Therapeutics), Mepact®(IDM Pharma S.A.), Myocet®(Elan Pharma SARL).

L'encapsulation de la doxorubicine a été le premier succès des recherches cliniques sur les nouvelles voies d'administration des agents thérapeutiques via les premières générations des liposomes⁹⁰. Ce principe novateur a permis de mettre en évidence une diminution de la distribution cardiaque et donc de la toxicité principale de l'Adriamicine®. Plus tard d'autres études ont démontré les avantages de la forme liposomale de la doxorubicine versus doxorubicine libre, sur les effets secondaires du traitement : une diminution significative de la cardiotoxicité, de la myelosuppression, des vomissements et de l'alopécie¹²¹.

IV-1-2 Exemples cliniques d'utilisation de nanoparticules protéiques ou polymériques

Après un intérêt massif pour les liposomes, d'autres formes de NPs ont vu le jour. En 2005, La FDA approuve l'Abraxane® (BAXTER Healthcare) dans le traitement du cancer du sein. Cette fois c'est une NP protéique qui est utilisée, l'Albumine, pour encapsulé le Paclitaxel, agent anti-cancéreux de la famille des taxanes au sein d'un système de 130 nm.

Sur cette même molécule, d'autres systèmes ont été développés basés sur des NPs polymériques comme le PLGA cité précédemment. Une étude a montré une augmentation des effets cytotoxiques du principe actif sur plusieurs types de cellules cancéreuses par rapport à la molécule libre¹²². Le PNP, autre NP polymérique, a permis de montrer une amélioration de la pharmacocinétique du produit notamment dans le cancer de la prostate¹²³.

Ces nano-systèmes présentent des avantages non négligeables en terme de sécurité et d'efficacité pour le patient. C'est pourquoi l'association des différents types de NPs s'est développée avec des systèmes à base de PNP ou des NPs lipidiques coatés de PLGA ou des PEG et fonctionnalisés par des agents de ciblage comme les aptamères pour mutualisés les avantages de chaque forme de NPs (exemple du AS1411¹²⁴). L'intérêt des ces assemblages est d'augmenter l'encapsulation, la libération et le ciblage spécifique du médicament.

IV-1-3 Exemples précliniques d'utilisation de la stratégie de ciblage actif

On observe à l'heure actuelle un développement important autour du ciblage actif des nanovecteurs notamment via les anticorps. Plusieurs systèmes sont actuellement au stade clinique et d'autres utilisés dans le traitement du lymphomes non-Hodgkinien, des lymphomes à cellules T et des leucémies aiguës myéloïdes avec des anticorps ciblant le CD20, CD25 et CD33¹²⁵. Le ciblage actif a démontré de

multiples succès en terme d'amélioration de l'effet thérapeutique souhaité par l'augmentation de l'internalisation des NPs sur le site. Des anticorps anti-HER2 associé à la surface de liposomes ont permis, dans des modèles précliniques, d'accumuler les nanosystèmes dans les cellules surexprimant HER2 comparé aux systèmes sans ligands ou aux systèmes ne surexprimant par ce récepteur¹²⁶.

D'autres systèmes ont exploité les peptides comme agents de ciblage. Des modèles ciblant le système endothélial par exemple ont montré un intérêt notoire. La Cilengitide ou peptide cyclique cyclo (-RGDFV-) est utilisé comme agent anti-angiogénique en hématologie. Il permettrait d'améliorer la libération des composés thérapeutiques¹²⁷.

IV-1-4 Exemple clinique d'utilisation de stratégie de ciblage actif via une protéine conjuguée

Parmi tous les composés de nanomédecine validés en clinique, une construction fait officiellement partie des premières lignes de traitement du cancer : le paclitaxel albumine-stabilisé (nab-PTX albumin-stabilised paclitaxel). Mais il semble que cette image soit en train de changer rapidement. La combinaison de nab-PTX avec la gemcitabine a récemment montré un intérêt thérapeutique notoire chez des patients atteints de cancer pancréatiques en augmentant de 25% la médiane de survie en comparaison de la gemcitabine utilisée seule¹²⁸.

IV-2 exemples de formes nanoparticulaires en cours de développement

IV-2-1 A partir de nanoparticules de fer

La propriété exclusive exploitée pour l'IRM est le paramagnétisme de fer. Présent dans quelques essais cliniques, les oxydes de fer sont comparés à un agent de contraste déjà bien exploité, le Gadolinium (Gd)¹²⁹. L'avantage unique des oxydes

de fer sur le Gd pour l'IRM est l'évitement du système réticulo-endothélial et de la clairance rénale¹³⁰. Il a été démontré aussi que les cellules phagocytaires telles que les macrophages, les cellules T mononucléaires et les cellules de Kupffer captaient plus rapidement les NPs de fer plus leur taille augmentait¹³¹. Cette affinité des SPIO pour les cellules phagocytaires permet d'entreprendre leur utilisation dans les phénomènes inflammatoires comme les cancers en tant qu'agents de contraste. Outre l'imagerie, un autre domaine c'est intéressé à l'utilisation des NPs de fer pour la thérapie. En effet l'ablation hyperthermique d'une tumeur prévoit d'utiliser les oxydes de fer pour réséquer la masse tumorale. Les matériaux ferromagnétiques après une exposition à un champ magnétique vont dissiper de l'énergie thermique par un phénomène de relaxation du dipôle. Cette stratégie implique l'inoculation des NPs dans les tissus malins via l'effet EPR précédemment décrit. L'essai clinique NCT02033447 est le seul proposé pour ce type de thérapie¹³². Cette phase 1 a pour but de vérifier si les NPs de fer ciblaient correctement le tissu tumoral et ne s'accumulait pas non plus dans les tissus voisins.

IV-2-2 A partir de nanoparticules d'or

On observe peu d'essais cliniques utilisant ces composés dans la littérature¹³³. Deux essais de thérapie photothermique plasmonique proposent cependant une nouvelle approche basée sur la propriété appelée « *localized surface plasmon resonance* » ou LSPR. Ces systèmes sont capables après une exposition lumineuse, de convertir la lumière en énergie thermique. Ainsi, grâce à une technique de ciblage actif vers des cellules cancéreuses, on serait en mesure de détruire sélectivement le tissu cancéreux¹³⁴. Cette technique a suscité un grand intérêt dans la recherche de traitement alternatif contre le cancer mais n'a pas donné suite à des essais cliniques dans ce domaine.

IV-2-3 A partir de nanoparticules d'hafnium

Les NPs d'hafnium sont des entités à forte densité d'électrons. Cette propriété permet le dépôt d'une quantité importante d'énergie dans les cellules vivantes via une activation par des radiations ionisantes ¹³⁵. Elles sont actuellement explorées dans le traitement des tumeurs pour améliorer la radio-sélectivité contre les cellules cancéreuses. Le NBTRX3 est une suspension aqueuse contenant ce type de NPs. Il est étudié actuellement dans 4 essais cliniques, dans les cancers de la prostate (Phase I/II ; NCT02805894 ; USA), du foie (Phase I/II ; NCT02721056 ; France), de la tête et du cou (Phase I/II ; NCT01946867 ; France et Espagne) et d'une étude terminée dans le sarcome des tissus mous chez l'adulte (NCT01433068; France).

V- La toxicité des nanoparticules

Bien que les particules nanométriques apportent de nouvelles propriétés à des matériaux habituellement utilisés à une échelle de taille supérieure, des propriétés toxiques peuvent également apparaître. Des études ont montré qu'au dessous d'une dimension de 100nm, des particules considérées peu toxique, comme l'oxyde zinc, peuvent présenter des effets toxiques différents de celui des particules de taille supérieures¹³⁶. Dans un autre domaine, la présence de particules fines dans l'air que nous respirons, provenant de diverses sources comme l'industrie, le trafic routier ou les combustibles, font l'objet d'une attention particulière depuis plusieurs années. En effet, elles seraient responsables de l'apparition de nombreuses pathologies notamment broncho-pulmonaires ou cardio-vasculaires¹³⁷. Ainsi, Leur utilisation est aujourd'hui controversée en raison du manque de connaissances sur leur toxicité et des problèmes de sécurités auxquels elles exposent. Les bénéfices que pourraient apporter cette technologie ne doivent pas en faire oublier les risques potentiels des médicaments sous formes nanoparticulaires. Plusieurs éléments doivent être investigués pour l'utilisation des nanotechnologies en tant que médicaments : leur propriétés physiques pouvant modifier leur pharmacocinétiques, la surface de contact plus importantes avec les tissus, et la toxicité de la NP vide comparé au nanoassemblage englobant un médicament (car elle présente un risque d'accumulation pouvant conduire à des réactions inattendues)¹³⁸. Par la suite, la toxicité sur les principaux organes exposés aux NPs sera développée.

V-1 Les poumons

Les poumons sont depuis longtemps une voie d'administration très exploitée en pharmacie. En effet elle présente plusieurs avantages : c'est une méthode non invasive, la surface d'absorption de cet organe est importante et permet d'éviter l'effet de premier passage hépatique. L'utilisation des NPs via cette voie

d'administration apparaît donc intéressant. Néanmoins, plusieurs études ont mis en évidence diverses toxicités à leur utilisation. Les NTC, étudiés pour leur application à la vectorisation et la thérapie photodynamique, peuvent induire une cytotoxicité à l'origine de pathologies pulmonaires inflammatoires¹³⁹. Cet effet serait dû à leur accumulation dans les poumons. Les NPs de silice sont également à l'origine d'une cytotoxicité dose dépendante et taille dépendante associée à une agglomération provoquant des réactions inflammatoires pulmonaires¹⁴⁰. Ces réactions inflammatoires post exposition ont également été mises en évidence sur des modèles animaux de rats traités par des NPs¹³⁸.

V-2 Les reins

Puisque les reins jouent un rôle vital dans l'élimination des déchets métaboliques, la quasi totalité des NPs vont être susceptibles d'être éliminées par les reins. Ainsi la probabilité d'observer une accumulation et de possibles effets néfastes est importante. La réponse rénale à la présence des NPs pourrait être due à la migration des NPs des poumons vers la circulation systémique puis les organes secondaires¹⁴². Comme pour les organes précédents, une inflammation du tissu rénal est observée. Elle est souvent associée à une augmentation de la protéinurie dans un modèle de rats exposés aux NPs d'argent¹⁴⁰. En outre, plusieurs modifications pathologiques et lésions tissulaires ont été observées au niveau des reins de souris suite à l'absorption orale de NP de cuivre¹⁴¹.

V-3 Le foie

En tant que principal organe de métabolisation de l'organisme, le foie est particulièrement exposé aux NPs. De multiples inconvénients ont donc été observés à l'utilisation des NPs. Kim *et al.* ont démontré que l'administration per os de NPs d'argent pourrait entraîner des modifications significatives du taux de cholestérol et de phosphatase alcalines avec des atteintes hépatiques¹⁴⁵. Hong *et al.* ont mis en

évidence une augmentation des enzymes hépatiques dans un modèle préclinique de souris traitées par injection intrapéritonéale de NPs de zinc¹⁴⁶.

Les essais sur les animaux ont démontré qu'une réaction inflammatoire hépatique serait également une conséquence d'une exposition aux NPs. Les NPs d'oxyde de titane auraient la capacité d'infiltrer le foie de s'y accumuler et d'entraîner une inflammation¹⁴⁷. Des mécanismes responsables de cette réaction sont décrits par Chen *et al.* comme la réduction du TNF-alpha et de l'expression d'IL-6¹⁴⁸.

V-4 Le cerveau

Le cerveau est un organe difficile d'accès. Il possède une protection physique exercée par la barrière hémato-encéphalique (BHE). Il est donc nécessaire de pouvoir traverser cet obstacle pour pouvoir traiter certaines pathologies telles que les tumeurs cérébrales. Les NPs peuvent grâce à leur taille servir de transporteurs de médicaments pour atteindre le cerveau. Il est néanmoins utile de prouver leur innocuité vis à vis du système nerveux central. Les NPs métalliques sont les plus aptes à atteindre le cerveau¹⁴⁹. Les particules d'oxyde de fer pourraient traverser la BHE et induire des modifications pathologiques au niveau cellulaire comme des dégénérescences^{150,151}. De plus, des changements de comportements peuvent être attribués à une neurotoxicité des NPs. L'hippocampe est une structure cérébrale associée à la mémoire et aux comportements d'apprentissage. La toxicité des NPs sur cette structure a été mise en évidence sur un modèle de souris avec l'apparition de déficiences de la capacité d'apprentissage¹⁵².

Ainsi, les propriétés des NPs citées comme des avantages et qui font des NPs des formes pharmaceutiques intéressantes, peuvent également induire de nouvelles formes de toxicités qu'il est nécessaire de déterminer. Dans ce sens, et en considérant la législation sur le développement des médicaments, l'ANSM a émis des recommandations relatives à l'évaluation toxicologique des médicaments sous

formes nanoparticulaires ¹⁵³. De nombreuses études ont déjà été réalisées, mais les données scientifiques et réglementaires sur la toxicité des NPs font actuellement défauts pour appréhender ces problèmes ¹⁵⁴.

VI- Les procédés de fabrication pharmaceutiques des nanoparticules

Comme vu précédemment, les NPs proposent de multiples applications dans le domaine pharmaceutique. C'est pourquoi des procédés de production industrielle se sont développés. Ces méthodes peuvent être divisées en deux catégories :

-La production descendante (*top-down*), pour laquelle on débute sur la fabrication de particule de grande taille pour arriver à des particules nanométriques via des procédés le plus souvent mécaniques comme le broyage.

-la production ascendante (*bottom-up*): les NPs sont construites par accumulation de matière par dispersion moléculaire.

Chaque méthode possède ces avantages et ces inconvénients. Si la production s'effectue avec la technologie *top-down*, on obtiendra des particules plus stables mais l'apport d'énergie devra être plus important pour atteindre le nanomètre. A l'inverse, la technologie *bottom-up* nécessite moins d'énergie mais la structure de la particule sera moins stable ¹⁵⁵. La suite de cette partie décrira les procédés de production les plus utilisés actuellement.

VI-1 Les procédés « top-down » ou descendants

VI-1-1 Le broyage

Le broyage est une technique de réduction mécanique de la taille de la particule. C'est la méthode la plus connue et la plus utilisée pour produire des NPs. Dans l'industrie pharmaceutique, il existe différents types de broyeurs. Le broyeur à mortier est certainement le plus connu mais son rendu est grossier et ne peut s'appliquer à une telle production. Pour fabriquer des NPs par ce procédé, le broyeur

à billes ou à boulets sont les plus adaptés ¹⁵⁶. Les avantages des broyeurs à billes sont :

- méthode simple et connue ;
- utilisable en milieu industriel ;
- utilisation possible de médicaments avec une solubilité moindre dans l'eau ¹⁵⁷

Les broyeurs à billes présentent aussi les inconvénients suivants :

- la contamination de surface est un risque majeur,
- mélange de mauvaise qualité résultant des problèmes d'adhérences sur les ¹⁵⁸.

VI-1-2 L'homogénéisation à haute pression

Ce procédé mécanique utilise des pressions élevées pour forcer le passage d'un produit dans une ouverture. La matière est donc soumise à des contraintes fortes qui conduisent à la formation de gouttelettes très petites ¹⁵⁹. Les pressions importantes utilisées vont provoquer un échauffement et un cisaillement de la matière. Ces données devront être prises en considération notamment si le médicament est thermosensible.

On utilise deux techniques pour réaliser cette homogénéisation : la microfluidisation et la « *piston-gap* » homogénéisation. La microfluidisation utilise un jet liquide qui est accéléré à travers une chambre d'homogénéisation. L'inconvénient principal de cette technique est la longueur du procédé. On retrouve également une distribution large des tailles de particules ¹⁶⁰. La « *piston-gap* » homogénéisation est l'alternative à la microfluidisation. La suspension passe en premier dans un cylindre de grande taille qui se rétrécit à la fin. La suspension est dispersée via l'extrémité étroite du cylindre sous une haute pression. Les pressions utilisées dans ce cas sont souvent supérieures à 500 MPa. Comme pour la microfluidisation, plus le produit passera dans le mécanisme, plus la taille des particules sera petite et la distribution sera étroite.

VI-2 Les procédés « bottom-up » ou ascendants

VI-2-1 Méthodes par précipitation

Ce phénomène se divise en trois parties : une réaction chimique (quand la solution contient plus de soluté qu'elle ne peut en dissoudre), une nucléation (formation d'une entité par auto-assemblage) et une diffusion du soluté pour finir sur la croissance de la particule. La qualité de ces trois étapes va directement influencer sur la distribution de tailles des NPs. On obtiendra cette uniformité de différentes manières comme par l'utilisation des fluides supercritiques, de la gravité élevée ou encore des ultrasons.

V-2-2 Méthodes par évaporation

On peut produire des NPs par cette méthode en utilisant un réacteur de flux d'aérosols. C'est un procédé simple permettant d'obtenir des NPs de taille voulue. Le principe comprend une nébulisation de la solution pour former des gouttelettes. Le solvant sera ensuite évaporé pour former les NPs dans le réacteur. La distribution de taille est étroite pour cette technique. La morphologie des NPs est également un avantage certain de la méthode puisqu'elles sont sphériques et lisses. L'inconvénient possible est l'augmentation de la température du réacteur qui entraînera la formation de particules creuses¹⁶¹. On peut également générer ces gouttelettes via l'utilisation d'un champ électrique. On appelle cette méthode la nébulisation électrodynamique ou électrospraying. Ici on peut obtenir des particules de très petites tailles et de charges électriques contrôlées¹⁶². A cet avantage s'ajoute également la simplicité de production en une seule étape et de transposition à l'échelle industrielle. On peut néanmoins observer une dégradation de la molécule par la chaleur du séchage et les forces de cisaillements du réacteur¹⁶³.

VI-2-3 La polymérisation

Il s'agit d'un procédé de polymérisation, c'est à dire d'assemblage de monomères au sein d'une solution contenant un tensio-actif. On obtient une suspension de NPs qui sera ensuite purifiée. Cette technique permet de former des NPs plus complexes comme les dendrimères mais sa transposition à l'échelle industrielle apparaît difficile¹⁶⁴.

Pour conclure, les méthodes précédemment citées sont nombreuses et présentent des avantages et des inconvénients qu'il faudra adapter à chaque production. Il est important de noter qu'une production industrielle des NPs n'est pas encore bien établit et ce procédé complexe qui demander le développement de techniques de fabrication nouvelles pour un développement industriel.

VII- Les perspectives

Les avancées abouties en chimie de surface et en fonctionnalisation ont permis d'ouvrir des perspectives pour le ciblage moléculaire. L'adressage de fonctions chimiques à la surface des nano-objets va permettre de les rendre capables de reconnaître des protéines spécifiques de certaines cellules. Ainsi lorsque les protéines reconnues sont identifiées comme caractéristiques des cellules cancéreuses, on obtient un vecteur capable de pénétrer sélectivement dans les cellules cibles. Cette propriété devient particulièrement intéressante à l'heure où le développement de nouvelles molécules anti-cancéreuses ne progresse que très lentement. La recherche se focalise donc actuellement dans l'amélioration de la formulation des molécules connues pour augmenter l'efficacité d'un traitement ne présentant pas la spécificité nécessaire vis-à-vis des cellules ou pour diminuer des effets secondaires systémiques. Le projet Glyconanovecteur, retenu par l'ANR 2007, a été établi pour former des nanovecteurs de silice fonctionnalisés pour cibler les cellules cancéreuses tout en intégrant des photosensibilisateurs permettant d'imager les cellules atteintes par le vecteur afin de les traiter par photodynamie. Le nano-objet préparé permettra après une exposition à une longueur d'onde spécifique de la molécule, de libérer des espèces oxydantes qui iront détruire les cellules cancéreuses. Dans ce projet, la structure de la NP intègre également un agent de ciblage pour augmenter la spécificité d'action. La thérapie photodynamique a permis une diminution importante du nombre de cellules et du volume tumoral dans un modèle *in vivo*¹⁶⁵. Cette technique est cependant peu utilisée aujourd'hui. Néanmoins d'autres recherches se portent sur l'utilisation des NPs pour cibler des populations cellulaires responsables notamment des rechutes comme les cellules initiatrices de cancer (CIC). Les NPs pourront aussi servir de traceur de médicament dans l'organisme et combiner des propriétés diagnostics à des propriétés thérapeutiques.

VII-1 Cibler les cellules initiatrices de cancer

Le concept de cellules initiatrices de cancer a été émis dans les années 1970, suggérant la présence dans la population tumorale, de cellules ayant la capacité d'auto-renouvellement, de prolifération et de différenciation. Leur rôle dans divers aspects du cancer est donc important : progression des tumeurs, récurrence et résistance aux traitements. Dès lors, la recherche de nouvelles stratégies thérapeutique anti-CIC s'est développée. Souffrant des difficultés décrites précédemment, comme une faible solubilité, un temps de circulation court ou une dégradation rapide, les agents thérapeutiques conventionnels ne permettent pas d'atteindre cette population cellulaire¹⁶⁶. Nos connaissances actuelles montrent que les principes actifs ont un accès limité aux CIC en raison du microenvironnement tumoral¹⁶⁷. Les vecteurs nanoparticulaires vont permettre via leur capacité de transport, d'améliorer la délivrance des agents thérapeutiques au plus proche de ces cibles¹⁶⁸. La curcumine est un agent anticancéreux à fort potentiel mais son application est fortement limitée par une hydrophobie importante et une mauvaise stabilité. Le développement de NPs de curcumine encapsulées dans des micelles polymériques pourrait accroître l'accumulation de l'agent dans les cellules cancéreuses. Deux études, in vivo et in vitro, ont montré l'efficacité de cette stratégie dans le cancer colorectal via une éradication importante des CIC^{169,170}.

VII-2 Un traceur de médicament

Les NPs vont pouvoir être conçu pour suivre le devenir d'un principe actif après son administration et valider le processus de délivrance. Cette méthode permet, via des techniques d'imagerie non invasives, d'évaluer la réponse au traitement à un stade précoce. En tant qu'outil d'imagerie, les polymères fluorescents formant des NPs peuvent être utilisés. Cependant, la fluorescence ne

peut être utilisée pour l'imagerie in vivo profonde. L'autofluorescence de l'organisme et la faible pénétration du signal à travers les tissus limitent son utilisation. L'imagerie par résonance magnétique et le PET-scan sont-elles deux technologies plus adaptées à une application clinique. Des agents de contrastes comme le gadolinium ou des NPs d'oxyde de fer peuvent être associés à des médicaments pour obtenir un agent théranostique¹⁷¹. Ce système pourra donc fournir des signaux lors de sa distribution dans l'organisme, de son internalisation cellulaire et lors de la délivrance de l'agent thérapeutique. Par exemple, les marqueurs de fluorescence peuvent être modifiés par des changements de pH dans l'environnement tumoral ou encore après une protéolyse des endosomes et des lysosomes^{172,173}. Cette technique a été notamment appliquée à l'internalisation intracellulaire de micelles. Un changement de couleur est observé lorsque la micelle est dégradée dans un endosome^{174,175}.

VII-3 Applications théranostiques

Suite à l'ajout des propriétés de ciblage via le greffage de protéines spécifiques à leur surface, l'intérêt actuel se porte sur la combinaison d'une nouvelle propriété, le diagnostic associé à la thérapie. L'utilisation diagnostique des NPs pour mettre en évidence et marquer les cellules cancéreuses pourrait permettre de guider le chirurgien dans la résection des zones tumorales¹⁷⁶. Un même vecteur pourra également effectuer simultanément de la reconnaissance cellulaire ou moléculaire, de la vectorisation, de l'imagerie et du traitement¹⁷⁷.

Ainsi plusieurs projets se sont développés sur cette thématique avec la confection de vecteurs lipidiques d'agent anticancéreux détectable par fluorescence pour l'étude de leur biodistribution¹⁷⁸. L'avantage de l'utilisation de ces techniques est qu'elles permettent d'imager en temps réel les organes touchés et donc servir d'aide au diagnostic ou au traitement. Dernièrement, l'incorporation de nanomolécules métalliques, telles que les SPIO, comportant des propriétés

magnétiques, va permettre l'utilisation de l'imagerie par résonance magnétique (IRM) pour diagnostiquer, étudié et suivre le vecteur et l'évolution du volume tumorale¹⁷⁹.

Conclusion

Ce travail de mémoire a été consacré à créer un support bibliographique sur les nanovecteurs dans le traitement des cancers. Ce domaine d'étude est large aux vues des différents types de structures développées actuellement, des différentes techniques à dispositions et de sa multidisciplinarité.

La pathologie cancéreuse est elle aussi une vaste étendue. Il existe de nombreux types de cancers au sein de l'organisme ainsi que pour un même tissu. Les molécules de thérapie anti cancéreuses sont exposées à des limites qui pourraient être en partie corrigées par l'utilisation de transporteurs permettant d'assurer une spécificité plus importante.

Améliorer la biodisponibilité d'un principe actif et diminuer ses effets toxiques est une des possibilités que propose l'utilisation des nanovecteurs. L'ensemble des propriétés que nous apportent ces systèmes va permettre de créer une thérapie de plus en plus ciblée. Les nano-objets intégrant le concept de ciblage actif pour augmenter la spécificité et aussi associant une autre propriété comme la capacité d'être détecté par imagerie ou de pouvoir induire une mort cellulaire par un phénomène physique tel que le magnétisme, se développent de plus en plus.

L'essor que connaît cette discipline montre réellement l'intérêt du monde médical à développer non pas « le » vecteur idéal mais un vecteur pour une application.

Cependant beaucoup de verrous restent actifs à ce jour et freinent le développement des nanovecteurs, de la preuve de concept aux études cliniques. L'inconnue technologique sur ces nouveaux médicaments (techniques de production, propriétés physiques, devenir dans l'organisme,...) a provoqué une élévation du niveau d'exigences en lien avec l'augmentation de la complexité de ces formes pharmaceutiques.

Il reste encore plusieurs questions à élucider dans le domaine des nanomédecines. La caractérisation des mécanismes d'interaction des NPs avec les tissus, les mécanismes d'endocytose et les mécanismes de destruction et d'élimination. Ils sont souvent peu développés et apportent quelques interrogations. Néanmoins il ne semble pas envisageable de maîtriser un système nanométrique uniquement sur les éléments qui le constituent mais par le développement d'une approche globale sur l'ensemble des phénomènes qui l'entourent.

Références bibliographiques

1. Wagner, V., Dullaart, A., Bock, A.-K. & Zweck, A. The emerging nanomedicine landscape. *Nat. Biotechnol.* **24**, 1211–1217 (2006).
2. European Medicines Agency -. Available at: <http://www.ema.europa.eu/ema/>. (Accessed: 29th August 2017)
3. Drugs@FDA: FDA Approved Drug Products. Available at: <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/daf/index.cfm?event=overview.process&AppNo=050718>. (Accessed: 17th January 2017)
4. Langer, R. Drug delivery and targeting. *Nature* **392**, 5–10 (1998).
5. Stinchcombe, T. E. *et al.* Phase I and pharmacokinetic trial of carboplatin and albumin-bound paclitaxel, ABI-007 (Abraxane) on three treatment schedules in patients with solid tumors. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **60**, 759–766 (2007).
6. Satouchi, M. *et al.* Efficacy and safety of weekly nab-paclitaxel plus carboplatin in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Lung Cancer Amst. Neth.* **81**, 97–101 (2013).
7. Kipp, J. E. The role of solid nanoparticle technology in the parenteral delivery of poorly water-soluble drugs. *Int. J. Pharm.* **284**, 109–122 (2004).
8. Self-assembled lipid–polymer hybrid nanoparticles: a robust drug delivery platform. - PubMed - NCBI.
9. Rapport final version definitive.pdf. Available at: <https://www.etp-nanomedicine.eu/public/press-documents/publications/public-documents/bionest-partners-2014-nanomedicine-study-leem/Rapport%20final%20version%20definitive.pdf>. (Accessed: 29th August 2017)
10. OMS | Cancer. *WHO* Available at: <http://www.who.int/topics/cancer/fr/>. (Accessed: 18th May 2017)
11. Hanahan, D. & Weinberg, R. A. The hallmarks of cancer. *Cell* **100**, 57–70 (2000).
12. GBD 2015 Risk Factors Collaborators. Global, regional, and national

- comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet Lond. Engl.* **388**, 1659–1724 (2016).
13. Epidémiologie des cancers - Les chiffres du cancer en France | Institut National Du Cancer. Available at: <http://www.e-cancer.fr/Professionnels-de-sante/Les-chiffres-du-cancer-en-France/Epidemiologie-des-cancers>. (Accessed: 11th September 2017)
 14. Les types de cancers | Fondation contre le Cancer. Available at: <http://www.cancer.be/le-cancer/jeunes-et-cancer/les-cancers/les-types-de-cancers>. (Accessed: 29th August 2017)
 15. doi:10.1016/j.annpat.2009.12.001 - 2010-Septième-Edition-De-La-Classification-TNM.pdf. Available at: <http://lecancer.fr/media/2010-Septi%C3%A8me-Edition-De-La-Classification-TNM.pdf>. (Accessed: 6th September 2017)
 16. Frequently Asked Questions | Nano. Available at: <https://www.nano.gov/nanotech-101/nanotechnology-facts>. (Accessed: 30th August 2017)
 17. What is Nanotechnology? | Nano. Available at: <https://www.nano.gov/nanotech-101/what/definition>. (Accessed: 29th August 2017)
 18. Ji, B. *et al.* Non-blinking quantum dot with a plasmonic nanoshell resonator. *Nat. Nanotechnol.* **10**, 170–175 (2015).
 19. Ayala-Orozco, C. *et al.* Au nanomatryoshkas as efficient near-infrared photothermal transducers for cancer treatment: benchmarking against nanoshells. *ACS Nano* **8**, 6372–6381 (2014).
 20. Maeda, H., Bharate, G. Y. & Daruwalla, J. Polymeric drugs for efficient tumor-targeted drug delivery based on EPR-effect. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **71**, 409–419 (2009).
 21. Couvreur, P., Tulkens, P., Roland, M., Trouet, A. & Speiser, P. Nanocapsules: a new type of lysosomotropic carrier. *FEBS Lett.* **84**, 323–326 (1977).
 22. Couvreur, P. *et al.* Tissue distribution of antitumor drugs associated with polyalkylcyanoacrylate nanoparticles. *J. Pharm. Sci.* **69**, 199–202 (1980).

23. Matsumura, Y. & Maeda, H. A new concept for macromolecular therapeutics in cancer chemotherapy: mechanism of tumorotropic accumulation of proteins and the antitumor agent smancs. *Cancer Res.* **46**, 6387–6392 (1986).
24. Whitehead, K. A., Langer, R. & Anderson, D. G. Knocking down barriers: advances in siRNA delivery. *Nat. Rev. Drug Discov.* **8**, 129–138 (2009).
25. Les nanomédicaments : des thérapies en plein essor | FRM.
26. Venditto, V. J. & Szoka, F. C. Cancer nanomedicines: so many papers and so few drugs! *Adv. Drug Deliv. Rev.* **65**, 80–88 (2013).
27. Lammers, T., Kiessling, F., Hennink, W. E. & Storm, G. Drug targeting to tumors: principles, pitfalls and (pre-) clinical progress. *J. Control. Release Off. J. Control. Release Soc.* **161**, 175–187 (2012).
28. Alexis, F., Pridgen, E., Molnar, L. K. & Farokhzad, O. C. Factors affecting the clearance and biodistribution of polymeric nanoparticles. *Mol. Pharm.* **5**, 505–515 (2008).
29. Recommandation de la Commission du 18 octobre 2011 relative à la définition des nanomatériaux Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE - LexUriServ.do. Available at: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:275:0038:0040:FR:PDF>. (Accessed: 5th September 2017)
30. ISO/TS 80004-2:2015(fr), Nanotechnologies — Vocabulaire — Partie 2: Nano-objets. Available at: <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:ts:80004:-2:ed-1:v1:fr>. (Accessed: 5th September 2017)
31. Koo, O. M., Rubinstein, I. & Onyuksel, H. Role of nanotechnology in targeted drug delivery and imaging: a concise review. *Nanomedicine Nanotechnol. Biol. Med.* **1**, 193–212 (2005).
32. Wang, L., Li, X., Zhang, G., Dong, J. & Eastoe, J. Oil-in-water nanoemulsions for pesticide formulations. *J. Colloid Interface Sci.* **314**, 230–235 (2007).
33. Grodzinski, P., Silver, M. & Molnar, L. K. Nanotechnology for cancer diagnostics: promises and challenges. *Expert Rev. Mol. Diagn.* **6**, 307–318 (2006).
34. Koo, Y.-E. L. *et al.* Photonic explorers based on multifunctional nanoplatfoms

- for biosensing and photodynamic therapy. *Appl. Opt.* **46**, 1924–1930 (2007).
35. You, Q. *et al.* A single-light triggered and dual-imaging guided multifunctional platform for combined photothermal and photodynamic therapy based on TD-controlled and ICG-loaded CuS@mSiO₂. *Nanoscale* (2017).
doi:10.1039/c6nr09042g
36. A novel antiangiogenesis therapy using an integrin antagonist or anti-Flk-1 antibody coated 90Y-labeled nanoparticles. - PubMed - NCBI. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gate2.inist.fr/pubmed/15001266>. (Accessed: 17th January 2017)
37. Faraji, A. H. & Wipf, P. Nanoparticles in cellular drug delivery. *Bioorg. Med. Chem.* **17**, 2950–2962 (2009).
38. Trombetta, D. *et al.* Effect of the exposure to gentamicin and diltiazem on the permeability of model membranes. *Farm. Soc. Chim. Ital.* **1989** **56**, 447–449 (2001).
39. Interactions of oritavancin, a new lipoglycopeptide derived from vancomycin, with phospholipid bilayers: Effect on membrane permeability and nanoscale lipid membrane organization. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0005273609001461>. (Accessed: 5th September 2017)
40. Almeida, J., Edwards, D. C., Brand, C. & Heath, T. FORMATION OF VIROSOMES FROM INFLUENZA SUBUNITS AND LIPOSOMES. *The Lancet* **306**, 899–901 (1975).
41. Kapczynski, D. R. & Tumpey, T. M. Development of a Virosome Vaccine for Newcastle Disease Virus. *Avian Dis.* **47**, 578–587 (2003).
42. Musacchio, T. & Torchilin, V. P. Lipid-Based Delivery Systems. in *Biodrug Delivery Systems* 260–292 (CRC Press, 2009). doi:10.3109/9781420086713-18
43. Drugs@FDA: FDA Approved Drug Products. Available at: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/daf/index.cfm?event=overview.process&applno=050718>. (Accessed: 11th September 2017)
44. Hrkach, J. *et al.* Preclinical Development and Clinical Translation of a PSMA-Targeted Docetaxel Nanoparticle with a Differentiated Pharmacological Profile. *Sci.*

Transl. Med. **4**, 128ra39-128ra39 (2012).

45. Weissig, V., Pettinger, T. K. & Murdock, N. Nanopharmaceuticals (part 1): products on the market. (2014).
46. Espuelas, S., Haller, P., Schuber, F. & Frisch, B. Synthesis of an amphiphilic tetraantennary mannosyl conjugate and incorporation into liposome carriers. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **13**, 2557–2560 (2003).
47. Intracellular delivery of membrane-impermeable hydrophilic molecules to a hepatoblastoma cell line by asialoglycoprotein-labeled liposomes. - PubMed - NCBI. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11155748>. (Accessed: 5th September 2017)
48. Long-Circulating and Target-Specific Nanoparticles: Theory to Practice | Pharmacological Reviews.
49. Jones, M. & Leroux, J. Polymeric micelles - a new generation of colloidal drug carriers. *Eur. J. Pharm. Biopharm. Off. J. Arbeitsgemeinschaft Pharm. Verfahrenstechnik EV* **48**, 101–111 (1999).
50. Torchilin, V. P. Structure and design of polymeric surfactant-based drug delivery systems. *J. Controlled Release* **73**, 137–172 (2001).
51. Sawant, R. R. & Torchilin, V. P. Multifunctionality of lipid-core micelles for drug delivery and tumour targeting. *Mol. Membr. Biol.* **27**, 232–246 (2010).
52. Von Hoff, D. D. *et al.* Phase I Study of PSMA-Targeted Docetaxel-Containing Nanoparticle BIND-014 in Patients with Advanced Solid Tumors. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* **22**, 3157–3163 (2016).
53. Marin, E., Briceño, M. I. & Caballero-George, C. Critical evaluation of biodegradable polymers used in nanodrugs. *Int. J. Nanomedicine* **8**, 3071–3091 (2013).
54. Jabir, N. R. *et al.* Nanotechnology-based approaches in anticancer research. *Int. J. Nanomedicine* **7**, 4391–4408 (2012).
55. Zhang, L. *et al.* Nanoparticles in Medicine: Therapeutic Applications and Developments. *Clin. Pharmacol. Ther.* **83**, 761–769 (2008).
56. Bazylińska, U., Lewińska, A., Lamch, Ł. & Wilk, K. A. Polymeric nanocapsules

- and nanospheres for encapsulation and long sustained release of hydrophobic cyanine-type photosensitizer. *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.* **442**, 42–49 (2014).
57. Mehnert, W. & Mäder, K. Solid lipid nanoparticles: production, characterization and applications. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **47**, 165–196 (2001).
58. Gold nanoparticles: assembly, supramolecular chemistry, quantum-size-related properties, and applications toward biology, catalysis, and nanotechno... - PubMed - NCBI. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14719978>. (Accessed: 6th September 2017)
59. Ultrasmall superparamagnetic iron oxides (USPIOs): a future alternative magnetic resonance (MR) contrast agent for patients at risk for nephrogenic systemic fibrosis (NSF)? - 1-s2.0-S0085253815537241-main.pdf.
60. Maeng, J. H. *et al.* Multifunctional doxorubicin loaded superparamagnetic iron oxide nanoparticles for chemotherapy and magnetic resonance imaging in liver cancer. *Biomaterials* **31**, 4995–5006 (2010).
61. Yu, M. K. *et al.* Drug-loaded superparamagnetic iron oxide nanoparticles for combined cancer imaging and therapy in vivo. *Angew. Chem. Int. Ed Engl.* **47**, 5362–5365 (2008).
62. Das, M. *et al.* Biofunctionalized, phosphonate-grafted, ultrasmall iron oxide nanoparticles for combined targeted cancer therapy and multimodal imaging. *Small Weinh. Bergstr. Ger.* **5**, 2883–2893 (2009).
63. Brown, S. D. *et al.* Gold Nanoparticles for the Improved Anticancer Drug Delivery of the Active Component of Oxaliplatin. *J. Am. Chem. Soc.* **132**, 4678–4684 (2010).
64. Sahoo, N. G. *et al.* Functionalized carbon nanomaterials as nanocarriers for loading and delivery of a poorly water-soluble anticancer drug: a comparative study. *Chem. Commun. Camb. Engl.* **47**, 5235–5237 (2011).
65. Klumpp, C., Kostarelos, K., Prato, M. & Bianco, A. Functionalized carbon nanotubes as emerging nanovectors for the delivery of therapeutics. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Biomembr.* **1758**, 404–412 (2006).

66. Kam, N. W. S., O'Connell, M., Wisdom, J. A. & Dai, H. Carbon nanotubes as multifunctional biological transporters and near-infrared agents for selective cancer cell destruction. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **102**, 11600–11605 (2005).
67. Rastogi, V. *et al.* Carbon Nanotubes: An Emerging Drug Carrier for Targeting Cancer Cells. *J. Drug Deliv.* **2014**, (2014).
68. Eatemadi, A. *et al.* Carbon nanotubes: properties, synthesis, purification, and medical applications. *Nanoscale Res. Lett.* **9**, 393 (2014).
69. Rubrique synth_se - AP2007sa0417-3.pdf.
70. Hirsch, L. R. *et al.* Nanoshell-mediated near-infrared thermal therapy of tumors under magnetic resonance guidance. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **100**, 13549–13554 (2003).
71. Couvreur, P. [Drug vectorization or how to modulate tissular and cellular distribution of biologically active compounds]. *Ann. Pharm. Fr.* **59**, 232–238 (2001).
72. Moghimi, S. M., Hunter, A. C. & Murray, J. C. Long-circulating and target-specific nanoparticles: theory to practice. *Pharmacol. Rev.* **53**, 283–318 (2001).
73. npgrj_nbt_1159 1418..1423 - 110927 Weissleder et al_Nature Biotechnology_Cell targeting.pdf. Available at: http://www.chem.tamu.edu/rgroup/wooley/chem689/Articles/110927%20Weissleder%20et%20al_Nature%20Biotechnology_Cell%20targeting.pdf. (Accessed: 6th September 2017)
74. Wang, A. Z., Langer, R. & Farokhzad, O. C. Nanoparticle delivery of cancer drugs. *Annu. Rev. Med.* **63**, 185–198 (2012).
75. Marelli, U. K., Rechenmacher, F., Sobahi, T. R. A., Mas-Moruno, C. & Kessler, H. Tumor Targeting via Integrin Ligands. *Front. Oncol.* **3**, 222 (2013).
76. Goldmann, E. The Growth of Malignant Disease in Man and the Lower Animals, with special reference to the Vascular System. *Proc. R. Soc. Med.* **1**, 1–13 (1908).
77. Hashizume, H. *et al.* Openings between Defective Endothelial Cells Explain Tumor Vessel Leakiness. *Am. J. Pathol.* **156**, 1363–1380 (2000).
78. Ortéga, N. *et al.* [Modulation of the tumoral progression by anti-idiotypic

- antibodies of angiogenesis factors]. *C. R. Acad. Sci. III* **319**, 411–415 (1996).
79. Ferrara, N. Vascular endothelial growth factor. *Eur. J. Cancer Oxf. Engl. 1990* **32A**, 2413–2422 (1996).
80. Klagsbrun, M. & D'Amore, P. A. Vascular endothelial growth factor and its receptors. *Cytokine Growth Factor Rev.* **7**, 259–270 (1996).
81. Plate, K. H. & Warnke, P. C. Vascular endothelial growth factor. *J. Neurooncol.* **35**, 365–372 (1997).
82. Kratz, F., Senter, P. & Steinhagen, H. *Drug Delivery in Oncology: From Basic Research to Cancer Therapy, 3 Volume Set.* (John Wiley & Sons, 2013).
83. Jang, S. H., Wientjes, M. G., Lu, D. & Au, J. L. S. Drug delivery and transport to solid tumors. *Pharm. Res.* **20**, 1337–1350 (2003).
84. Bertrand, N., Wu, J., Xu, X., Kamaly, N. & Farokhzad, O. C. Cancer nanotechnology: the impact of passive and active targeting in the era of modern cancer biology. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **66**, 2–25 (2014).
85. Marcucci, F. & Corti, A. How to improve exposure of tumor cells to drugs: promoter drugs increase tumor uptake and penetration of effector drugs. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **64**, 53–68 (2012).
86. Abuchowski, A., McCoy, J. R., Palczuk, N. C., van Es, T. & Davis, F. F. Effect of covalent attachment of polyethylene glycol on immunogenicity and circulating life of bovine liver catalase. *J. Biol. Chem.* **252**, 3582–3586 (1977).
87. Jevsevar, S., Kunstelj, M. & Porekar, V. G. PEGylation of therapeutic proteins. *Biotechnol. J.* **5**, 113–128 (2010).
88. Swierczewska, M., Lee, K. C. & Lee, S. What is the future of PEGylated therapies? *Expert Opin. Emerg. Drugs* **20**, 531–536 (2015).
89. Allen, T. M., Hansen, C., Martin, F., Redemann, C. & Yau-Young, A. Liposomes containing synthetic lipid derivatives of poly(ethylene glycol) show prolonged circulation half-lives in vivo. *Biochim. Biophys. Acta* **1066**, 29–36 (1991).
90. Gabizon, A. A. Stealth liposomes and tumor targeting: one step further in the quest for the magic bullet. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* **7**, 223–225 (2001).

91. Ishida, T., Maeda, R., Ichihara, M., Irimura, K. & Kiwada, H. Accelerated clearance of PEGylated liposomes in rats after repeated injections. *J. Control. Release Off. J. Control. Release Soc.* **88**, 35–42 (2003).
92. Ishida, T. & Kiwada, H. Accelerated blood clearance (ABC) phenomenon upon repeated injection of PEGylated liposomes. *Int. J. Pharm.* **354**, 56–62 (2008).
93. Cui, J. *et al.* Repeated injection of pegylated liposomal antitumour drugs induces the disappearance of the rapid distribution phase. *J. Pharm. Pharmacol.* **60**, 1651–1657 (2008).
94. Allen, T. M., Sapro, P., Moase, E., Moreira, J. & Iden, D. Adventures in targeting. *J. Liposome Res.* **12**, 5–12 (2002).
95. Zevalin Avis 2 .doc - ct031604.pdf. Available at: <http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/ct031604.pdf>. (Accessed: 1st August 2016)
96. Saha, R. N., Vasanthakumar, S., Bende, G. & Snehalatha, M. Nanoparticulate drug delivery systems for cancer chemotherapy. *Mol. Membr. Biol.* **27**, 215–231 (2010).
97. Schaller, G. *et al.* Therapy of metastatic breast cancer with humanized antibodies against the HER2 receptor protein. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* **125**, 520–524 (1999).
98. Baker, M. P., Reynolds, H. M., Lumicisi, B. & Bryson, C. J. Immunogenicity of protein therapeutics. *Self Nonself* **1**, 314–322 (2010).
99. Peterson, E., Owens, S. M. & Henry, R. L. Monoclonal antibody form and function: Manufacturing the right antibodies for treating drug abuse. *AAPS J.* **8**, E383–E383 (2006).
100. Beckman, R. A., Weiner, L. M. & Davis, H. M. Antibody constructs in cancer therapy: protein engineering strategies to improve exposure in solid tumors. *Cancer* **109**, 170–179 (2007).
101. Hagemeyer, C. E., von Zur Muhlen, C., von Elverfeldt, D. & Peter, K. Single-chain antibodies as diagnostic tools and therapeutic agents. *Thromb. Haemost.* **101**, 1012–1019 (2009).

102. Colas, P. The eleven-year switch of peptide aptamers. *J. Biol.* **7**, 2 (2008).
103. Ellington, A. D. & Szostak, J. W. In vitro selection of RNA molecules that bind specific ligands. *Nature* **346**, 818–822 (1990).
104. Green, R., Ellington, A. D. & Szostak, J. W. In vitro genetic analysis of the Tetrahymena self-splicing intron. *Nature* **347**, 406–408 (1990).
105. Carothers, J. M., Oestreich, S. C. & Szostak, J. W. Aptamers Selected for Higher-Affinity Binding Are Not More Specific for the Target Ligand. *J. Am. Chem. Soc.* **128**, 7929–7937 (2006).
106. Farokhzad, O. C. *et al.* Nanoparticle-aptamer bioconjugates: a new approach for targeting prostate cancer cells. *Cancer Res.* **64**, 7668–7672 (2004).
107. Frankel, A. D. & Pabo, C. O. Cellular uptake of the tat protein from human immunodeficiency virus. *Cell* **55**, 1189–1193 (1988).
108. Wang, S., Lee, R. J., Cauchon, G., Gorenstein, D. G. & Low, P. S. Delivery of antisense oligodeoxyribonucleotides against the human epidermal growth factor receptor into cultured KB cells with liposomes conjugated to folate via polyethylene glycol. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **92**, 3318–3322 (1995).
109. Russell-Jones, G., McTavish, K., McEwan, J., Rice, J. & Nowotnik, D. Vitamin-mediated targeting as a potential mechanism to increase drug uptake by tumours. *J. Inorg. Biochem.* **98**, 1625–1633 (2004).
110. Weitman, S. D. *et al.* Distribution of the folate receptor GP38 in normal and malignant cell lines and tissues. *Cancer Res.* **52**, 3396–3401 (1992).
111. Mizrahy, S. *et al.* Hyaluronan-coated nanoparticles: the influence of the molecular weight on CD44-hyaluronan interactions and on the immune response. *J. Control. Release Off. J. Control. Release Soc.* **156**, 231–238 (2011).
112. Daniels, T. R., Delgado, T., Rodriguez, J. A., Helguera, G. & Penichet, M. L. The transferrin receptor part I: Biology and targeting with cytotoxic antibodies for the treatment of cancer. *Clin. Immunol. Orlando Fla* **121**, 144–158 (2006).
113. van der Meel, R., Vehmeijer, L. J. C., Kok, R. J., Storm, G. & van Gaal, E. V. B. Ligand-targeted particulate nanomedicines undergoing clinical evaluation: current status. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **65**, 1284–1298 (2013).

114. Cheng, Z., Zaki, A. A., Hui, J. Z., Muzykantov, V. R. & Tsourkas, A. Multifunctional Nanoparticles: Cost versus benefit of adding targeting and imaging capabilities. *Science* **338**, 903 (2012).
115. Hillaireau, H. & Couvreur, P. Nanocarriers' entry into the cell: relevance to drug delivery. *Cell. Mol. Life Sci. CMLS* **66**, 2873–2896 (2009).
116. Kawano, K., Onose, E., Hattori, Y. & Maitani, Y. Higher liposomal membrane fluidity enhances the in vitro antitumor activity of folate-targeted liposomal mitoxantrone. *Mol. Pharm.* **6**, 98–104 (2009).
117. Stuart, L. M. & Ezekowitz, R. A. Phagocytosis and comparative innate immunity: learning on the fly. *Nat. Rev. Immunol.* **8**, 131–141 (2008).
118. Gaultier, R. (Dr). *Les Opsonines et la thérapeutique opsonisante par les vaccins de Wright, par le Dr René Gaultier,...* (J.-B. Baillièrre et fils, 1913).
119. Suzuki, F., Matsumoto, K., Schmitt, D. A., Pollard, R. B. & Maeda, H. Immunomodulating activities of orally administered SMANCS, a polymer-conjugated derivative of the proteinaceous antibiotic neocarzinostatin, in an oily formulation. *Int. J. Immunopharmacol.* **15**, 175–183 (1993).
120. Barenholz, Y. (Chezy). Doxil® — The first FDA-approved nano-drug: Lessons learned. *J. Controlled Release* **160**, 117–134 (2012).
121. O'Brien, M. E. R. *et al.* Reduced cardiotoxicity and comparable efficacy in a phase III trial of pegylated liposomal doxorubicin HCl (CAELYX/Doxil) versus conventional doxorubicin for first-line treatment of metastatic breast cancer. *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.* **15**, 440–449 (2004).
122. Liang, C. *et al.* Improved therapeutic effect of folate-decorated PLGA-PEG nanoparticles for endometrial carcinoma. *Bioorg. Med. Chem.* **19**, 4057–4066 (2011).
123. Dhar, S., Kolishetti, N., Lippard, S. J. & Farokhzad, O. C. Targeted delivery of a cisplatin prodrug for safer and more effective prostate cancer therapy in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **108**, 1850–1855 (2011).
124. Aravind, A. *et al.* AS1411 aptamer tagged PLGA-lecithin-PEG nanoparticles for tumor cell targeting and drug delivery. *Biotechnol. Bioeng.* **109**, 2920–2931 (2012).

125. Jin, S.-E., Jin, H.-E. & Hong, S.-S. Targeted delivery system of nanobiomaterials in anticancer therapy: from cells to clinics. *BioMed Res. Int.* **2014**, 814208 (2014).
126. Kirpotin, D. B. *et al.* Antibody targeting of long-circulating lipidic nanoparticles does not increase tumor localization but does increase internalization in animal models. *Cancer Res.* **66**, 6732–6740 (2006).
127. Sugahara, K. N. *et al.* Tissue-penetrating delivery of compounds and nanoparticles into tumors. *Cancer Cell* **16**, 510–520 (2009).
128. Kim, G. nab-Paclitaxel for the treatment of pancreatic cancer. *Cancer Manag. Res.* **9**, 85–96 (2017).
129. Ahrén, M. *et al.* Synthesis and Characterization of PEGylated Gd₂O₃ Nanoparticles for MRI Contrast Enhancement. *Langmuir* **26**, 5753–5762 (2010).
130. Bourrinet, P. *et al.* Preclinical safety and pharmacokinetic profile of ferumoxtran-10, an ultrasmall superparamagnetic iron oxide magnetic resonance contrast agent. *Invest. Radiol.* **41**, 313–324 (2006).
131. Weinstein, J. S. *et al.* Superparamagnetic iron oxide nanoparticles: diagnostic magnetic resonance imaging and potential therapeutic applications in neurooncology and central nervous system inflammatory pathologies, a review. *J. Cereb. Blood Flow Metab. Off. J. Int. Soc. Cereb. Blood Flow Metab.* **30**, 15–35 (2010).
132. Magnetic Nanoparticle Thermoablation-Retention and Maintenance in the Prostate:A Phase 0 Study in Men - Full Text View - ClinicalTrials.gov. Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT02033447>. (Accessed: 6th September 2016)
133. Search of: nanoparticles | Recruiting Studies | gold - List Results - ClinicalTrials.gov. Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=gold+&term=nanoparticles&cntry1=&state1=&Search=Search&recrs=a>. (Accessed: 6th September 2017)
134. Cobley, C. M., Au, L., Chen, J. & Xia, Y. Targeting Gold Nanocages to Cancer Cells for Photothermal Destruction and Drug Delivery. *Expert Opin. Drug Deliv.* **7**, 577–587 (2010).

135. Marill, J. *et al.* Hafnium oxide nanoparticles: toward an in vitro predictive biological effect? *Radiat. Oncol. Lond. Engl.* **9**, 150 (2014).
136. Moos, P. J. *et al.* ZnO particulate matter requires cell contact for toxicity in human colon cancer cells. *Chem. Res. Toxicol.* **23**, 733–739 (2010).
137. Laden, F., Schwartz, J., Speizer, F. E. & Dockery, D. W. Reduction in fine particulate air pollution and mortality: Extended follow-up of the Harvard Six Cities study. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **173**, 667–672 (2006).
138. De Jong, W. H. & Borm, P. J. A. Drug delivery and nanoparticles: applications and hazards. *Int. J. Nanomedicine* **3**, 133–149 (2008).
139. Donaldson, K. *et al.* Pulmonary toxicity of carbon nanotubes and asbestos - similarities and differences. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **65**, 2078–2086 (2013).
140. Murugadoss, S. *et al.* Toxicology of silica nanoparticles: an update. *Arch. Toxicol.* (2017). doi:10.1007/s00204-017-1993-y
141. Ma-Hock, L. *et al.* Short term inhalation toxicity of a liquid aerosol of CdS/Cd(OH)₂ core shell quantum dots in male Wistar rats. *Toxicol. Lett.* **208**, 115–124 (2012).
142. One-Month Persistence of Inflammation and Alteration of Fibrotic Marker and Cytoskeletal Proteins in Rat Kidney After Cd-Doped Silica Nanoparticle Instillation. *PubMed Journals* Available at: <https://ncbi.nlm.nih.gov/labs/articles/25445720/>. (Accessed: 5th September 2017)
143. Sung, J. H. *et al.* Subchronic inhalation toxicity of silver nanoparticles. *Toxicol. Sci. Off. J. Soc. Toxicol.* **108**, 452–461 (2009).
144. Chen, Z. *et al.* Acute toxicological effects of copper nanoparticles in vivo. *Toxicol. Lett.* **163**, 109–120 (2006).
145. Kim, Y. S. *et al.* Subchronic oral toxicity of silver nanoparticles. *Part. Fibre Toxicol.* **7**, 20 (2010).
146. A comprehensive in vitro and in vivo study of ZnO nanoparticles toxicity - Journal of Materials Chemistry B (RSC Publishing). Available at: <http://pubs.rsc.org/en/Content/ArticleLanding/2013/TB/c3tb20251h#!divAbstract>. (Accessed: 3rd September 2017)

147. Silva, A. H. *et al.* Visceral fat increase and signals of inflammation in adipose tissue after administration of titanium dioxide nanoparticles in mice. *Toxicol. Ind. Health* **33**, 147–158 (2017).
148. Chen, H. *et al.* In Vivo Study of Spherical Gold Nanoparticles: Inflammatory Effects and Distribution in Mice. *PLOS ONE* **8**, e58208 (2013).
149. Ze, Y. *et al.* Molecular mechanism of titanium dioxide nanoparticles-induced oxidative injury in the brain of mice. *Chemosphere* **92**, 1183–1189 (2013).
150. Bellusci, M. *et al.* Biodistribution and acute toxicity of a nanofluid containing manganese iron oxide nanoparticles produced by a mechanochemical process. *International Journal of Nanomedicine* (2014). doi:10.2147/IJN.S56394
151. Wang, B. *et al.* Transport of Intranasally Instilled Fine Fe₂O₃ Particles into the Brain: Micro-distribution, Chemical States, and Histopathological Observation. *Biol. Trace Elem. Res.* **118**, 233–243 (2007).
152. Win-Shwe, T. T., Fujitani, Y., Hirano, S. & Fujimaki, H. [Exposure to nanoparticle-rich diesel exhaust affects hippocampal functions in mice]. *Nihon Eiseigaku Zasshi Jpn. J. Hyg.* **66**, 628–633 (2011).
153. Recommandations Nanoparticules - seconde edit oct 2011 finale - 7042aee471537987a082180039a5bded.pdf. Available at: http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/7042aee471537987a082180039a5bded.pdf. (Accessed: 3rd September 2017)
154. Yildirimer, L., Thanh, N. T. K., Loizidou, M. & Seifalian, A. M. Toxicology and clinical potential of nanoparticles. *Nano Today* **6**, 585–607 (2011).
155. Chan, H.-K. & Kwok, P. C. L. Production methods for nanodrug particles using the bottom-up approach. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **63**, 406–416 (2011).
156. Nanoparticles of ZnO Obtained by Mechanical Milling (PDF Download Available). *ResearchGate* doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.powtec.2004.09.014>
157. Date, A. A. & Patravale, V. B. Current strategies for engineering drug nanoparticles. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **9**, 222–235 (2004).
158. High energy ball milling process for nanomaterial synthesis. Available at: <http://www.understandingnano.com/nanomaterial-synthesis-ball-milling.html>.

(Accessed: 30th August 2017)

159. Patravale, V. B., Date, A. A. & Kulkarni, R. M. Nanosuspensions: a promising drug delivery strategy. *J. Pharm. Pharmacol.* **56**, 827–840 (2004).
160. Keck, C. M. & Müller, R. H. Drug nanocrystals of poorly soluble drugs produced by high pressure homogenisation. *Eur. J. Pharm. Biopharm. Off. J. Arbeitsgemeinschaft Pharm. Verfahrenstechnik EV* **62**, 3–16 (2006).
161. Eerikäinen, H., Watanabe, W., Kauppinen, E. I. & Ahonen, P. P. Aerosol flow reactor method for synthesis of drug nanoparticles. *Eur. J. Pharm. Biopharm. Off. J. Arbeitsgemeinschaft Pharm. Verfahrenstechnik EV* **55**, 357–360 (2003).
162. Jaworek, A. Electrostatic micro- and nanoencapsulation and electroemulsification: a brief review. *J. Microencapsul.* **25**, 443–468 (2008).
163. Sridhar, R. & Ramakrishna, S. Electrospayed nanoparticles for drug delivery and pharmaceutical applications. *Biomatter* **3**, (2013).
164. Polymer nanoparticles: Preparation techniques and size-control parameters - ScienceDirect. Available at:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079670011000232>. (Accessed: 30th August 2017)
165. Le financement sur projets au service de la recherche. ANR Available at:
<http://www.agence-nationale-recherche.fr/>. (Accessed: 11th September 2017)
166. Singh, V. K., Saini, A. & Chandra, R. The Implications and Future Perspectives of Nanomedicine for Cancer Stem Cell Targeted Therapies. *Front. Mol. Biosci.* **4**, (2017).
167. Mohyeldin, A., Garzón-Muvdi, T. & Quiñones-Hinojosa, A. Oxygen in stem cell biology: a critical component of the stem cell niche. *Cell Stem Cell* **7**, 150–161 (2010).
168. Xia, P. Surface markers of cancer stem cells in solid tumors. *Curr. Stem Cell Res. Ther.* **9**, 102–111 (2014).
169. Li, Y. & Zhang, T. Targeting cancer stem cells by curcumin and clinical applications. *Cancer Lett.* **346**, 197–205 (2014).
170. Wang, K. *et al.* Novel micelle formulation of curcumin for enhancing antitumor

- activity and inhibiting colorectal cancer stem cells. *Int. J. Nanomedicine* **7**, 4487–4497 (2012).
171. Mikhaylov, G. *et al.* Ferri-liposomes as an MRI-visible drug-delivery system for targeting tumours and their microenvironment. *Nat. Nanotechnol.* **6**, 594–602 (2011).
172. Rivera-Gil, P., De Koker, S., De Geest, B. G. & Parak, W. J. Intracellular processing of proteins mediated by biodegradable polyelectrolyte capsules. *Nano Lett.* **9**, 4398–4402 (2009).
173. Chanana, M., Rivera Gil, P., Correa-Duarte, M. A., Liz-Marzán, L. M. & Parak, W. J. Physicochemical properties of protein-coated gold nanoparticles in biological fluids and cells before and after proteolytic digestion. *Angew. Chem. Int. Ed Engl.* **52**, 4179–4183 (2013).
174. Kim, H. J. *et al.* Multifunctional polyion complex micelle featuring enhanced stability, targetability, and endosome escapability for systemic siRNA delivery to subcutaneous model of lung cancer. *Drug Deliv. Transl. Res.* **4**, 50–60 (2014).
175. Suma, T. *et al.* Smart multilayered assembly for biocompatible siRNA delivery featuring dissolvable silica, endosome-disrupting polycation, and detachable PEG. *ACS Nano* **6**, 6693–6705 (2012).
176. Pelaz, B. *et al.* Diverse Applications of Nanomedicine. *ACS Nano* **11**, 2313–2381 (2017).
177. Couvreur, P. [Nanotechnologies for designing new medicines]. *Biol. Aujourd'hui* **206**, 237–248 (2012).
178. Cui, Q. *et al.* Biodistribution of arctigenin-loaded nanoparticles designed for multimodal imaging. *J. Nanobiotechnology* **15**, (2017).
179. Linot, C. *et al.* PEGylated Anionic Magnetofluorescent Nanoassemblies: Impact of Their Interface Structure on Magnetic Resonance Imaging Contrast and Cellular Uptake. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **9**, 14242–14257 (2017).

jury, Mme Émilie ALLARD-VANNIER

Vu, le Président du

Signature ⇨

Pr Stéphane BIRKLÉ

Vu, le Directeur de thèse,

Signature ⇨

Mme le Doyen Virginie FERRE

Vu, le Directeur de l'UFR,

UNIVERSITÉ DE NANTES**Année de la soutenance
2017**

Nom – Prénom : LINOT Camille**Titre de la thèse : Les nanovecteurs en cancérologie : état de l'art, avancées et perspectives**

Résumé de la thèse :

La thérapie anticancéreuse est aujourd'hui au cœur des thématiques de recherche. Elle représente certainement un des challenges les plus importants du 21ème siècle. La plupart des traitements utilisés à l'heure actuelle sont exposés à des modifications pharmacocinétiques importantes par l'organisme du patient et sont responsables d'effets secondaires parfois graves, à l'origine d'un arrêt du traitement. La vectorisation à l'aide de composés issus des nanomédecines apparaît comme une solution intéressante pour améliorer les propriétés des agents thérapeutiques. Il existe plusieurs médicaments qui utilisent cette technologie et qui possèdent une AMM. Je reviendrais sur les différents systèmes disponibles et sur des exemples de vecteurs en cours de développement. Bien que les nanovecteurs promettent de belles avancées dans la thérapie des cancers, ils peuvent être à l'origine d'une toxicité encore mal connue qui sera nécessaire d'être étudiée. Leur développement à l'échelle industrielle est lui aussi un défis à relever aux vues de la diversité des méthodes de production. Pourtant, les nanomédecines offrent des perspectives d'améliorations des traitements intéressantes et la capacité de combiner plusieurs techniques grâce à un seul système.

MOTS CLÉS : THÉRAPIE ANTICANCÉREUSE, VECTORISATION, NANOMÉDECINES.

JURY**PRÉSIDENT : Madame le Docteur Émilie ALLARD-VANNIER, MCU
Faculté de Pharmacie de Tours****ASSESEURS : Monsieur le Professeur Stéphane BIRKLÉ, PU, Université de Nantes
Monsieur le Docteur Lénaïc LARTIGUE, MCU, Université de Nantes
Monsieur le Docteur François ETCHEVERRIGARAY, CHD Vendée**

Adresse de l'auteur : 14 rue du commerce, 49690 CORON