

Nanotechnologies et médicaments

pour de nouvelles thérapeutiques.

Patrick Couvreur ^{1,2}

L'apparition des nanotechnologies a profondément renouvelé la manière d'administrer les médicaments. Parce qu'elles sont à une échelle nanométrique (1 nanomètre [nm] = 10^{-9} m = 0,001 micron), les nanotechnologies ne sont pas la simple miniaturisation d'objets plus grands, mais elles font apparaître des propriétés que l'on ne retrouve qu'à cette échelle. Le domaine du médicament n'échappe pas à cette règle. Jusqu'au début des années 1970, on considérait qu'il n'était pas possible d'administrer par voie intraveineuse des suspensions pharmaceutiques (dispersion de particules solides dans un liquide) en raison des risques d'embolie. Aujourd'hui, la conception de suspensions nanoparticulaires chargées en médicaments (nanomédicaments) permet, au contraire, d'augmenter l'efficacité thérapeutique de nombreux composés (amélioration de l'activité, réduction de la toxicité) en les adressant de manière sélective vers les tissus et cellules malades : c'est ce qu'on appelle la vectorisation des médicaments. Les « nanovecteurs » sont capables de protéger la molécule active de la dégradation par les enzymes de l'organisme, de l'adresser sélectivement vers le tissu ou la cellule cible, et d'en contrôler la libération. Plus spécifiques que

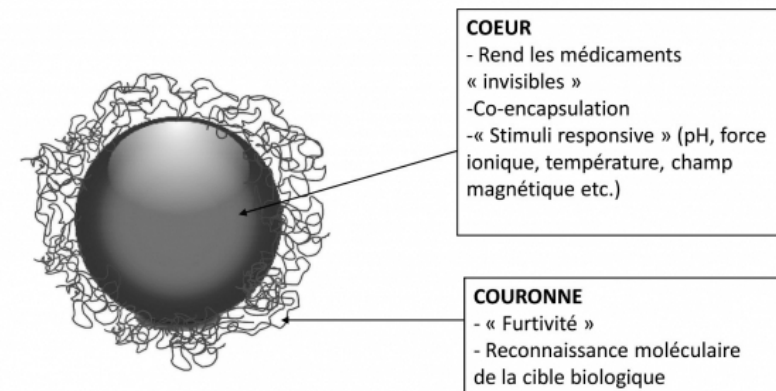
¹ Professeur de Pharmacie à l'Université Paris-Sud, prix Gallien 2009, titulaire de la chaire *Innovations technologiques* au Collège de France en 2009-2010.

² Article rédigé par Y. Larabi-Godinot et M. Godinot à partir de notes prises lors de la conférence (et du texte de la leçon inaugurale au Collège de France du 21-01-2010) et relu par l'auteur.

les formulations pharmaceutiques traditionnelles, les « nanomédicaments » permettent de concevoir de nouvelles stratégies thérapeutiques dans la lutte contre des maladies sévères : cancers, infections intracellulaires, maladies métaboliques ou neurodégénératives, etc. Nous allons en voir des exemples.

Les nanovecteurs.

Dans les échelles de longueurs, en partant de l'atome (de l'ordre de $1/10^8$ de nm) et en montant d'un ordre de grandeur à chaque fois, on passe aux petites molécules (moins de 10 nm), aux protéines qui font 10 à 20 nm, aux virus qui font 20 à 400 nm puis aux bactéries qui mesurent de 500 nm à 10 microns ; les globules rouges font 7 microns, les grains de pollen de 10 à 100 microns. Les nanoparticules ont une taille intermédiaire entre la taille des virus et celle des bactéries. Du point de vue de leur taille, les nano-objets ressemblent donc aux particules naturelles et ils vont être traités dans certains cas par l'organisme comme des particules naturelles ; en d'autres termes, les nanovecteurs vont être capables de tromper l'organisme.



Tous les nanovecteurs se caractérisent par deux composantes : le cœur et la couronne (voir figure). Il est possible à l'heure actuelle, grâce à la chimie des matériaux et à la chimie de surface, d'équiper ce cœur et cette couronne de toute une série de fonctionnalités adaptées à l'objectif thérapeutique. La couronne va donner de la furtivité au nanovecteur alors que le cœur permet d'encapsuler des molécules biologiquement actives pour les rendre « invisibles » vis-à-vis des mécanismes de détoxification, comme par exemple ceux dont sont équipées les cellules cancéreuses et qui conduisent à des phénomènes de résistance au traitement.

La chimie des matériaux a fait des progrès considérables ces dernières années, ce qui permet de développer des nanovecteurs avec des architectures diverses et variées, adaptées à l'objectif thérapeutique. Par exemple on peut utiliser des phospholipides naturels qui sont les constituants de la membrane cellulaire. On peut utiliser ces phospholipides pour former des vésicules phospholipidiques qu'on appelle liposomes. Et selon le procédé de préparation, on va pouvoir faire des liposomes à une seule ou plusieurs couches de phospholipides. Il est possible d'utiliser des polymères biodégradables que l'on va mettre en œuvre selon des procédés extrêmement variés. Par exemple : pour former des nanoparticules qu'on va appeler nanosphères, on va structurer un polymère pour avoir une nanomatrice polymère dans laquelle le médicament va être dispersé à l'échelle moléculaire. En utilisant le même polymère biodégradable et en faisant une polymérisation interfaciale autour d'une nanogouttelette d'eau ou d'huile, on obtient un système de réservoir qu'on va appeler nanocapsule. L'apparence morphologique de ces nanocapsules est bien différente de celle des nanosphères. Le cœur du nanocomplexe sera aqueux ou huileux selon le médicament encapsulé. Au Japon, un collègue a utilisé des polymères qui ont

une partie hydrophobe et une partie hydrophile, cela conduit à la formation de polymères « micelles » d'une dizaine de nanomètres. Autre exemple, une collaboration extrêmement récente avec l'Institut Lavoisier à Versailles nous a permis finalement de développer des systèmes nanoporeux hybrides à base de carboxylase de fer dans lesquels il est tout à fait possible de définir la taille de pores qui correspondent exactement à la taille moléculaire du médicament qui va être introduit. Quand on regarde toutes ces morphologies des nanovecteurs en microscopie électronique, on voit très bien qu'on dispose actuellement d'un arsenal qui est extrêmement riche et varié, et qui est efficace.

Exemple : un médicament anticancéreux rendu « invisible ».

Les cellules cancéreuses expriment des protéines d'efflux qui combattent les traitements chimiques; ces protéines vont rejeter les médicaments de l'intérieur vers l'extérieur de la cellule. Elles ont ainsi une résistance vis-à-vis des drogues, et les cancers concernés sont très difficiles à traiter. Ainsi ces cellules cancéreuses sont résistantes à la doxorubicine (médicament anti-cancéreux avéré) et ce quelle que soit sa concentration. L'idée est de camoufler la doxorubicine de la reconnaissance de la protéine en l'introduisant à l'intérieur d'un nanoréseau polymère (biodégradable); de cette manière, on va tromper la protéine et on va restaurer la sensibilité de la cellule cancéreuse au traitement; le médicament va alors être efficace et agir sur les cellules cancéreuses. On a pu mesurer cet effet, spectaculaire, sur des souris transgéniques porteuses d'un hépatocarcinome résistant à la doxorubicine (sur des images scanner d'essais cliniques, on voit la nécrose d'une tumeur après quatre semaines de traitement).

Une autre idée est de tirer profit de la conformation moléculaire compacte du squalène³ pour coupler ce lipide naturel avec des petites molécules à activité anticancéreuse ou antivirale. Les nanomédicaments ainsi obtenus se sont révélés beaucoup plus efficaces que les molécules mères. Ce concept a d'abord été appliqué à la gemcitabine, un anticancéreux majeur qui s'incorpore dans le métabolisme des bases pyrimidiques et perturbe la synthèse de l'ADN. La quantité de gemcitabine véhiculée par ces nano-objets est très supérieure au meilleur résultat obtenu auparavant avec les liposomes ou les nanoparticules classiques. Ce nanomédicament a donné lieu à des résultats spectaculaires. In vivo, il est beaucoup plus efficace que la gemcitabine sur des tumeurs solides greffées par voie sous-cutanée et sur des leucémies agressives chez des souris.

Nanoparticules « guidées » par un champ magnétique.

On peut équiper le « cœur » des nanovecteurs avec des particules d'oxyde de fer, qui répondent à un champ magnétique extracorporel. C'est ce que nous avons réalisé récemment pour le guidage d'un anticancéreux (la gemcitabine) dans un modèle murin de tumeur transplantée. Pratiquement, des particules magnétiques minuscules (quelques nanomètres) ont été piégées dans une matrice (d'une taille d'une centaine de nanomètres) constituée d'un lipide naturel (le squalène) couplé à la gemcitabine. Ces nanoconstructions sont injectées par voie intraveineuse pendant qu'un aimant est placé au niveau de la tumeur. L'inhibition de la croissance tumorale est spectaculaire et peut être suivie par imagerie en résonance magnétique nucléaire (RMN) grâce à la

³ Lipide de composition hydrocarbonée naturellement produit par tous les organismes supérieurs dont les hommes, c'est un intermédiaire essentiel dans la biosynthèse du cholestérol et de la vitamine D.

présence des particules d'oxyde de fer. Le cœur de ce nanovecteur a donc également une fonction diagnostique, ce qui ouvre la voie de la médecine personnalisée. Dans les expériences réalisées, le volume de tumeurs inoculées à des souris augmente énormément 10 à 15 jours après la greffe des cellules tumorales, sans traitement ou avec gemcitabine seule. Chez celles qui ont été traitées avec de la gemcitabine associée à du squalène + particules de fer et ciblée grâce à un aimant, la tumeur cesse de croître.

Distribution tissulaire, effet « EPR » et accumulation dans les tumeurs.

Lorsqu'ils sont injectés dans le sang, les nanovecteurs présentent à l'organisme des surfaces considérables sur lesquelles vont venir se fixer (par adsorption) de nombreuses protéines plasmatiques. Parmi celles-ci, les opsonines produisent une signature moléculaire, qui fait reconnaître les nanovecteurs comme des particules exogènes (comme pour des bactéries ou des virus). Ce marquage immunologique permet la reconnaissance des nanomédicaments par les macrophages du foie et de la rate. Ceux-ci sont équipés de récepteurs capables de reconnaître les particules opsonisées et de les phagocyter rapidement et en grande quantité. Il y a donc accumulation du médicament dans le foie et la rate. Cette distribution peut donc être mise à profit pour traiter des pathologies hépatiques comme l'hépatocarcinome mentionné précédemment.

Si l'on veut atteindre d'autres territoires biologiques que le tissu hépatique, il sera donc nécessaire d'empêcher ces phénomènes d'opsonisation afin de pouvoir réduire la capture massive du médicament par le foie et la rate. Pour cela, on va équiper la « couronne » du nanovecteur de polymères hydrophiles et flexibles par exemple les PolyEthyènes Glycols (PEG, on

parle alors de « PEGylation »). Ceux-ci, par un effet de répulsion, vont empêcher l'adsorption des protéines plasmatiques à la surface des nanovecteurs. Après injection dans le sang, ces nanosystèmes « PEGylés » vont posséder un temps de vie plasmatique prolongé, et leur capture hépatique sera réduite. Le caractère « furtif » (absence de reconnaissance par les macrophages du foie, de la rate et de la moelle osseuse) de ces vecteurs dits de « deuxième génération » sera d'autant plus prononcé que les nanotechnologies employées sont de faible taille.

Ces vecteurs « furtifs », présents plus longtemps dans les vaisseaux sanguins, sont capables de traverser la paroi vasculaire lorsqu'elle est rendue plus perméable par la réaction inflammatoire associée à un foyer infectieux ou à la présence d'une tumeur. Cet effet de perméabilité et de rétention tissulaire (appelé effet « EPR » par les anglo-saxons pour Enhanced and Permeability Retention Effect) entraîne une accumulation des vecteurs de médicaments dans les tumeurs ; il permet donc le ciblage de tumeurs localisées hors du système foie/rate. Certains l'appellent aussi « vectorisation passive » car elle résulte d'un effet mécanique et spontané de translocation à travers la paroi des vaisseaux du tissu cible.

D'autres exemples peuvent être donnés, qui concernent des tissus cérébraux. Ainsi, avec une équipe de l'Institut Gustave Roussy, nous avons montré que des nanoparticules PEGylées étaient capables de franchir la barrière hémato-encéphalique, pour atteindre sélectivement un gliome cérébral. De même, l'adressage de nanomédicaments par l'effet « EPR » a été utilisé dans le cas de l'encéphalomyélite allergique expérimentale. Autre exemple, chez le rat, des nanoparticules PEGylées ont été fonctionnalisées par un anticorps, ce qui a permis d'adresser au cerveau un certain peptide anticaspase pour le traitement de l'ischémie cérébrale expérimentale.

Conclusion.

On voit que les avancées réalisées dans le domaine de l'utilisation des nanotechnologies ont permis de rendre les médicaments plus « intelligents ». Ces technologies appliquées au transport et à la vectorisation des médicaments sont capables 1) de « camoufler » et protéger le médicament de l'environnement biologique ; 2) de contrôler la libération de la molécule active par un stimulus externe ; 3) d'échapper à la reconnaissance immunologique par le système réticulo-endothélial ; 4) d'adresser le médicament de manière spécifique au niveau du site d'action. On voit bien que ces applications ne concernent plus seulement des expériences de laboratoires de recherche. À l'heure actuelle, des nanomédicaments sont à la disposition des patients pour le traitement de cancers, de certaines maladies infectieuses, ou pour le diagnostic, tandis que d'autres sont au stade d'études cliniques dans ses différentes phases. Ces développements sont très rapides, sans doute en raison de la flexibilité des matériaux et des procédés utilisés, qui peuvent être adaptés aux exigences des pathologies auxquelles ils sont destinés.

On voit ici que l'injection dans le corps humain de produits venant des nanotechnologies ne correspond en rien à ce qui pourrait être appelé une « augmentation de l'homme » ou une modification de ses potentialités ; ces produits venant des nanotechnologies seront utilisés à des fins thérapeutiques, mais aussi à des fins de diagnostic. Il s'agit de ne pas être frileux devant ces avancées mais de les utiliser à bon escient.