

# Nanotechnologies et nouveaux médicaments

Karine Andrieux, Didier Desmaële, Jean D'Angélo et Patrick Couvreur

## Abstract

### Nanotechnologies and new drugs

Nanotechnologies in drug targeting have a great development during last years and concern works at the interface of chemistry, physics and biology. This article shows how dispersed and sub-microscopic systems are able to pilot drugs into the organism after intravascular administration. Colloidal vectors like liposomes and nanoparticles have been created to control the drug tissular distribution and have contributed to improve the therapeutic index of numerous drugs in domains of cancer and infectious or autoimmune illness. The development of « intelligent » vectors able to modulate the intracellular distribution of a drug is also presented.

## Mots-clés

**Vectorisation de médicaments, liposome, nanoparticule, copolymère, distribution tissulaire et intracellulaire.**

## Key-words

**Drug targeting, liposome, nanoparticle, copolymer, tissular and intracellular distribution.**

L'adressage (ou délivrance spécifique) de molécules thérapeutiques vers un organe, un tissu ou une cellule malade constitue aujourd'hui un défi majeur pour le traitement des maladies humaines, notamment infectieuses, cancéreuses ou d'origine génétique. Dès le début du XX<sup>e</sup> siècle, le savant Paul Ehrlich rêvait déjà de « magic bullet » susceptible d'acheminer un médicament de manière spécifique vers son site d'action. Son rêve est aujourd'hui plus proche de la réalité grâce au développement des nanotechnologies qui ont permis de proposer le concept de vectorisation des médicaments.

En effet, de nombreux principes actifs présentent des caractéristiques physico-chimiques (hydrophilie, poids moléculaires, etc.) peu favorables au passage des barrières biologiques qui séparent le site d'administration du médicament de son site d'action. D'autres molécules actives se heurtent aussi à des barrières enzymatiques entraînant leur dégradation et métabolisation rapides. D'une manière générale, il faut noter que les barrières à traverser sont des systèmes très complexes faisant intervenir plusieurs éléments (épithélium, endothélium, membrane cellulaire) et plusieurs composantes (barrières mécaniques et physico-chimiques et barrières enzymatiques). L'obtention de concentrations efficaces en thérapeutique au niveau du site d'action ne peut donc se faire qu'au détriment d'une importante déperdition de médicament vers d'autres tissus ou cellules, ce qui occasionne des effets toxiques importants et parfois rédhibitoires, c'est-à-dire entraînant l'abandon du traitement par ce médicament en dépit de son efficacité.

D'autre part, le développement des biotechnologies a donné accès en grandes quantités à des protéines recombinantes et à des gènes clonés. Parallèlement, les progrès de la chimie organique sur support fournissent des oligopeptides et des oligonucléotides. Ces molécules sont, sans doute, à la base des médicaments de demain : très sélectifs au niveau moléculaire, ils conduisent à des métabolites endogènes, c'est-à-dire non toxiques. Cependant, les caractéristiques physico-chimiques et biomimétiques de ces molécules aboutissent à les rendre très difficiles à administrer. En effet, elles sont toujours mal absorbées (au

niveau cellulaire et tissulaire), souvent très rapidement dégradées et métabolisées, et donc incapables d'atteindre leur cible au niveau tissulaire ou cellulaire. C'est l'une des principales limites au développement de ces molécules comme médicaments.

C'est pour toutes ces raisons que le développement de vecteurs de médicaments a pris un essor considérable au cours des dernières années. S'appuyant sur de nouveaux concepts physico-chimiques et sur le développement de

## Glossaire

### Carcinome

Cancer développé à partir d'une lignée cellulaire épithéliale, c'est-à-dire aux dépens de la peau et des muqueuses (intestin, estomac, poumons, appareil génital, appareil urinaire...).

### Endocytose

Mécanisme de transport permettant à de grosses molécules ou à de petites particules de pénétrer dans la cellule grâce à la formation d'une vésicule par invagination de la membrane cytoplasmique ; trois types d'endocytose sont distingués : la phagocytose, la pinocytose et l'endocytose médiée par un récepteur.

### Macrophages

Leucocytes (globules blancs) présents dans tous les tissus du corps ayant des fonctions importantes dans l'homéostasie des tissus et la réponse immunitaire ; cellules spécialisées qui éliminent des particules comme des bactéries, des substances étrangères et des cellules mortes par un processus de phagocytose utilisant des opsonines ou d'autres molécules de reconnaissance.

### Opsonines

Protéines plasmatiques (immunoglobulines, complément...) reconnues par les récepteurs transmembranaires des cellules phagocytaires comme les macrophages.

### Poloxamers et poloxamines

Copolymères constitués de polyéthylène glycol (PEG) et de polypropylène glycol (PPG).

La formule d'un poloxamer est de type :  $(\text{PEG})_x-(\text{PPG})_y-(\text{PEG})_x$ , alors que la poloxamine a une formule type :  $[(\text{PEG})_x-(\text{PPG})_y]_2-\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}-[(\text{PPG})_y-(\text{PEG})_x]_2$ .

nouveaux matériaux (synthèse de nouveaux polymères par exemple), la recherche galénique a permis d'imaginer des systèmes submicroniques d'administration capables : (i) de protéger la molécule active de la dégradation et (ii) d'en contrôler la libération dans le temps et dans l'espace. Cet article fait le point des recherches dans ce domaine en montrant l'immense potentiel de ces nouveaux systèmes d'administration et leur rôle dans la découverte de nouveaux médicaments. Cette revue traitera principalement de la voie intravasculaire.

## Les vecteurs à tropisme hépato-splénique

Destinés à être administrés par voie intravasculaire, les vecteurs de médicaments relèvent des nanotechnologies. Celles-ci mettent généralement en œuvre des procédés de type « top-down » (réduction de taille en partant d'un objet de taille supérieure ou miniaturisation) ou « bottom-up » (assemblage d'objets infiniment petits, atomes ou molécules). Les vecteurs de médicaments relèvent souvent de la deuxième approche en mettant à profit les concepts fondamentaux de la physico-chimie pour construire des édifices supramoléculaires (organisés ou non). Pratiquement, la taille des vecteurs destinés à être administrés dans le torrent circulatoire doit être largement inférieure au micron afin de permettre leur circulation dans les capillaires sanguins les plus fins et d'éviter leur obturation.

Les liposomes (*figure 1A*) sont des systèmes colloïdaux vésiculaires, biocompatibles et biodégradables, composés d'une bicouche (liposomes unilamellaires) ou de plusieurs bicouches (liposomes multilamellaires) de phospholipides organisés en phase lamellaire, et délimitant un ou plusieurs compartiments aqueux. Des principes actifs hydrophiles peuvent être encapsulés dans la phase aqueuse tandis que les molécules lipophiles se localisent dans la (les) bicouche(s). Les nanoparticules (*figure 1B-C*) sont des systèmes colloïdaux dont la structure est généralement constituée de polymères, de préférence biodégradables. Les nanoparticules peuvent être de type matriciel (nanosphères, *figure 1B*) ; dans ce cas, le principe actif peut être dispersé ou dissous dans la matrice polymère et être libéré par simple diffusion de la matrice vers l'extérieur ou à la suite de la biodégradation du polymère dans l'organisme. Les nanoparticules peuvent aussi être de type réservoir (nanocapsules, *figure 1C*) ; dans ce cas, elles sont

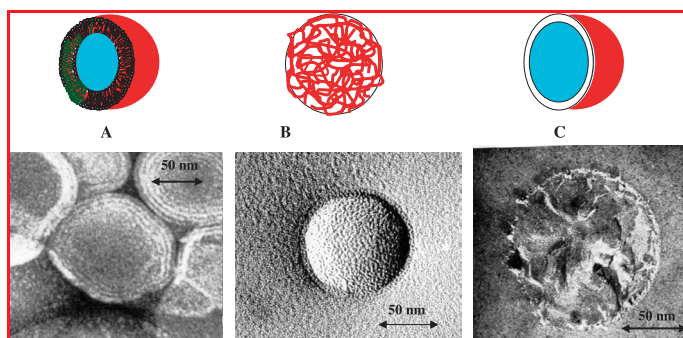


Figure 1 - Les liposomes (A) sont des vésicules formées d'une ou plusieurs bicouches de phospholipides. Les nanosphères (B) sont des particules formées d'une matrice de polymères et les nanocapsules (C) sont constituées d'un cœur aqueux ou huileux entouré d'une fine membrane polymère.

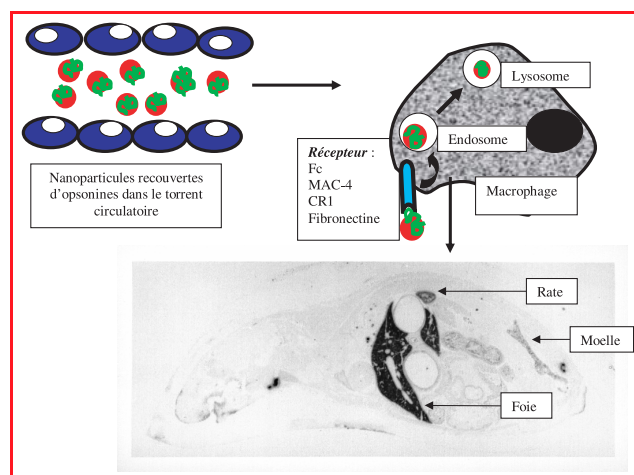


Figure 2 - Après administration intraveineuse, les nanoparticules sont recouvertes d'opsonines plasmatiques et reconnues par les macrophages dans lesquels elles sont endocytées et dégradées par les enzymes lysosomiales. Elles se concentrent dans les tissus du système des phagocytes mononucléés (SPM) : foie, rate, moelle, indiqués par les flèches sur une autoradiographie (radiographie réalisée avec un marqueur radioactif) de rat.

constituées d'un noyau central généralement liquide entouré par une mince paroi de polymère dont l'épaisseur ne dépasse pas quelques nanomètres.

Lorsqu'ils sont administrés par voie intraveineuse, les nanoparticules comme les liposomes interagissent fortement avec les protéines plasmatiques (*figure 2*) en raison de la très grande surface spécifique qu'ils développent (plusieurs dizaines de  $m^2/g$ ). Celle-ci favorise la création d'interactions hydrophobes fortes entre la surface du vecteur et certaines protéines plasmatiques appelées opsonines (immunoglobulines de type G (IgG), éléments du complément, fibronectine, etc.) qui sont reconnues par des récepteurs spécifiques localisés au niveau des macrophages du système des phagocytes mononucléés (SPM) (foie, rate, moelle) (*figure 2*). Les vecteurs colloïdaux décorés d'opsonines et circulant dans le sang sont donc captés principalement par les cellules de Kupffer (macrophages du foie) et les macrophages de la zone marginale de la rate dont les récepteurs reconnaissent spécifiquement les opsonines [1]. Après avoir interagi avec le récepteur macrophagique, les vecteurs sont internalisés par la voie de l'endocytose et ils finiront dans des lysosomes où ils pourront éventuellement être dégradés par les enzymes lysosomiales [2]. Cette distribution hépato-splénique (*figure 2*) est également favorisée par la structure histologique de l'endothélium vasculaire qui, au niveau de ces tissus, a un caractère discontinu autorisant le passage des colloïdes (liposomes et nanoparticules). La distribution tissulaire (hépatosplénique) et intracellulaire (lysosomotropisme) de ces vecteurs de première génération a été mise à profit pour vectoriser des molécules d'intérêt thérapeutique au niveau de ces sites biologiques et traiter ainsi différentes pathologies, notamment le cancer, auquel de nombreux travaux sont consacrés. Ainsi par exemple, la distribution hépatique des vecteurs de première génération a été exploitée pour traiter les métastases hépatiques. Dans ce cas, il s'agit d'un ciblage indirect puisque le médicament anticancéreux est livré aux cellules de Kupffer du foie qui jouent ainsi le rôle de réservoir de médicament. Le principe actif peut alors diffuser dans

l'ensemble du tissu et notamment vers les cellules cancéreuses [3]. La distribution hépato-splénique des vecteurs de première génération permet aussi, dans certains cas, de réduire la toxicité de médicaments en les détournant des tissus où ils exercent leur toxicité. Ainsi, la toxicité cardiaque de la doxorubicine a pu être réduite après son encapsulation dans des liposomes ou des nanoparticules [4]. De la même manière, la toxicité rénale de l'amphotéricine B est fortement diminuée après son administration à des patients sous la forme de liposomes [5]. Des spécialités issues de ces concepts ont été mises récemment sur le marché comme l'Ambisome® (liposomes d'amphotéricine B) ou la Daunoxome® (liposomes de daunorubicine).

Le traitement des infections intracellulaires a également fait l'objet de travaux particulièrement prometteurs. En effet, lorsqu'elles se trouvent dans le compartiment sanguin, les bactéries sont également opsonisées et captées par les macrophages du foie, de la rate et de la moelle osseuse. Dans certaines situations (immunodépression, maladies opportunistes, etc.), les lysosomes de ces macrophages constituent des sanctuaires pour la multiplication des bactéries intracellulaires. Beaucoup d'antibiotiques sont peu actifs sur ces germes à localisation intracellulaire car ils diffusent mal à l'intérieur de la cellule ou ils n'atteignent pas les compartiments intracellulaires infectés (endosomes/lysosomes). La localisation tissulaire (foie, rate), cellulaire (macrophages) et subcellulaire (endosomes/lysosomes) des vecteurs de première génération en font donc une navette de tout premier choix pour le transport efficace d'antibiotiques au niveau des cellules infectées [6] (figure 3). Des résultats spectaculaires ont d'ailleurs été obtenus sur des modèles d'infection expérimentale tant avec les liposomes qu'avec les nanoparticules. Ainsi, dans un modèle d'infection expérimentale à *Salmonella typhimurium*, il a été montré qu'un antibiotique vectorisé par des nanoparticules biodégradables de polyalkylcyanoacrylate était 100 fois plus efficace que lorsqu'il était administré sous une forme pharmaceutique conventionnelle [7].

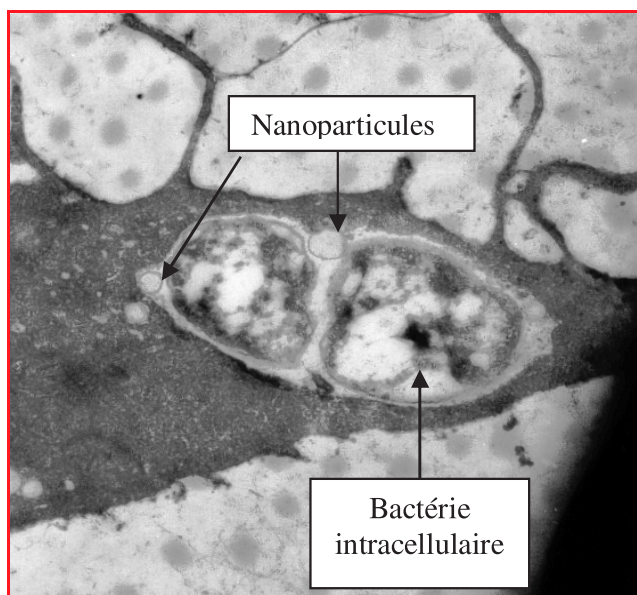


Figure 3 - Ciblage d'une bactérie intracellulaire localisée dans un endosome macrophagique par des nanoparticules de première génération (d'après [6]) (photo : H. Alphanetary).

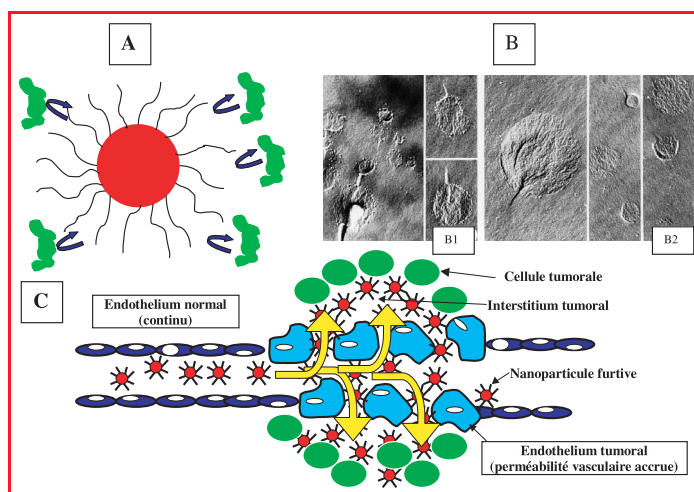


Figure 4 - Représentation schématique du concept de répulsion stérique qui évite l'opsonisation et la reconnaissance par les macrophages (vecteurs de 2<sup>e</sup> génération) (A).

Lorsque les nanoparticules ne sont pas décorées de PEG, on peut observer en microscopie électronique qu'elles sont recouvertes par les protéines du sérum (B1, la surface des particules est granuleuse). Au contraire, lorsqu'elles sont recouvertes de PEG, elles exercent un effet de répulsion vis-à-vis des protéines plasmatiques (B2, la surface des particules est lisse) (d'après [12]). Ces particules sont alors capables de diffuser sélectivement à travers l'endothélium vasculaire tumoral dont la perméabilité est accrue, et d'atteindre ainsi le tissu tumoral (C).

## Les vecteurs de 2<sup>e</sup> génération ou le concept de résidence vasculaire prolongée

Comme il a été expliqué plus haut, l'accumulation principalement hépatique des vecteurs de première génération peut constituer un avantage pour améliorer le traitement de certaines affections localisées au niveau de ce tissu (cas des métastases hépatiques ou des infections intracellulaires). Toutefois, dans de nombreux cas, cette distribution particulière peut constituer un inconvénient. Il est tout à fait remarquable que ce verrou technologique ait pu être contourné grâce à l'application du concept physico-chimique de la « répulsion stérique » développé par l'équipe de de Gennes dès le début des années 1990 [8]. Le recouvrement des vecteurs par des polymères hydrophiles et flexibles, comme les polyéthylène glycols (PEG), les polysaccharides, les poloxamers et les poloxamines, empêche les protéines, en particulier les opsonines, de s'adsorber à leur surface.

De très nombreux travaux [9] ont alors été entrepris afin d'insérer dans la bicouche des liposomes, des phospholipides (comme la phosphatidyléthanolamine) couplés au PEG. Après administration intraveineuse, ces liposomes « peggylés » se caractérisent par un temps de demi-vie plasmatique prolongé et une capture hépatique réduite. Le caractère « furtif » (absence de reconnaissance par les macrophages du foie, de la rate et de la moelle osseuse) est d'autant plus prononcé que les liposomes sont de faible taille (c'est-à-dire avec un rayon de courbure important). Il a été montré que la durée de la résidence vasculaire dépendait à la fois de la longueur des chaînes de PEG (un poids moléculaire de 2 000 semble être une valeur limite en deçà de laquelle l'effet de répulsion stérique ne joue plus) et de leur densité à la surface des liposomes [10]. Des approches similaires ont été effectuées avec les nanoparticules en y greffant, comme dans le cas des liposomes, des chaînes de PEG [11-12] (figure 4A). Les

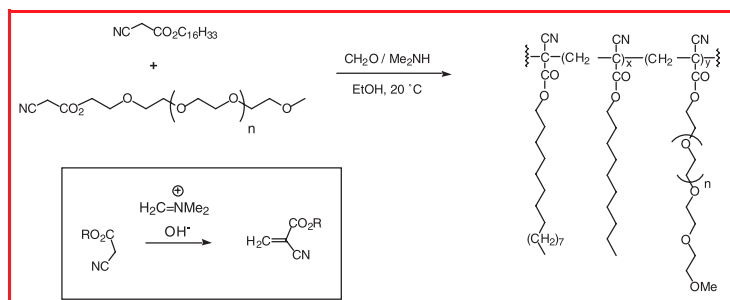


Figure 5 - Schéma général de la synthèse d'un copolymère poly(méthoxy polyéthylène-glycol-co-hexadécyl)cyanoacrylate (poly(MePEGCA-co-HDCA) cyanoacrylate) par réaction de Mannich des cyanoacétates correspondants. Le MePEG utilisé a un poids moléculaire de 2 000 et le copolymère présente un rapport MePEGCA/HDCA de 1/4.

particules ainsi « peggyées » ne sont plus reconnues par les macrophages du foie, de la rate et de la moelle osseuse (figure 4B) et elles résident plus longtemps dans la circulation générale.

Ces vecteurs « furtifs », à rémanence vasculaire prolongée, ont une probabilité importante de traverser des endothéliums vasculaires de perméabilité accrue comme ceux localisés au niveau des tumeurs ou des foyers infectieux (figure 4C). Cet effet de perméabilité et de rétention tissulaire permet donc le ciblage de tumeurs localisées hors du territoire hépato-splénique [13]. L'adressage tumoral de liposomes recouverts de PEG a d'ailleurs été démontré sur des modèles de tumeurs expérimentales grâce à l'utilisation de sondes de fluorescence [14].

Ces vecteurs « furtifs » de 2<sup>e</sup> génération ont montré une efficacité remarquable dans le traitement de tumeurs expérimentales [15], ce qui a d'ailleurs abouti récemment à la mise sur le marché du Doxil<sup>®</sup> (liposomes « peggylés » chargés en doxorubicine).

Un autre domaine d'application thérapeutique a été abordé récemment avec des nanoparticules préparées à l'aide d'un copolymère « peggylé » (polyéthylène-glycol-co-hexadécyl cyanoacrylate) (figure 5). Ces nanosystèmes sont capables de pénétrer dans le tissu cérébral d'animaux de laboratoire atteints d'une encéphalomyélite allergique expérimentale (EAE) [16] ou présentant une tumeur cérébrale (gliome 9L) [17], maladies qui s'accompagnent d'une perméabilisation de la barrière hémato-encéphalique (BHE) (figure 6). De plus, un passage significatif de ces nanoparticules « peggyées » a été mis en évidence au travers de la BHE d'animaux sains (rats ou souris) qui est une barrière infranchissable pour la plupart des molécules thérapeutiques et pour les vecteurs de première génération [17-18]. Cette possibilité de transporter des molécules thérapeutiques jusqu'au cerveau ouvre des perspectives prometteuses à ces vecteurs « peggylés » et nécessite une élucidation de leurs mécanismes de passage à travers la barrière hémato-encéphalique.

### Les vecteurs de 3<sup>e</sup> génération ou l'utilisation de ligands à reconnaissance moléculaire

Lorsque les vecteurs de 2<sup>e</sup> génération sont décorés de ligands (anticorps, peptides, sucres, acide folique), ils sont alors capables de reconnaître de manière sélective des antigènes ou des récepteurs qui sont hyper-exprimés à la surface des cellules cibles (cellules cancéreuses,

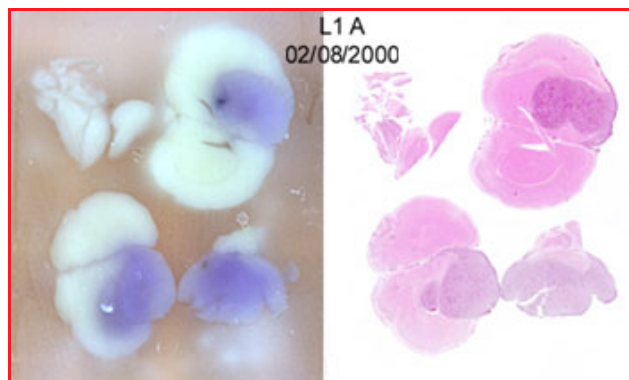


Figure 6 - Perméabilisation de la barrière hémato-encéphalique de rat Fischer, 9 jours après l'implantation intracérébrale d'une tumeur 9L.

30 min après l'injection intraveineuse d'un colorant, le bleu Evans, la tumeur apparaît comme une masse cohésive bleue, démontrant une rupture de la BHE (image de gauche). A noter que cette rupture est localisée au niveau de la tumeur, comme le démontre la coloration du même cerveau au réactif HES (haematoxiline-éosine-safran) (image de droite).

cellules infectées, etc.). La conception de ces vecteurs de 3<sup>e</sup> génération nécessite la construction d'édifices supramoléculaires composés : (i) d'une particule type liposome ou nanoparticule, (ii) d'une couche de polymères hydrophiles et flexibles (par exemple, le PEG) pour éviter la reconnaissance hépato-splénique, et (iii) d'un ligand de reconnaissance membranaire à l'extrémité de certaines chaînes de PEG (figure 7).

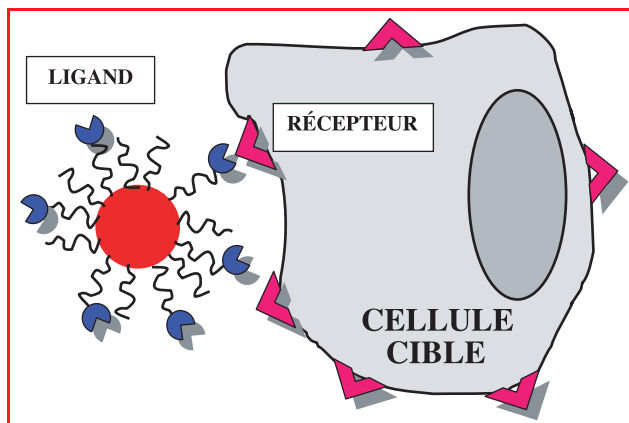


Figure 7 - Représentation schématique de l'adressage moléculaire d'un vecteur à une cellule cible grâce à un ligand de reconnaissance (vecteurs de 3<sup>e</sup> génération).

Toutefois, le couplage chimique d'un ligand à la surface d'un vecteur particulière est une opération délicate qui peut parfois altérer les capacités de reconnaissance moléculaire du ligand avec le récepteur en raison de l'encombrement stérique dû à la particule. Dans d'autres cas, certains groupements chimiques indispensables à l'adressage du ligand peuvent être masqués ou impliqués dans la fixation au vecteur. Un autre point important concerne le choix judicieux de la cible biologique (récepteur ou antigène). Celle-ci doit :

- être présente à la surface des cellules pour permettre leur reconnaissance,
- être internalisée dès qu'elle a été reconnue par son ligand afin de permettre la libération du principe actif associé au vecteur à l'intérieur de la cellule (et non à l'extérieur).

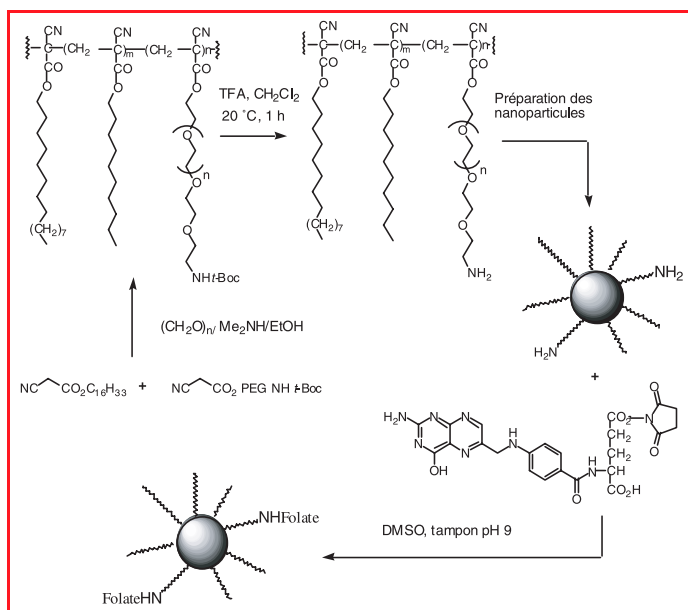


Figure 8 - Schéma général de préparation des nanoparticules recouvertes de PEG et d'acide folique.

Le cyanoacétate-PEG-NHt-Boc utilisé a un poids moléculaire de 3 400 et le copolymère a un rapport PEG/HDCA de 1/4.

L'internalisation cellulaire se fait généralement par la voie de l'endocytose, le vecteur étant alors localisé au niveau des lysosomes ou du cytoplasme cellulaire en fonction du trafic intracellulaire suivi par le ligand.

Concrètement, cette stratégie a abouti, par exemple, à coupler à la surface de liposomes « peggylés » un anticorps monoclonal (anticorps 34A) reconnaissant des glycoprotéines de surface exprimées au niveau luminal de l'endothélium vasculaire pulmonaire. Lorsque ces liposomes sont chargés d'amphotéricine B, ils sont très actifs dans les aspergilloses pulmonaires expérimentales [19]. Une autre construction a consisté à conjuguer le fragment Fab' d'un anticorps orienté contre le proto-oncogène HER2 à l'extrémité des chaînes PEG de liposomes. Ces liposomes chargés en doxorubicine ont fait la preuve de leur remarquable efficacité dans des cancers expérimentaux consistant en des greffes, chez la souris, de cellules du sein humaines hyper-exprimant l'antigène HER2 [20].

Comme le récepteur de l'acide folique est surexprimé de manière très sélective à la surface de certaines cellules cancéreuses (carcinomes ovariens), l'acide folique a aussi été utilisé comme ligand de reconnaissance et couplé à la surface de nanoparticules *via* des chaînes de PEG (figure 8). Il a été montré que ce vecteur était capable de reconnaître son récepteur *in vitro* avec une très grande affinité [21]. Cette nouvelle stratégie présente un double avantage : l'acide folique est une petite molécule (contrairement aux anticorps) qui n'induit pas d'encombrement excessif à la surface du vecteur et ne masque pas l'effet de répulsion des opsonines par les chaînes de PEG. D'autre part, le complexe acide folique/récepteur de l'acide folique est internalisé par endocytose dès qu'il est formé ; dans les endosomes, le ligand est libéré dans le cytoplasme cellulaire pour permettre le recyclage du récepteur à la surface de la membrane cellulaire. Cette stratégie ouvre des perspectives particulièrement intéressantes pour la délivrance au niveau cytoplasmique des acides nucléiques et de leurs dérivés, et pour éviter ainsi leur destruction par les enzymes lysosomiales.

## Conclusion

Les recherches menées à l'interface de la physique, de la chimie et de la biologie ont abouti à concevoir des systèmes galéniques submicroscopiques capables de transporter des molécules biologiquement actives au plus près de leur cible (tissulaire, cellulaire ou même moléculaire). Bien que futuristes, ces avancées ont dépassé le stade de la simple curiosité de laboratoire puisqu'elles ont déjà donné lieu à la mise sur le marché de nouveaux médicaments pour le traitement de cancers et de certaines maladies infectieuses.

## Références

- [1] Juliano R.L., *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, **1988**, 2, p. 31.
- [2] Couvreur P., Tulkens P., Roland M., Trouet A., Speiser P., *FEBS Letters*, **1977**, 84, p. 323.
- [3] Chiannikulchai N., Ammoury N., Caillou B., Devissaguet J.-P., Couvreur P., *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **1990**, 26, p. 122.
- [4] Couvreur P., Kante B., Grislain L., Roland M., Speiser P., *J. Pharm. Sci.*, **1982**, 71, p. 790.
- [5] Hartsel S., Bolard J., *Br. J. Cancer*, **1996**, 17, p. 445.
- [6] Balland O., Pinto-Alphandary H., Viron A., Puvion E., Andreumont A., Couvreur P., *J. Antimicrob. Chemother.*, **1996**, 37, p. 105.
- [7] Fattal E., Youssef M., Couvreur P., Andreumont A., *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1989**, 33, p. 1540.
- [8] Jeon S.I., Lee J.H., Andrade J.D., de Gennes P.G., *J. Colloid Interf. Sci.*, **1991**, 142, p. 159.
- [9] Woodle M.C., Lasic D.D., *Biochem. Biophys. Acta*, **1992**, 1113, p. 171.
- [10] Woodle M.C., *Adv. Drug Del. Rev.*, **1998**, 32, p. 139.
- [11] Gref R., Minamitake Y., Peracchia M.T., Tubetsky V., Torchilin V., Langer R., *Science*, **1994**, 263, p. 1600.
- [12] Peracchia M.T., Harnisch S., Pinto-Alphandary H., Gulik A., Dedieu J.-C., Desmaële D., D'Angelo J., Müller R.H., Couvreur P., *Biomaterials*, **1999**, 20, p. 1269.
- [13] Gabizon A., Papahajopoulos D., *Proc. Natl. Acad. Sci. États-Unis*, **1988**, 85, p. 6949.
- [14] Unezaki S., Maruyama K., Hosoda J., Nagae I., Koyanagi Y., Nakata M., Ishida O., Iwatsuru M., Tsuchida S., *Internat. J. Pharm.*, **1996**, 144, p. 11.
- [15] Gabizon A., *Cancer Res.*, **1992**, 52, p. 891.
- [16] Calvo P., Gouritin B., Villaroya H., Eclancher F., Giannavola C., Klein C., Andreux J.-P., Couvreur P., *Europ. J. Neurosci.*, **2002**, 15, p. 1317.
- [17] Brigger I., Morizet J., Aubert G., Chacun H., Terrier-Lacombe M.J., Couvreur P., Vassal G., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **2002**, 303, p. 928.
- [18] Calvo P., Gouritin B., Chacun H., Desmaële D., D'Angelo J., Noel J.-P., Georgin D., Fattal E., Andreux J.-P., Couvreur P., *Pharm. Res.*, **2001**, 18, p. 1157.
- [19] Maruyama K., Ishida O., Takizawa T., Moribe K., *Adv. Drug Del. Rev.*, **1999**, 40, p. 89.
- [20] Park J.W., Hong K., Carter P.P., Asgari H., Guo L., Wirth C., Shalaby R., Kotts C., Keller G.A., Wood W.I., Papahajopoulos W.I., Benz C., *Proc. Natl. Acad. Sci. États-Unis*, **1995**, 92, p. 1327.
- [21] Stella B., Arpico S., Peracchia M.T., Desmaële D., Hoebeke J., Renoir M., D'Angelo J., Cattel L., Couvreur P., *J. Pharm. Sci.*, **2000**, 89, p. 1452.



De gauche à droite : J. D'Angelo, K. Andrieux, P. Couvreur et D. Desmaële.

**Karine Andrieux**<sup>1</sup> est maître de conférence au sein du Laboratoire de pharmacie galénique à la Faculté de Pharmacie de Châtenay-Malabry\*, laboratoire dirigé par le professeur **Patrick Couvreur**<sup>2</sup>. **Didier Desmaële**<sup>3</sup> est directeur de recherche au sein de l'UMR 8076 BioCIS à la Faculté de Pharmacie de Châtenay-Malabry\*\* et **Jean D'Angelo**<sup>4</sup> y est professeur.

Les auteurs appartiennent à la Fédération de Recherche « Innovation thérapeutique : de la conception à la mise en forme du médicament ».

\* UMR CNRS 8612, Faculté de Pharmacie, Université Paris-Sud, 5 rue Jean-Baptiste Clément, 92296 Châtenay-Malabry Cedex.

<sup>1</sup> Tél. : 01 46 83 59 09. Fax : 01 46 61 93 34. Courriel : karine.andrieux@cep.u-psud.fr

<sup>2</sup> Tél. : 01 46 83 53 96. Fax : 01 46 61 93 34. Courriel : patrick.couvreur@cep.u-psud.fr

\*\* UMR 8076 BioCIS, Faculté de Pharmacie, Université Paris-Sud, 5 rue Jean-Baptiste Clément, 92296 Châtenay-Malabry Cedex.

<sup>3</sup> Tél. : 01 46 83 57 53. Fax : 01 46 83 57 52. Courriel : didier.desmaele@cep.u-psud.fr

<sup>4</sup> Tél. : 01 46 83 56 99. Fax : 01 46 83 57 52. Courriel : jean.dangelo@cep.u-psud.fr