

# Les liposomes en cosmétique

Alain Meybeck

**Résumé** Le terme liposome, c'est-à-dire « corps lipidique » (du grec *lipos*, la graisse et *somos*, le corps) a d'abord été utilisé par des microscopistes pour des structures naturelles observées à l'intérieur des cellules. Après un bref historique, cet article aborde les problèmes qui ont dû être résolus pour permettre le développement de produits commerciaux à base de liposomes. Puis il présente des hypothèses sur certains mécanismes physico-chimiques qui permettraient de mieux comprendre et de visualiser les interactions de ces structures artificielles avec les organisations lipidiques naturelles de la couche cornée à la surface de la peau.

**Mots-clés** Liposome, cosmétique, peau, vésicule, biodisponibilité, phospholipide.

**Abstract** Liposomes used in cosmetics

The word liposome that is to say "lipid body" (from the Greek *lipos*, fat and *somos*, body) has first been used by microscopists for natural structures observed inside cells. After a brief history, this article deals with the problems which had to be solved in order to allow the development of commercial products based on liposomes. Then it presents hypotheses on some physical-chemical mechanisms which could allow a better understanding and visualisation of the interactions of these artificial structures with the naturally organised lipid structures of the horny layer at the surface of the skin.

**Keywords** Liposome, cosmetics, skin, vesicle, bio-availability, phospholipid.

Les premières images de vésicules composées de bicouches lipidiques encapsulant un domaine aqueux à la manière des membranes cellulaires ont été observées à Cambridge au début des années 60 par Sir Alec Bangham en microscopie électronique en transmission (MET). En effet, grâce à la méthode de la coloration inverse utilisant un sel de métal lourd (molybdène, tungstène, osmium, uranium), des vésicules de lécithines d'œuf gonflées dans l'eau [1-2] et formant des bicouches lipidiques enroulées sur elles-mêmes en des structures évoquant la pâte feuilletée ont pu être observées (figure 1a).

Lorsqu'on soumet ces dispersions à une forte agitation par des ultrasons, les ensembles lamellaires se divisent et forment des sphères creuses, en général constituées de plusieurs bicouches concentriques rappelant la structure d'un oignon (figure 1b). Ces « corps » formés de lipides

furent baptisés « Bangasomes » ou « lipo-somes » à partir des mots grecs correspondants (*lipos*, graisse et *somos*, corps) [3].

Très vite, les biologistes réalisèrent que ces vésicules pourraient transporter des molécules vers les cellules vivantes et livrer leur contenu au cytoplasme après fusion de leurs phospholipides avec ceux de la membrane, et il s'ensuivit une véritable avalanche de publications scientifiques sur leurs propriétés (la base Medline® contient plus de 34 000 références dont plus de 2 700 revues sur les liposomes).

Vers la fin des années 70, l'industrie pharmaceutique commença à s'intéresser sérieusement aux liposomes en tant que possibles vecteurs de médicaments, et au début des années 80, quelques « start-up » (Liposome Technology, The Liposome Company...) se constituèrent pour préparer des développements à partir de ce que l'on commençait à appeler des « magic bullets ».

Et c'est en 1980 que Gérard Redziniak réalisa à la demande de l'auteur de ces lignes, et grâce aux contacts qu'il avait gardés dans les laboratoires universitaires d'Orléans, la première expérience de pénétration de liposomes dans la peau.

Six ans plus tard, les premiers liposomes fabriqués industriellement avec toutes les garanties d'innocuité, de stabilité, de qualité et de reproductibilité, faisaient l'objet d'un lancement événementiel sous le nom de Capture® qui consacra de façon durable l'image des Parfums Christian Dior (Groupe LVMH) comme l'un des acteurs majeurs de la recherche cosmétique.

## Les différentes sortes de liposomes

La plupart des spécialistes réservent le terme « liposome » aux vésicules constituées principalement de phospholipides\* et en distinguent plusieurs types suivant

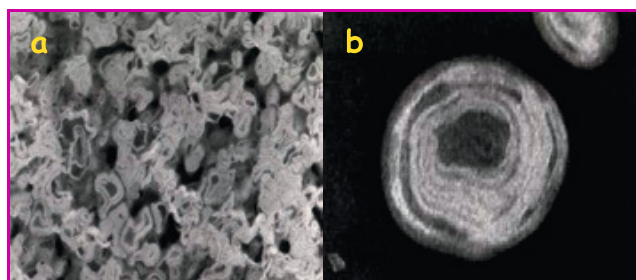


Figure 1 - (a) Mélange de lécithine de soja et de sitostérol 9-1 dispersé dans l'eau et observé en microscopie électronique en transmission (MET). Un sel de métal lourd (absorbant les électrons) dissous dans l'eau permet de visualiser les lipides en blanc (« coloration négative »). Photo Université d'Orléans pour LVMH-R ; (b) Liposome de 40 nm de diamètre obtenu par dispersion dans l'eau aux ultrasons d'un mélange de lécithine de soja et de sitostérol à 9 pour 1 en poids, observé en MET après « coloration négative ». Photo Université d'Orléans pour LVMH-R.

## Glossaire

Les mots suivis d'un astérisque\* dans le texte sont définis ci-dessous.

**Dicétylphosphate** : acide phosphorique estérifiant deux molécules d'alcool cétylique.

**Lécithines** (du grec *lekithos*, le jaune d'œuf) : phospholipides trouvés dans le jaune d'œuf et dans les graines de végétaux ; les lécithines sont composées d'acides gras (2 chaînes) liés au glycérol, lui-même lié à un phosphate de choline, éthanolamine, ou sérine.

**Lipopolyglycérade** : lipide amphiphile hémisynthétique composé d'acides gras (2 chaînes pour faire des vésicules) liés à un diglycérol par exemple.

**Macrophage** : cellules sanguines chargées notamment d'éliminer par phagocytose les particules étrangères qui pénètrent dans l'organisme.

**Phosphatidylcholine** : ester phosphorique de la choline HO-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub><sup>+</sup>.

**Phospholipide** : lipide contenant un groupement phosphate.

**Protéoglycane** : macromolécule naturelle comportant une molécule de protéine liée par ses chaînes latérales à des chaînes de polysaccharides.

**Tyndall** : l'effet de diffusion Rayleigh de la lumière découvert par Tyndall fait apparaître en transparence une coloration bleue dans les suspensions de particules dont la taille est nettement inférieure à la longueur d'onde de la lumière visible (dans la pratique, on l'observe à partir de 200 nm).

la structure, la taille ou la composition [4]. Ces différences sont souvent mises en avant dans des buts « marketing ». On connaît ainsi : les « small unilamellar vesicles » (SUV), les « large unilamellar vesicles » (LUV), les « multilamellar vesicles » (MLV), les « oligo lamellar vesicles » (OLV), les liposomes « furtifs », les liposomes « chargés », les liposomes « polymérisés »...

L'alignement des molécules de phospholipides tels que les phosphatidylcholines\* en feuillettes courbes refermées en sphères est rendu possible par leur forme tronconique [3].

## Les Niosomes®

Le terme Niosome® a été imaginé et déposé comme marque par le groupe L'Oréal pour désigner les vésicules de tensioactifs non ioniques (NI) découvertes par Guy Vanlerberghe et Rose-Marie Handjani et présentées pour la première fois à des cosmétologues au congrès de l'IFSCC (International Federation of Societies of Cosmetic Chemists) à Sydney en 1978 [5]. À l'époque, les liposomes étaient considérés comme impossibles à stabiliser et à produire industriellement, et les vésicules de lipopolyglycérols\* apparaissent d'emblée comme une innovation extrêmement intéressante pour la formulation cosmétique qui ne connaissait jusqu'alors comme systèmes lipides/eau que les émulsions huile/eau ou inverse. Il fallut toutefois beaucoup de persévérance à ces chercheurs pour vaincre les résistances internes à la nouveauté, et le produit Niosome® ne fut lancé que quelques mois avant Capture® en 1986.

## Formulation

Mises à part les préparations dermatologiques (l'antifongique Pevaryl® par exemple), les liposomes pharmaceutiques sont prévus pour être injectés, comme l'antibiotique AmBisome® ou l'anticancéreux Doxil® ; de ce fait, ils doivent avoir éventuellement des caractéristiques particulières, comme des chaînes polyéthylène glycol pour prévenir la capture par les macrophages\*.

Les objectifs de la formulation cosmétique ne sont pas les mêmes que pour les médicaments et d'une façon générale, les matières premières utilisées n'ont pas besoin d'être pures à 100 %, à condition bien sûr que leur qualité soit parfaitement reproductible. On utilise donc en cosmétique essentiellement des lécithines\* de soja plus ou moins enrichies en phosphatidylcholine qui a toujours été la molécule de base pour faire des liposomes. On rajoute en général du cholestérol (ou du β-sitostérol) et éventuellement un phospholipide chargé comme le dicétylphosphate\* qui modifie les caractéristiques physico-chimiques des bicouches et contribue à la stabilité des vésicules. Pour prévenir l'autoxydation des chaînes lipidiques insaturées, on peut rajouter un antioxydant comme le tocophérol, ou choisir des phosphatidylcholines de lécithine plus ou moins hydrogénée.

## Élaboration des liposomes

Au laboratoire, on réalise un mélange intime de ces constituants lipidiques et des « actifs » hydrophobes en les dissolvant dans un solvant comme le chloroforme ou le dichlorométhane que l'on évapore sous vide à l'évaporateur rotatif. Ceci conduit à un film, qui est alors directement repris par la phase aqueuse à encapsuler contenant les actifs hydrosolubles, et l'on obtient ainsi une phase lamellaire dispersée en plus ou moins grosses particules qui sont en fait de gros liposomes. Cette suspension peut être soumise à l'agitation mécanique d'une hélice ou d'une turbine pour en diminuer la taille à quelques microns, mais ces vésicules s'agglomèrent avec le temps et flocculent au bas de leur récipient de stockage.

Pour freiner la fusion des vésicules entre elles, il faut en descendre la taille en dessous de 200 nm. On utilise traditionnellement pour cela une sonde (ou à la rigueur un bain) à ultrasons. La suspension prend alors un aspect transparent bleuté – caractéristique de l'effet Tyndall\* – obtenu pour les suspensions de particules plus petites que la demi-longueur d'onde de la lumière visible (donc à partir de 200 nm environ).

## Fabrication industrielle

Comme l'utilisation de l'évaporateur rotatif n'était pas envisageable pour des quantités industrielles, Parfums Christian Dior développa pour le lancement de Capture® le

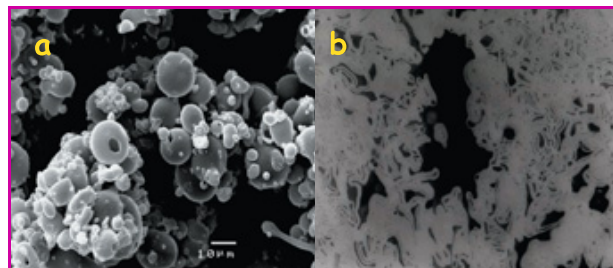


Figure 2 - (a) Mélange de lécithine de soja et de sitostérol-9,1 obtenu par atomisation d'une solution dans le dichlorométhane (ces microbulles solides de 5 à 20 microns ne sont pas des liposomes car il s'agit ici d'une poudre). Photo LVMH-R prise au microscope électronique à balayage MEB ; (b) Phase lamellaire obtenue par dispersion dans l'eau de la poudre atomisée telle que sur (a), observée au MET en coloration négative. Photo CNRS pour LVMH-R.

procédé d'atomisation breveté par Gérard Redziniak et Alain Meybeck (Br FR 19820002620). Ce procédé conduit à une poudre constituée de microsphères creuses d'un mélange lipidique d'allure amorphe (*figure 2a*), qui se disperse facilement dans l'eau (*figure 2b*) pour former des feuillets d'épaisseurs parfaitement régulières, chacun correspondant à une bicouche lipidique analogue à celles des membranes cellulaires comme l'avait observé Bangham au début des années 60.

La sonication n'étant pas non plus réalisable sur de très gros volumes, Gérard Redziniak et Alain Meybeck durent inventer pour la fabrication industrielle de liposomes de petite taille, un autre procédé – breveté – utilisant un homogénéiseur faisant passer la suspension sous très haute pression par un passage étroit (Br FR 19820017311). Cette opération crée à la sortie de très fortes turbulences qui provoquent le cisaillement des vésicules. On obtient ainsi sans trop de problèmes des liposomes stables de 200 nm et

un bon taux d'encapsulation des molécules hydrosolubles (*figure 3a*).

## Caractérisation

La seule façon de caractériser des liposomes avec certitude est de mettre en évidence leur structure particulière en bicouches lipidiques s'encapsulant les unes les autres de façon plus ou moins concentrique. Il faut pour cela utiliser la microscopie électronique (ME) sous l'une de ses variantes (voir *encadré 1*).

### Mesures de taille

Lorsqu'on a réalisé une dispersion aqueuse d'un mélange lipidique à base de phospholipides, on a de grandes chances que ces derniers soient sous la forme liposome. Il est alors important d'en connaître la taille, par

#### Encadré 1

### Techniques de caractérisation

#### ME en transmission (MET)

On rajoute pour cela dans la phase aqueuse un sel de métal lourd comme le molybdate d'ammonium, qui absorbe les électrons. On obtient ainsi une image dans laquelle les lipides sortent en blanc sur fond noir (ou l'inverse sur le négatif). Dans une préparation de liposomes, on distingue très bien les lignes d'épaisseur parfaitement régulières correspondant aux assemblages des lipides polaires en bicouches (*figure 3a*).

#### MET sur des films minces congelés

On obtient par cette technique une image en coupe des vésicules dans la structure exacte qu'elles avaient au moment de la congélation ultra-rapide réalisée par immersion dans l'azote liquide. Certaines préparations montrent des bicouches non concentriques avec une petite vésicule à l'intérieur d'une plus grosse.

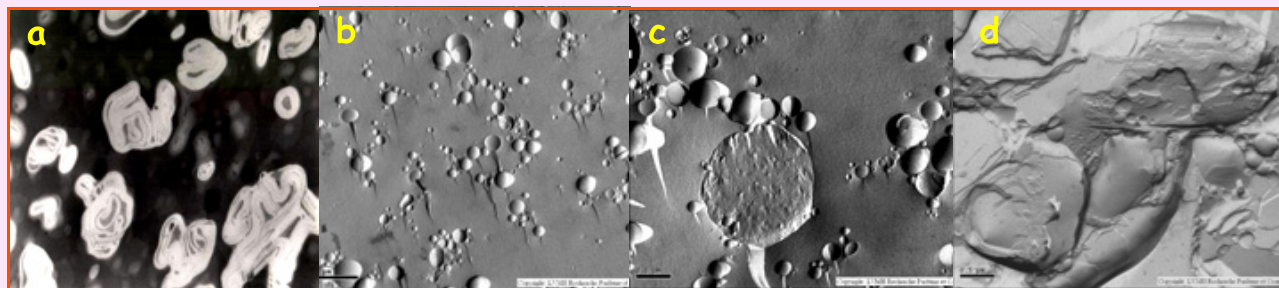
#### MET sur des empreintes de « cryofracture »

C'est la méthode de choix pour étudier les systèmes lipide/eau organisés tels que les liposomes, seuls dans une préparation, en mélange dans une émulsion (ou autre formulation complexe), à la surface de l'épiderme, ou même à l'intérieur de la couche cornée. Elle comprend les étapes suivantes : immersion d'un micro-échantillon dans l'azote liquide, fracture (à l'aide d'un couteau spécial) de l'échantillon solidifié, projection de platine sur la surface de la fracture (sous un angle donné afin de révéler une ombre des reliefs), projection de carbone pour consolider l'empreinte.

On obtient ainsi une physiologie exacte des diverses structures dans la préparation juste avant la congélation qui est si rapide que tout reste en l'état, sans aucune cristallisation due au froid (*figure 3b*).

Ainsi l'eau ne se distingue pas du fond, une huile apparaît en cercles plus gris que le fond, et un liposome apparaît comme une sphère parfois cassée et dévoilant ainsi une ou plusieurs bicouches lipidiques (*figure 3c*).

Grâce à ce type d'observations (réalisées dans un laboratoire du CNRS par T. Gulik), la société RoC (à l'époque dans le groupe Moët-Hennessy devenu par la suite LVMH) a pu lancer en 1987 la crème Myosphère® avec la certitude que cette formulation complexe contenait bien des liposomes même après vieillissement accéléré des pilotes industriels. Cette étude et d'autres qui ont suivi a permis aux formulateurs du groupe Moët-Hennessy de réaliser que les crèmes cosmétiques, si elles sont sans doute des émulsions au moment où on mélange les phases huile et eau (en général vers 80 °C), sont plutôt, à température ordinaire, des dispersions plus ou moins grossières de lipides solides plus ou moins ordonnés (*figure 3d*).



**Figure 3-** (a) Liposomes obtenus par dispersion de la phase lamellaire de la figure 2a au moyen d'un homogénéiseur sous forte pression. Photo au MET en coloration négative - CNRS pour LVMH-R ; (b) Vue de liposomes au microscope électronique en transmission sur empreinte de cryofracture ombrée au platine et renforcée au carbone. Les empreintes de liposomes sont révélées en bosse ou en creux par l'ombrage au platine dirigé ici de gauche à droite. Photo LVMH-R ; (c) Liposomes et goutte d'huile en émulsion observés en MET sur empreinte de cryofracture. Sur la droite, deux liposomes cassés laissent apparaître leur structure multilamellaire. Photo LVMH-R ; (d) Liposomes plus ou moins sphériques d'environ 0,2 µm apparaissant en bosse ou en creux dans une crème cosmétique. La structure de la crème comporte des lipides ou des systèmes lipides/eau plus ou moins ordonnés. Photo LVMH-R.

« filtration » par chromatographie sur une colonne de gel d'exclusion, ou plus rapidement avec un granulomètre à laser. En routine, ces mesures de granulométrie permettent de contrôler les lots de liposomes et leur stabilité dans le temps.

### Taux d'encapsulation

La proportion de molécules piégées dans la phase aqueuse à l'intérieur des vésicules ou dans les bicouches lipidiques (pour les molécules hydrophobes) est déterminée par les moyens analytiques classiques après séparation des liposomes par ultracentrifugation à travers une membrane ou par chromatographie sur une colonne de gel d'exclusion. Si les actifs véhiculés par les liposomes sont hydrophobes, le taux d'encapsulation est voisin de 100 %. Lorsqu'il s'agit d'actifs hydrosolubles, le taux d'encapsulation dépend de la méthode de fabrication et notamment de la technologie utilisée pour descendre la taille des vésicules à 200 nm ou en dessous. Le procédé d'homogénéisation sous haute pression mis au point par Dior pour affiner les liposomes de Capture® a également l'avantage d'augmenter le taux d'encapsulation.

Ce qu'il faut en conclure, c'est que les phospholipides dispersés dans une solution peuvent se gonfler d'eau par une espèce de filtration à travers la masse hydrophobe sans que les solutés soient forcément piégés, mais que l'action mécanique violente de l'homogénéisation est capable de déchirer les bicouches en lambeaux susceptibles en se refermant d'encapsuler la solution et donc les actifs hydrophiles solubilisés.

Lorsqu'il s'agit d'actifs hydrophobes tels que les rétinoïdes comme la vitamine A ou le carotène, ces molécules sont piégées dans les bicouches lipidiques et leur taux d'encapsulation est de 100 %, à condition toutefois qu'elles soient compatibles avec les phospholipides utilisés.

### Stérilisation

En général, les traitements destinés à diminuer la taille des liposomes, tels que l'homogénéisation sous pression, détruisent les micro-organismes. Il suffit donc d'ajouter un conservateur dans la suspension pour avoir une qualité microbiologique convenable. Mais l'on peut aussi stériliser une suspension de liposomes fins par passage à travers une membrane stérilisante, ou même par pasteurisation.

### Stabilisation

Comme n'importe quelle formulation de lipides plus ou moins insaturés, les liposomes peuvent se peroxyder. Il faut donc rajouter un antioxydant dans les phospholipides, à moins qu'ils n'en contiennent déjà, ce qui peut être le cas de certaines lécithines végétales qui renferment du tocophérol.

Par ailleurs, pour retarder la fusion des liposomes entre eux, on a intérêt à les incorporer à un gel, par exemple un gel polyacrylique, qui augmente la viscosité de la phase aqueuse externe et qui forme peut-être à la surface des vésicules une enveloppe polymérique protectrice.

### Incorporation à une formulation élaborée

Pour réaliser une émulsion huile/eau contenant des liposomes, il faut préparer à part l'émulsion et la suspension

de liposomes affinés dans une phase aqueuse gélifiée, puis les mélanger à 40 °C par exemple. Comme on l'a vu précédemment, il est difficile de vérifier que la structure liposomique n'est pas détruite par cette opération. La méthode de choix pour cela est la microscopie électronique en transmission sur empreinte de cryofracture (voir *figure 3d*). Mais on pourrait sans doute aussi séparer la phase aqueuse par ultracentrifugation et vérifier qu'elle contient des particules de la taille des liposomes. En effet, les particules d'une émulsion sont plus grosses et doivent se rassembler par « crémage » au-dessus de la phase aqueuse contenant les liposomes dont la densité doit être intermédiaire et dont la faible taille ralentit le crémage.

### La forme liposome améliore-t-elle la biodisponibilité des actifs ?

La forme liposome peut augmenter la biodisponibilité des molécules actives cosmétiques, mais ce n'est pas automatique. Cela dépend aussi bien de l'actif que de la composition lipidique des bicouches. Il faut donc le vérifier dans tous les cas par des études de pénétration *in vitro*, ou par des évaluations d'activité sur volontaires [6].

Dans une étude sur un modèle animal expérimental, l'effet comédolytique (anticomédons, donc anti-acné) de l'acide rétinoïque (vitamine A, acide ou trétinoïne) encapsulé en liposomes a été obtenu avec une concentration de 5 à 10 fois moindre que pour une formulation classique [7]. De plus, on a pu montrer, toujours sur l'animal, qu'une préparation d'acide rétinoïque en liposomes à la concentration active sur la disparition des comédons est moins irritante qu'une formule classique à la concentration active [8]. Plus récemment, deux études cliniques sur volontaires ont confirmé que l'encapsulation de l'acide rétinoïque en liposomes permet une meilleure activité anti-acné avec une meilleure tolérance [9-10].

Une étude clinique encore plus parlante a démontré récemment que la forme liposome permet d'augmenter et de prolonger l'effet des analgésiques locaux prilocaïne, lidocaïne et mepivacaïne [11]. Enfin, dans une revue récente [12], G. Redziniak liste un certain nombre d'applications possibles des liposomes en dermatologie, depuis l'antimycotique Pevaryl® Lipogel jusqu'à des produits pour soigner l'herpès, l'alopécie, le psoriasis...

### Comment les liposomes améliorent-ils la biodisponibilité des actifs cosmétiques ?

Dès les premiers lancements de liposomes cosmétiques, tous les spécialistes de marketing et même certains scientifiques ont répandu l'idée que ces vésicules pouvaient passer à travers la couche cornée sans perdre leur structure pour atteindre les cellules vivantes de l'épiderme et même du derme. Ce n'est certainement pas aussi simple... Rappelons la structure des compartiments cutanés (voir l'article de P. Gasser, p. 18 et *encadré 2*).

### Études de pénétration de molécules

Pour déterminer si les liposomes chargés de molécules actives passent intacts à travers la peau, on peut marquer de façon différente le véhicule et la substance encapsulée et analyser les marqueurs dans les différents compartiments cutanés. Une telle étude a été réalisée sur des liposomes dont

## Encadré 2

## Structure des différents compartiments cutanés

La couche cornée, ou *Stratum corneum*, constitue l'interface entre notre organisme (principalement constitué d'eau) et notre environnement externe habituel, c'est-à-dire l'air, qui est hydrophobe. Elle comprend une vingtaine de couches de cellules mortes de forme polygonale, d'environ 30 microns de large pour 1 micron d'épaisseur. Ces cornéocytes sont recouverts d'une couche de protéines hydrophobes et « cimentés » par un assemblage très fin de bicouches lipidiques planes orientées parallèlement à leur surface ainsi qu'à celle de la peau (figure 4).

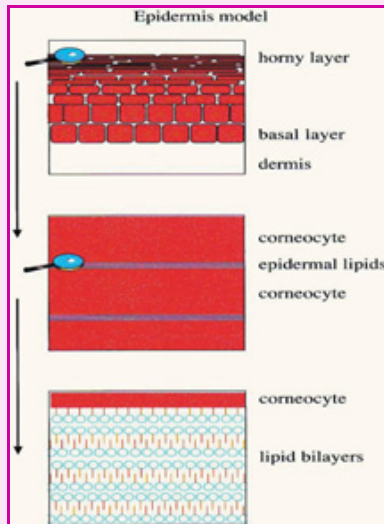


Figure 4 - Schéma de structure des bicouches de lipides planes entre les cornéocytes qui forment le *Stratum corneum* ou couche cornée (d'après [17]).

La couche cornée est formée de cornéocytes polygonaux de plus en plus aplatis à partir de la couche basale et en allant vers la surface (jusqu'à 30 microns de large pour seulement 1 micron d'épaisseur). Ces cellules cornées sont « cimentées » par des lipides épidermiques ordonnés en bicouches

Ces lipides ordonnés sont principalement des céramides (voir figure 3, page 20), des acides gras partiellement ionisés et du cholestérol. Ainsi la couche cornée est construite pour être parfaitement hydrophobe afin de protéger l'organisme de la déshydratation.

Le *Stratum corneum* est ultra-mince (environ 20 microns), mais dur grâce aux kératines (des protéines réticulées par des ponts disulfure comme dans le cheveu ou l'ongle) qui remplissent les cornéocytes, et peut ainsi nous protéger des agressions mécaniques.

Les cellules cornées sont produites, à raison d'une couche par jour environ, par l'épiderme vivant constitué d'une dizaine de couches de cellules appelées kératinocytes qui sont, comme toutes les cellules, entourées d'une membrane constituée de phospholipides et de cholestérol.

La couche cornée et l'épiderme vivant (en rouge sur la figure 5) constituent l'épiderme (dont l'épaisseur totale est d'environ 50 microns) qui est attaché au derme par les structures fibreuses complexes de la jonction dermo-épidermique.

Le derme (en bleu-vert sur la figure 5) comprend essentiellement des protéines fibreuses (de collagènes et d'élastine) liées à un gel de protéoglycanes\* très riche en eau et irrigué par les capillaires sanguins. Les cellules du derme appelées fibroblastes (dont on distingue les noyaux en rouge sur la figure 5) sont peu nombreuses et se reproduisent beaucoup plus lentement *in vivo* que les kératinocytes de l'épiderme.

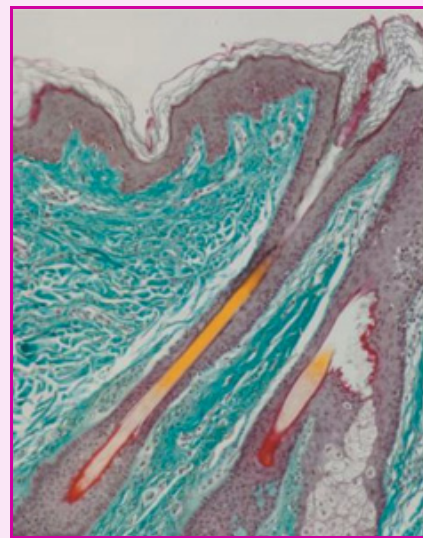


Figure 5 - Coupe histologique de peau humaine observée en microscopie optique après coloration. Photo : Philippe Gasser.

On distingue en haut le *Stratum corneum* dont les différentes couches ultra-fines ont été décollées par l'action de l'outil de coupe passé de bas en haut. Sous la couche cornée, on observe en rouge les couches de kératinocytes vivants. Sous l'épiderme, se situe le derme coloré en bleu vert, dans lequel on peut remarquer de place en place les noyaux des fibroblastes, colorés en rouge. Dans la diagonale de l'image, on voit la coupe d'un follicule pileux, et on peut remarquer qu'à l'intérieur du puit abritant la base du poil, la couche cornée qui constitue la barrière aux pénétrations cutanées est très mince, voire inexistante.

les phospholipides contenaient de la phosphatidylcholine tritiée et qui encapsulaient de la trétiñoïne (acide rétiñoïque hydrophobe) marquée au  $^{14}\text{C}$ . Elle a montré que le rapport  $r$  entre les marquages au tritium (d'un constituant des liposomes, la dipalmitoyl-phosphatidyl-choline ou DPPC) et au  $^{14}\text{C}$  (molécule encapsulée) qui était de 2,35 dans la préparation appliquée sur la peau de rats sans poils, n'était plus que de 1,57 dans l'épiderme et 1,11 dans le derme [13]. Cela veut dire que la co-pénétration liposome/actif n'a été que partielle et qu'il y a eu dissociation entre le véhicule (dont une partie est restée dans la couche cornée) et la substance véhiculée.

Il faut souligner toutefois que la pénétration de la molécule active a été facilitée car on l'a retrouvée dans le derme en concentration significativement plus importante que pour un gel classique. Ainsi la forme liposome favorise la pénétration de la trétiñoïne dans la peau, ce qui explique les résultats d'activité anticomédons et anti-acné exposés plus

haut [6, 8-9]. Mais les vésicules ne pénètrent pas intactes la barrière de la couche cornée puisqu'elles libèrent l'acide rétiñoïque qui pénètre jusqu'au derme contrairement à la DPPC.

Une autre étude effectuée sur de la peau excisée de rats sans poils a montré que la forskoline (un diterpène naturel hydrophobe connu pour activer l'adénylate cyclase responsable de la synthèse de l'AMP-c, un second messenger très important dans les métabolismes cellulaires) encapsulée en liposomes pénètre dans l'épiderme et le derme mais de façon beaucoup plus importante (quatre fois plus) si la peau comporte des orifices folliculaires [14]. Ainsi, il a bien été démontré que la voie de pénétration la plus importante dans la peau est la voie des orifices pilosébacés, ce qui peut s'expliquer par le fait que la couche cornée est très mince, voire inexistante à l'intérieur des follicules (figure 5).

## Suivi de la structure liposomique après application sur la peau

Dès la fin des années 80, un laboratoire de l'Université de Leiden (Pays-Bas) avait mis au point une technique de microscopie électronique pour révéler la structure de la couche cornée et plus particulièrement de ses lipides, après des traitements topiques. Il a ainsi été possible d'étudier le devenir de liposomes de phosphatidylcholine après application à la surface de la peau [15]. Aucune structure liposomique n'a pu être mise en évidence dans la couche cornée lors de cette expérience, et il sembla que les vésicules avaient fusionné entre elles à la surface de l'épiderme.

Toutefois, dans une autre recherche publiée la même année, il a été montré que des liposomes toujours à base de phosphatidylcholine (PC), mais comprenant également de la phosphoéthanolamine (PE) ainsi que d'autres phospholipides, ont pénétré entre les deux premières couches de cornéocytes et formé des structures sphériques aplaties, probablement par interaction avec les lipides intercornéocytaires [16].

De telles structures plus ou moins sphériques aplaties ont été à nouveau observées quelques années plus tard partout dans la couche cornée après application de liposomes constitués de 85 % de PC, 10 % de PE et 5 % de divers phospholipides [17]. Leur formation a été expliquée alors par la modification de la structure lamellaire des lipides intercornéocytaires résultant de l'incorporation des phospholipides ayant pénétré dans la matrice intercellulaire sous forme « moléculairement dispersée ».

## Hypothèse sur l'amélioration de la biodisponibilité des molécules encapsulées

Un mécanisme général a pu être proposé pour expliquer l'effet bénéfique des liposomes sur la biodisponibilité des actifs dermatologiques ou cosmétiques [18]. En effet, toutes les observations sur les effets des liposomes sur la peau peuvent se comprendre si l'on admet qu'ils peuvent fusionner avec les lipides intercornéocytaires et y créer des défauts tels que des pores ou des fissures (ou failles).

Il faut d'abord rappeler que les lipides des bicouches orientées telles que les membranes cellulaires ou les structures lamellaires planes qui « cimentent » les cellules cornées les unes aux autres sont liquides, et que l'on a de ce fait pu mettre en évidence les faits suivants :

- des molécules hydrophobes peuvent passer d'une des couches à l'autre dans un ensemble bicouche, par « flip-flop » [19], par exemple pour changer la courbure de la membrane cellulaire au niveau du sillon de séparation lors de la mitose [20] ;
- les molécules de lipides peuvent y circuler plus ou moins librement le long d'une monocouche [21] ;
- il peut se former des rassemblements de molécules à l'intérieur d'une couche, ce qui fait qu'elles ne sont pas homogènes et qu'elles ont plutôt une structure en mosaïque. On a même pu mettre en évidence la formation de « radeaux », de cholestérol par exemple [22].

Ainsi, si l'on admet qu'une bicouche de liposome peut fusionner avec une bicouche de lipides intercornéocytaires, on peut imaginer la formation dans cette dernière d'une zone d'exolipides plus fluides et ayant plutôt tendance à former des alignements courbes comme dans les liposomes (figure 6).

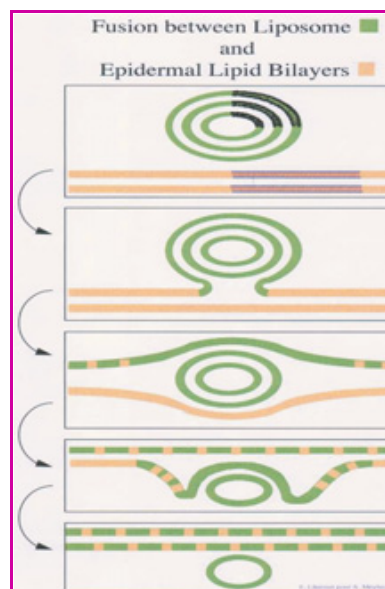


Figure 6 - Schéma de fusion des lipides d'un liposome (en vert) avec les lipides intercornéocytaires (en beige) (d'après [18]).

Un liposome multicouche peut ainsi pénétrer quelques bicouches de lipides épidermiques en laissant au passage des lipides constituant des zones de courbure susceptibles d'engendrer des pores ou des sillons.

Or dans une structure lamellaire plane, l'introduction d'une courbure de faible rayon ne peut se faire que par la formation d'une liaison avec une des bicouches voisines conduisant à l'ouverture d'un pore ou d'une faille (figure 7). Cette faille ne peut que se refermer sur elle-même en formant une sorte de galette plus ou moins circulaire (figure 8).

De telles « structures sphériques aplaties » ont été observées (par examen en MET d'empreintes de cryofracture) dans les lipides de la couche cornée

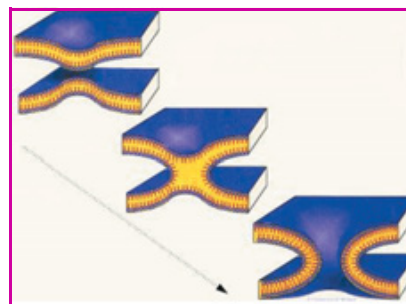


Figure 7 - Schéma de formation d'un pore ou d'une faille à partir d'une courbure dans les bicouches de lipides intercornéocytaires (d'après [18]).



Figure 8 - Schéma d'une faille refermée sur elle-même pour former une « structure sphérique aplatie », suite à la fusion de liposomes avec les bicouches planes de lipides épidermiques (d'après [18]).

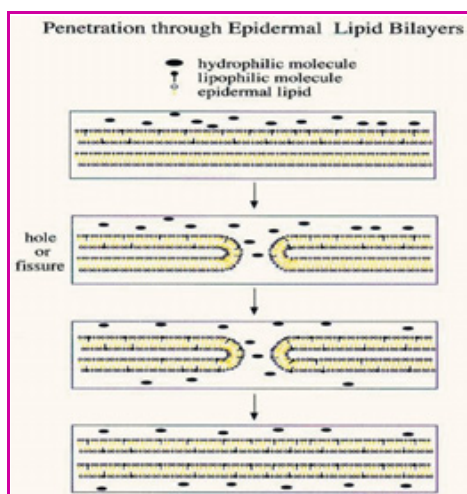


Figure 9 - Schéma de pénétration à travers les bicouches lipidiques de la couche cornée (d'après [18]).

La formation d'un pore ou d'une fissure laisse le passage aux molécules hydrophiles. Quant aux molécules lipophiles, la liaison entre deux bicouches (rendue possible par l'introduction grâce aux liposomes de zones de lipides capables de s'aligner en courbe de faible rayon) leur permet par diffusion latérale le long d'une bicouche, de passer d'un niveau à l'autre dans la structure feuilletée. *In fine*, l'ouverture se referme rapidement grâce à la diffusion latérale des lipides qui répartit les molécules exogènes de façon régulière et fait disparaître les zones ayant tendance à la courbure.

après application de liposomes fluides de lécithine de soja [17].

De cette façon, on peut très bien imaginer le passage de molécules hydrophobes d'une bicouche liposomique à une bicouche de lipides intercornéocytaires, et de cette bicouche à la bicouche voisine. De plus, ce schéma qui suppose la formation de failles dans les bicouches lipidiques permet également d'expliquer comment les liposomes favorisent le passage des molécules hydrophiles au travers des structures lipidiques planes du *Stratum corneum* (figure 9).

Comme ce « scénario » dynamique doit se reproduire de bicouche en bicouche, on comprend très bien que la pénétration des molécules véhiculées par les liposomes se fasse de façon préférentielle dans les follicules pileux où l'épaisseur de la couche cornée est mince (figure 5), et où le nombre de bicouches lipidiques à traverser est minimum.

Il faut noter de plus que ce mécanisme conduisant à l'amélioration de la biodisponibilité des molécules dans la peau peut également entrer en jeu dans la pénétration de liposomes par les canaux qui ont été observés dans la couche cornée [23] et qui constituent aussi des « shunts » (ou raccourcis) susceptibles de favoriser le passage entre les cornéocytes des liposomes élastiques appelés *Transferosomes*<sup>®</sup> ou d'autres vésicules déformables [24].

Enfin, on observera que ce schéma dynamique de pénétration cutanée pourrait être déclenché à l'aide d'autres moyens que les liposomes, pourvu qu'ils facilitent également l'incorporation de molécules susceptibles de favoriser l'apparition de pores ou de failles dans les lipides intercornéocytaires.

## Conclusion

Les formulations à base de liposomes ont fait l'objet de nombreuses études qui ont montré tout leur intérêt pour améliorer la biodisponibilité des molécules après application topique. Elles offrent donc beaucoup de possibilités de développement pour des produits cosmétiques toujours

plus performants. Leur mise au point nécessite la mise en œuvre de techniques de fabrication et de contrôle plus sophistiquées que pour les émulsions, lotions ou gels classiques mais avec l'aide de laboratoires et de sociétés spécialisées, le domaine des liposomes est à la portée de n'importe quel formulateur cosmétique de bon niveau. Il faut donc espérer que les responsables de la mise sur le marché des nouveautés cosmétiques réaliseront que la forme liposome n'a pas dit ses derniers mots dans les années 90 et que bien au contraire, elle reste une valeur sûre du nouveau millénaire aussi bien pour améliorer la structure et les qualités de la couche cornée, que pour favoriser la biodisponibilité des actifs, par exemple au niveau des follicules pilosébacés ou de la jonction dermo-épidermique.

## Références

- [1] Bangham A.D., Horne R.W., *J. Mol. Biol.*, **1964**, 12, p. 660.
- [2] Bangham A.D., Standish M.M., Watkins J.C., *J. Mol. Biol.*, **1965**, 13, p. 238.
- [3] Sessa G., Weissmann G., *J. of Lipid Research*, **1968**, 9, p. 310.
- [4] Delattre J., Couvreur P., Puisieux F., Philippot J.-R., Schubert F., *Les Liposomes*, Éditions Inserm, Paris, **1993**.
- [5] Handjani-Vila R.M., Ribier A., Rondot B., Vanlerbergue G., *Int. J. of Cosm. Science*, **1979**, 1, p. 303.
- [6] Meybeck A., *Liposome Dermatics*, O. Braun-Falco, H.C. Korting, H.I. Maibach (eds), Springer Verlag, **1992**, p. 341.
- [7] Meybeck A., *Liposome Dermatics*, O. Braun-Falco, H.C. Korting, H.I. Maibach (eds), Springer Verlag, **1992**, p. 235.
- [8] Meybeck A., Bonté F., Redziniak G., *5<sup>e</sup> Congrès international de Techniques pharmaceutiques, APGI*, Paris, **1989**, p. 399.
- [9] Schafer-Korting M., Korting H.C., Ponce-Poschl E., *Clin. Investig.*, **1994**, 72, p. 1086.
- [10] Patel V.B., Misra A., Marfatis Y.S., *Pharm. Dev. Technol.*, **2000**, 5, p. 455.
- [11] Cereda C.M., Brunetto G.B., de Araujo D.R., de Paula E., *Can. J. Anaesth.*, **2006**, 53, p. 1092.
- [12] Redziniak G., *Pathologie Biologie*, **2003**, 51, p. 279.
- [13] Masini V., Bonté F., Meybeck A., Wepierre J., *J. of Pharm. Sciences*, **1993**, 82, p. 17.
- [14] Lamidon M.C., Bonté F., Meybeck A., Wepierre J., *Proceed. Intern. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater.*, Controlled Release Society, **1991**, 18, p. 425.
- [15] Spies F., Boddé H.E., Meybeck A., Bonté F., *Proceed. Intern. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater.*, Controlled Release Society, **1991**, 18, p. 529.
- [16] Junginger H.E., Hoffland H.E.J., Bouwstra J.A., *Cosmetics and Toiletries*, **1991**, 106, p. 45.
- [17] Hoffland H.E.J., Bouwstra J.A., Boddé H.E., Spies F., Junginger H.E., *British J. of Dermatology*, **1995**, 132, p. 853.
- [18] Meybeck A., *Proc. Symposium on "Lipid and surfactant dispersed systems"*, Moscow, **1999**, p. 249.
- [19] Kampf J.P., Cupp D., Kleinfeld A.M., *J. Biol. Chem.*, **2006**, 281, p. 21566.
- [20] Emoto K., Kobayashi T., Yamaji A., Aizawa H., Yahara I., Inoue K., Umeda M., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1996**, 93, p. 12867.
- [21] Filippov A., Orådd G., Lindblom G., *Biophysical J.*, **2003**, 84, p. 3079.
- [22] Wang J., Megha, London E., *Biochemistry*, **2004**, 43, p. 1010.
- [23] Schatzlein A., Cevc G., *British J. of Dermatology*, **1998**, 138, p. 583.
- [24] Choi M.J., Maibach H.I., *Int. J. of Cosm. Science*, **2005**, 27, p. 211.

## Remerciements

L'auteur remercie Eric Perrier et LVMH Recherche, ainsi que Béatrice Berthouloux, Frédéric Bonté, Philippe Gasser, François Lhuisset, Thierry Pouget, Gérard Redziniak et Jean-François Tranchant.



### Alain Meybeck

est le gérant de AM Phyto-Conseil\* (AMP-C), société de conseil et de recherche qu'il a créée après une longue carrière de directeur de recherches en cosmétologie chez L'Oréal, LVMH, Parfums Christian Dior, Jeanne Gatineau et Orlane.

\* AM Phyto-Conseil, Les Poissons 242, 20 ter rue de Bezons, 92400 Courbovois.  
Courriel : ameybeck@club-internet.fr