

ENCAPSULATION LIPOSOMALE DE SUBSTANCES BIOLOGIQUEMENT ACTIVES

Simion EȘANU*, Mihai FURTUNA

Département de l'Alimentation et de la Nutrition, grupa FFT-231, Facultate Tehnologie Alimentaire,
Universitaté Tehnicé de Moldovie, Chișinău, République de Moldovie

*Auteur correspondant: Simion EȘANU, simionesanu12@gmail.com

Coordinateur scientifique: **Rodica STURZA**, professeur universitar, FTA, UTM

Résumé. Les liposomes sont des substances biologiques possédant une structure chimique complexe. Les Avcestia sont composés uniquement de lipides naturels mais également de cholestérol. Le cholestérol est le lipide de la famille des stérols le plus utilisé dans la fabrication de liposomes (en général à raison de 30% de la composition lipidique). Le cholestérol est un lipide amphiphile. Actuellement, ils peuvent comprendre des lipides et des tensioactifs naturels et/ou synthétiques. Ils ont également une utilité extrêmement répandue dans l'industrie : au cours des 50 dernières années, les liposomes ont trouvé leurs applications dans de nombreux domaines. Tout d'abord, ils ont été largement utilisés dans les domaines de la recherche, notamment pour l'étude des membranes biologiques. Par la suite, les secteurs de la cosmétique a un certain nombre de 107 produits et des compléments alimentaires se sont emparés de ces systèmes de transport de molécules actives. Enfin, ils sont largement utilisés en thérapie, pour l'administration de médicaments 108 produits, de gènes 109 produits et en imagerie moléculaire 11 produits.

Mots clés: Liposomes, encapsulation, utilisation en industrie, pharmaceutique

Introduction

Les liposomes eux-mêmes sont des vésicules sphériques dont la taille peut varier de la dizaine de nanomètres (nm) au micromètre (μm) et qui peuvent comporter une, deux ou plusieurs couches lipidiques organisées en deux compartiments aqueux. Ces bicouches lipidiques sont composées de phospholipides, molécules capables de former spontanément des liposomes au contact de l'eau. La première personne à fabriquer volontairement des liposomes fut Alec Bangham en 1965 [1]. Ces derniers furent largement utilisés dans le domaine médical jusqu'à ce que les réalités d'aujourd'hui soient utilisées pour encapsuler des solutions biologiques.

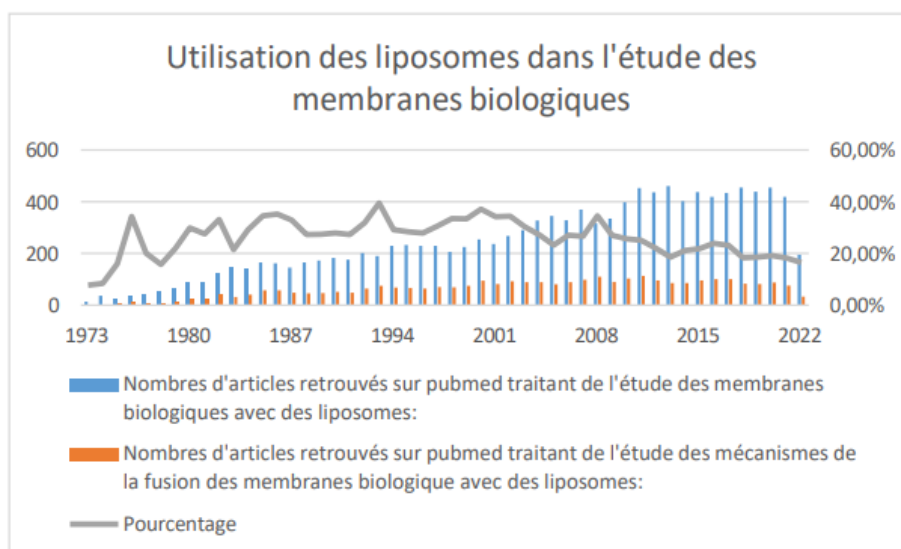


Figure 1. Graphique représentant l'utilisation des liposomes dans l'études membranes biologiques entre 1974 et 2022 [1]

1.1 Histoire des liposomes

Le mot Liposome vient des mots grecs « lipos » (graisse) et « soma » qui signifie « corps » ce qui désigne la qualification des liposomes comme « corps lipidiques ». La première étude des cellules vivantes a eu lieu en 1600 par Anton van Leeuwenhoek à l'aide du premier microscope inventé par Robert Hook qui a révolutionné le développement de la science. Cette étude fut poursuivie par Benjamin Franklin en 1734, publiant pour la première fois les observations dans la « Philosophical Transaction of the Royal Society ». Puis, en 1890, l'étude plus active des liposomes a commencé, ce qui a conduit à l'utilisation des liposomes pour l'étude des membranes biologiques. En 1917, le futur lauréat du prix Nobel de chimie, Irving Langmuir, a décrit les membranes cellulaires comme une couche de lipides. Huit ans plus tard, Gorter et Grendel ont terminé leurs études avec notre vision actuelle des membranes cellulaires comme étant composées de deux couches de lipides formant une membrane lipidique. Actuellement, les liposomes et leurs membranes biologiques sont utilisés dans l'industrie dans divers domaines [2].

En 1972 Singer et Nicolson proposent un modèle décrivant les membranes biologiques (fig. 2)

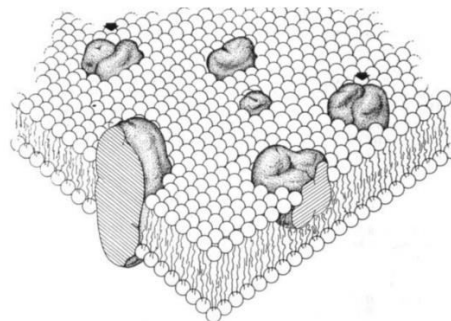


Figure 2. Schéma du modèle de la mosaïque fluide de Singer (1972)

1.2. Caractéristiques des liposomes.

1.2.1. Constituants des liposomes

Les liposomes sont constitués d'une membrane lipidique unilamellaire ou multilamellaire qui sépare un compartiment aqueux du milieu environnant. Cette membrane est composée de phospholipides amphiphiles comprenant une tête polaire hydrophile et une partie lipidique apolaire. Ce dernier possède deux chaînes d'acides gras remplaçant un glycérol lui-même lié au fragment polaire phosphocholine (Figure 3). L'utilisation d'autres types de lipides dans la fabrication des liposomes, comme le cholestérol, pourrait permettre de moduler les propriétés de la membrane lipidique [3].

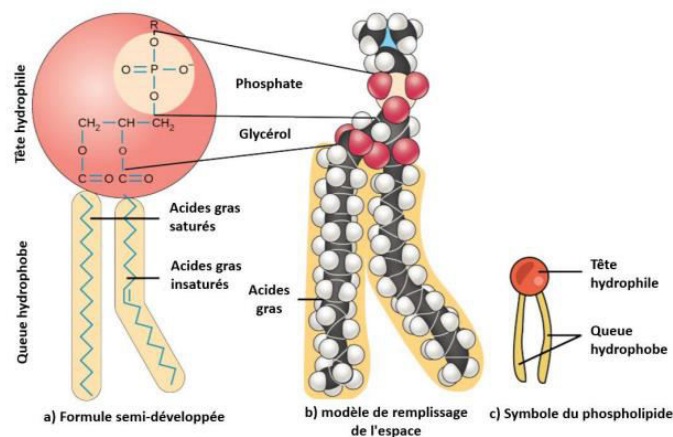


Figure 3. Schémas d'un phospholipide : Représentation d'un phospholipide [3]

1.2.2. Structure des liposomes

La structure des liposomes auto-assemblés dépend beaucoup de la nature et de la conformation tridimensionnelle de ces amphiphiles. En milieu aqueux, ils s'organisent en chaîne de manière à ce que les hydrocarbures soient au centre de la double couche lipidique (Fig. 4).

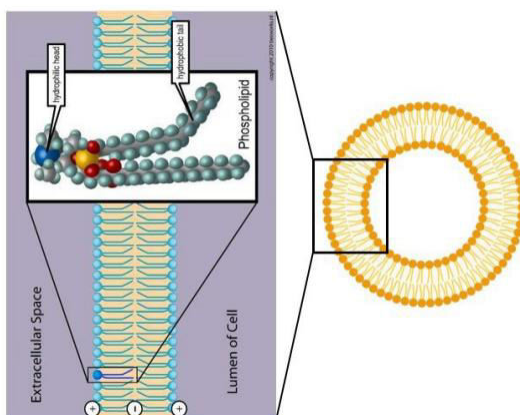


Figure 4. Représentation schématique de l'acencement des phospholipids au sien des liposomes [4]

1.2.3. Classification des liposomes

En général, les liposomes sont classés selon leur taille et leur lamellarité (nombre de couches) [5]. Ainsi, ils sont classés comme suit :

- «Small unilamellar vesicles ou SUV », petites (20 à 100 nm) ;
- «large unilamellar vesicles ou LUVs », de plus grande taille (0,1 μm à 1 μm) ;
- "giant unilamellar vesicles ou GUV" de taille supérieure à 1 μm . Les vésicules multilamellaires sont constituées de plusieurs lamelles et de plusieurs compartiments aqueux. Ils sont également répartis en trois catégories :
- Les vésicules oligolamellaires ou OLV qui présentent une structure en oignon comprenant en moyenne 5 bicouches concentriques et une taille comprise entre 100 et 500 nm.
- Vésicules multilamellaires ou MLV qui présentent également une structure en oignon composée de plusieurs lamelles concentriques (entre 5 et 20) et leur taille est supérieure à 500 nm.
- les vésicules multivésiculaires ou MVV qui sont constituées de plusieurs bicouches non concentriques piégées au sein d'une vésicule plus grande, dont la taille est supérieure à 1 μm (Fig.5).

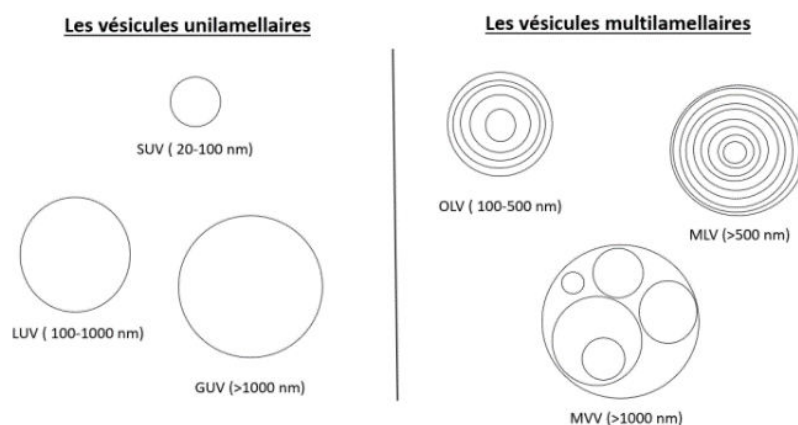


Figure 5. Représentation schématique des 5 principaux types de liposomes décrits par Rongen [6]

2. Encapsulation liposomale de principes actifs

L'encapsulation liposomale consiste à incorporer un principe actif (AP) à l'intérieur du liposome. L'encapsulation peut être effectuée par deux méthodes passive et active.

a) L'encapsulation passive consiste à intégrer (le principe actif) directement dans la préparation de liposomes pendant le processus de formation des liposomes. Il est incorporé soit dans la phase organique s'il s'agit d'une molécule lipophile, ou en phase aqueuse s'il s'agit d'une molécule hydrophile [5, 6].

b) L'encapsulation active, quant à elle, consiste à intégrer (le principe actif) dans des liposomes déjà préformés. La méthode d'encapsulation utilisée sera choisie en fonction des propriétés et des caractéristiques de quarantaine propriétés physico-chimiques de la substance active (taille, charge, solubilité, etc.)

Enfin, la localisation du principe actif dans un liposome dépend de sa nature chimique. Les actifs lipophiles sont introduits dans la bicouche lipidique et les hydrophiles se trouvent dans le noyau aqueux du liposome. Les molécules amphiphiles s'installent entre la phase organique et la phase aqueuse. Ils entreront à la fois dans la bicouche et dans le compartiment aqueux des liposomes.

Application des liposomes

1. Utilisation des liposomes dans le domaine de la recherche

Les liposomes sont des modèles essentiels et fondamentaux pour l'étude de tout phénomène biologique, biochimique, biophysique, pharmacologique ou pharmaceutique. La recherche des liposomes est réalisée par deux méthodes:

- **Méthode de transfert d'énergie** par résonance entre deux sondes fluorescentes préalablement insérées dans la membrane d'une même population de liposomes. Il s'agit d'une méthode basée sur le "transfert d'énergie par résonance Förster" (Fig. 6).

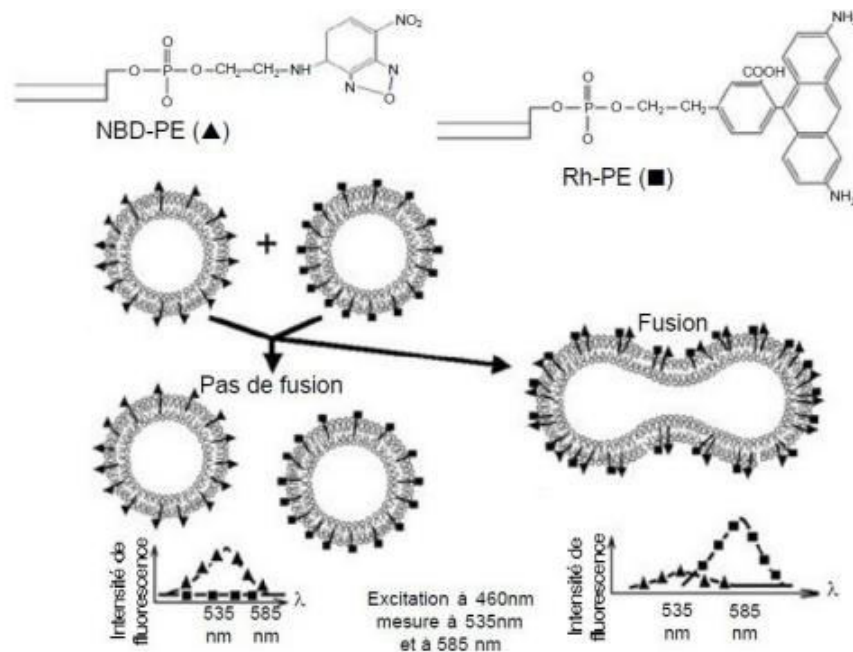


Figure 6. Schématisation de la méthode de transfert d'énergie par résonance entre deux sondes fluorescentes (NDP et Rh) préalablement insérées dans la membrane d'une même population de liposomes [6, 7]

- **Méthode d'inhibition** de fluorescence d'une sonde préalablement insérée dans la membrane d'une population de liposomes

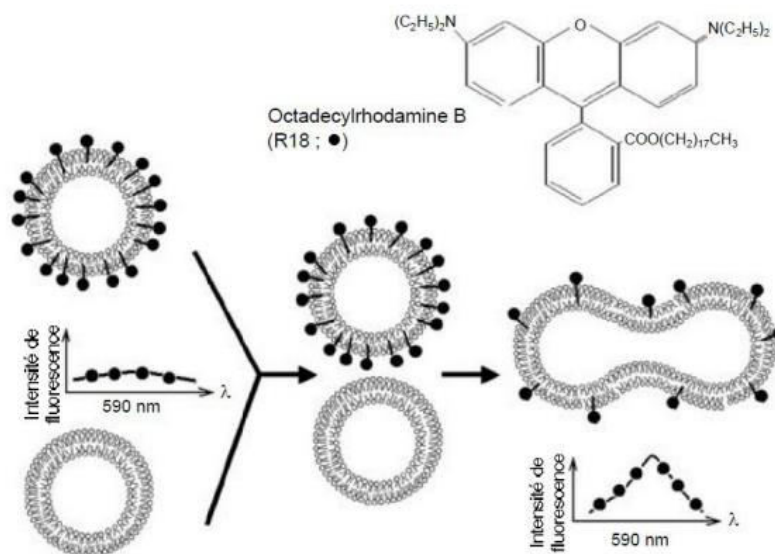


Figure 7. Schématisation de la méthode d'inhibition de fluorescence d'une sonde préalablement insérée dans la membrane d'une population de liposomes [7-9]

Cette méthode utilise un chromophore attaché aux phospholipides d'une famille de vésicules.

2 Utilisation des liposomes dans l'industrie cosmétique

Le premier produit cosmétique composé de liposomes est apparu en 1986. Il a été fabriqué par la marque Dior et s'appelle « Capture Complex Liposomes Résultat ». Ce produit est l'un des premiers remèdes anti-âges sur le marché pour produits de beauté (fig. 8) [9-11].

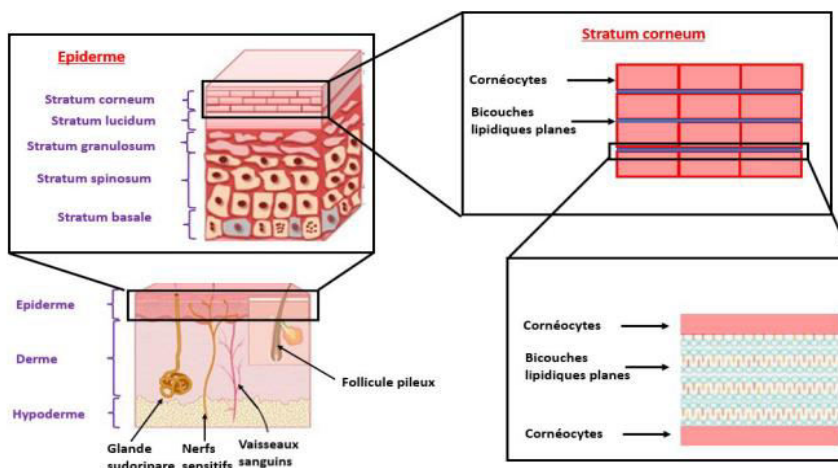


Figure 8. Représentation schématique des différentes couches de l'épiderme et de ses composants [8]

3. Utilisation des liposomes dans le secteur des compléments alimentaires

Les compléments alimentaires sont considérés comme des vitamines et des minéraux.

Aujourd'hui, l'Union européenne autorise l'utilisation de treize vitamines et quinze minéraux (tab. 1) [10-12]

Table 1.

Vitamines et minéraux utilisés dans le domaine des compléments alimentaires [13, 14].

Vitamines	Minéraux
Vitamine A	Calcium
Vitamine B1	Chlorure
Vitamine B2	Chrome
Vitamine B3	Cuivre
Vitamine B5	Fer
Vitamine B6	Fluor (pas de sels de fluor)
Vitamine B8	Iode
Vitamine B9	Magnésium
Vitamine B12	Manganèse
Vitamine C	Molybdène
Vitamine D	Phosphore
Vitamine E	Potassium
Vitamine K	Sodium
	Zinc

Conclusion

Depuis leur découverte il y a 50 ans, les liposomes ont été largement étudiés. Leur composition lipidique (principalement des phospholipides) ainsi que leur structure ont été définies. Leurs caractéristiques physicochimiques se sont avérées très intéressantes pour l'encapsulation, la protection et le transport de molécules actives. De plus, il a été démontré que leur composition lipidique influençait fortement leurs caractéristiques physicochimiques, notamment la fluidité, la stabilité et la perméabilité de leurs bicouches lipidiques. Il est ainsi primordial de maîtriser ces caractéristiques pour produire des liposomes permettant le transport de molécules actives in vivo ainsi que leur libération au niveau d'une cible. De nombreuses méthodes ont été développées afin de produire des liposomes de tailles et lamellarités variées (SUV, LUV, MLV, MVV etc.) avec des volumes d'encapsulation différents. Les liposomes sont confrontés à des problèmes d'instabilité physique (agrégation), chimique (oxydation) et enzymatique. Il s'avère que la méthode privilégiée pour leur conservation est la lyophilisation car elle permet notamment de limiter les altérations chimiques des phospholipides induites par l'eau.

Bibliographie:

- [1] Graphique représentant l'utilisation des liposomes dans l'études membranes biologiques entre 1974 et 2022 (réalisé à partir des données disponibles sur Pubmed).
- [2] S. J. Singer, "A fluid lipid-globular protein mosaic model of membrane structure". Ann. N. Y. Acad. Sci. 1972, 195 (1), 16–23. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1972.tb54780.x>
- [3] "Schémas d'un phospholipide : Représentation d'un phospholipide". Image modifiée à partir de OpenStax Biology.
- [4] F. R. Maxfield, I. Tabas, "Role of Cholesterol and Lipid Organization in Disease". Nature 2005, 438 (7068), 612–621. <https://doi.org/10.1038/nature04399>.
- [5] A. D. Bangham, R. W. Horne, "Negative Staining of Phospholipids and Their Structural Modification by Surface-Active Agents as Observed in the Electron Microscope". J. Mol. Biol. 1964, 8 (5), 660-IN10. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(64\)80115-7](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(64)80115-7).

- [6] M. Salim, H. Minamikawa, A. Sugimura, R. Hashim, "Amphiphilic Designer NanoCarriers for Controlled Release: From Drug Delivery to Diagnostics". *Med Chem Commun* 2014, 5 (11), 1602–1618. <https://doi.org/10.1039/C4MD00085D>
- [7] H. A. H. Rongen, A. Bult, W. P. van Bennekom, "Liposomes and Immunoassays. J. Immunol. Methods". 1997, 204 (2), 105–133. [https://doi.org/10.1016/S0022-1759\(97\)00041-0](https://doi.org/10.1016/S0022-1759(97)00041-0).
- [8] D. Lasic, "Novel Applications of Liposomes". *Trends Biotechnol.* 1998, 16 (7), 307–321. [https://doi.org/10.1016/S0167-7799\(98\)01220-7](https://doi.org/10.1016/S0167-7799(98)01220-7).
- [9] A. Olejnik, J. Semba, A. Kulpa, A. Danczak-Pazdrowska, J. Rybka, J. GornowiczPorowska, "3D Bioprinting in Skin Related Research: Recent Achievements and Application Perspectives". *ACS Synth. Biol.* 2021, XXXX. <https://doi.org/10.1021/acssynbio.1c00547>.
- [10] Règlement (UE) 2015/2283 du Parlement européen et du Conseil du 25 novembre 2015 relatif aux nouveaux aliments, modifiant le règlement (UE) n° 1169/2011 du Parlement européen et du Conseil et abrogeant le règlement (CE) n° 258/97 du Parlement européen et du Conseil et le règlement (CE) n° 1852/2001 de la Commission (Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE); 2015; Vol. 327
- [11] F. Szoka, F. Olson, T. Heath, W. Vail, E. Mayhew, "Papahadjopoulos, D. Preparation of Unilamellar Liposomes of Intermediate Size (0.1–0.2 Mm) by a Combination of Reverse Phase Evaporation and Extrusion through Polycarbonate Membranes". *Biochim. Biophys. Acta BBA - Biomembr.* 1980, 601, 559–571. [https://doi.org/10.1016/0005-2736\(80\)90558-1](https://doi.org/10.1016/0005-2736(80)90558-1).
- [12] Y. T. Ko, U. Bickel, "Liposome-Encapsulated Polyethylenimine/Oligonucleotide Polyplexes Prepared by Reverse-Phase Evaporation Technique". *AAPS PharmSciTech* 2012, 13 (2), 373–378. <https://doi.org/10.1208/s12249-012-9757-8>.
- [13] M. Niu, Y. Lu, L. Hovgaard, W. Wu, "Liposomes Containing Glycocholate as Potential Oral Insulin Delivery Systems: Preparation, in Vitro Characterization, and Improved Protection Page 128 sur 139 against Enzymatic Degradation". *Int. J. Nanomedicine* 2011, 6, 1155–1166. <https://doi.org/10.2147/IJN.S19917>.
- [14] Règlement (UE) 2015/2283 du Parlement européen et du Conseil du 25 novembre 2015 relatif aux nouveaux aliments, modifiant le règlement (UE) n° 1169/2011 du Parlement européen et du Conseil et abrogeant le règlement (CE) n° 258/97 du Parlement européen et du Conseil et le règlement (CE) n° 1852/2001 de la Commission (Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE); 2015; Vol. 327.