



(12) **DEMANDE DE BREVET CANADIEN
CANADIAN PATENT APPLICATION**

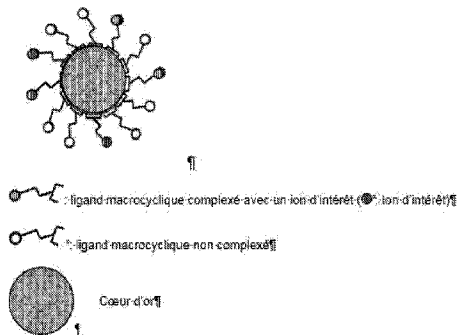
(13) **A1**

(86) Date de dépôt PCT/PCT Filing Date: 2020/07/23
(87) Date publication PCT/PCT Publication Date: 2021/01/28
(85) Entrée phase nationale/National Entry: 2022/01/11
(86) N° demande PCT/PCT Application No.: FR 2020/051352
(87) N° publication PCT/PCT Publication No.: 2021/014103
(30) Priorité/Priority: 2019/07/23 (FR19 08368)

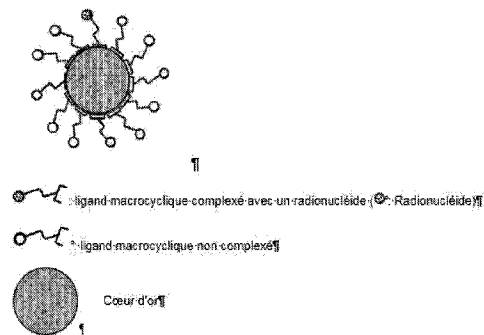
(51) Cl.Int./Int.Cl. *A61K 51/12* (2006.01),
A61K 47/02 (2006.01), *A61K 47/30* (2006.01),
A61K 49/18 (2006.01), *A61P 35/00* (2006.01),
B82Y 15/00 (2011.01), *B82Y 5/00* (2011.01)
(71) Demandeur/Applicant:
UNIVERSITE DE FRANCHE COMTE, FR
(72) Inventeurs/Inventors:
LAURENT, GAUTIER, FR;
BEDUNEAU, ARNAUD, FR;
ROUX, STEPHANE, FR
(74) Agent: NORTON ROSE FULBRIGHT CANADA
LLP/S.E.N.C.R.L., S.R.L.

(54) Titre : STRUCTURES PARTICULAIRES A BASE DE NANOPARTICULES D'OR, LEURS PROCEDES DE PREPARATION ET LEURS UTILISATIONS DANS LE TRAITEMENT DES TUMEURS SOLIDES
(54) Title: PARTICULATE STRUCTURES MADE FROM GOLD NANOPARTICLES, METHODS FOR PREPARING SAME AND USES THEREOF FOR TREATING SOLID TUMOURS

[Fig. 1a]



[Fig.1b]



[Fig.1c]

(57) **Abrégé/Abstract:**

La présente invention a pour objet une structure particulaire caractérisée en ce qu'elle comprend : a/ une particule de polymère biodégradable b/ des nanoparticules d'or recouvertes à leur surface de chélateurs macrocycliques complexant au moins un ion

(57) **Abrégé(suite)/Abstract(continued):**

d'intérêt et/ou un radionucléide pour l'imagerie médicale, c/ un polycation présentant une charge positive sur une gamme de pH allant de 5 à 11 les nanoparticules d'or b / étant encapsulées dans la particule de polymère a / et/ou adsorbées à la surface de la particule de polymère a/. L'invention concerne également un procédé de préparation desdites structures particulières. L'invention a encore pour objet une utilisation desdites structures particulières pour la radiothérapie ou la chimiothérapie dans le cadre du traitement du cancer.

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la
Propriété Intellectuelle
Bureau international(10) Numéro de publication internationale
WO 2021/014103 A1(43) Date de la publication internationale
28 janvier 2021 (28.01.2021)

(51) Classification internationale des brevets :

A61K 49/00 (2006.01) *A61K 51/12* (2006.01)
A61K 49/04 (2006.01) *B82Y 5/00* (2011.01)
A61K 49/18 (2006.01) *B82Y 15/00* (2011.01)

ROUX, Stéphane ; 3 chemin de la Messe Les granges du
Sapin, 25440 CHENEYCEY BULLON (FR).

(21) Numéro de la demande internationale :

PCT/FR2020/051352

(74) Mandataire : **PLASSERAUD IP** ; 66 rue de la Chaussée
d'Antin, 75440 PARIS CEDEX 09 (FR).

(22) Date de dépôt international :

23 juillet 2020 (23.07.2020)

(81) États désignés (*sauf indication contraire, pour tout titre de
protection nationale disponible*) : AE, AG, AL, AM, AO,
AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA,
CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ,
EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR,
HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP,
KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME,
MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ,
OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA,
SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR,
TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(25) Langue de dépôt :

français

(26) Langue de publication :

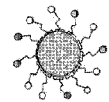
français

(30) Données relatives à la priorité :

19 08368 23 juillet 2019 (23.07.2019) FR

(71) Déposant : **UNIVERSITE DE FRANCHE COMTE**
[FR/FR] ; 1 Rue Claude Goudimel, 25030 BESANCON
(FR).(84) États désignés (*sauf indication contraire, pour tout titre de
protection régionale disponible*) : ARIPO (BW, GH, GM,
KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG,
ZM, ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM),
européen (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES,(72) Inventeurs : **LAURENT, Gautier** ; 14B rue d'Emagny,
25115 POUILLEY-LES-VIGNES (FR). **BEDUNEAU,
Arnaud** ; 9A rue du 27 Août, 25800 Valdahon (FR).(54) Title: PARTICULATE STRUCTURES MADE FROM GOLD NANOPARTICLES, METHODS FOR PREPARING SAME AND
USES THEREOF FOR TREATING SOLID TUMOURS(54) Titre : STRUCTURES PARTICULAIRES À BASE DE NANOPARTICULES D'OR, LEURS PROCÉDÉS DE PRÉPARATION
ET LEURS UTILISATIONS DANS LE TRAITEMENT DES TUMEURS SOLIDES

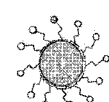
[Fig. 1a]



ligand macrocyclique complexé avec un ion d'intérêt (ion d'intérêt) AA
 ligand macrocyclique non complexé BB



[Fig. 1b]



ligand macrocyclique complexé avec un radionucléide (radionucléide) DD
 ligand macrocyclique non complexé BB



[Fig. 1c]

AA macrocyclic ligand complexed with an ion of interest (: ion of interest)
 BB non-complexed macrocyclic ligand
 CC Gold core

FIG. 1b:
 DD macrocyclic ligand complexed with a radionuclide (: Radionuclide)

(57) Abstract: The present invention concerns a particulate structure characterised in that it comprises: a/ a biodegradable polymer particle, b/ gold nanoparticles covered on their surface with macrocyclic chelators complexing at least one ion of interest and/or a radionuclide for medical imaging, c/ a polycation having a positive charge over a pH range from 5 to 11, the gold nanoparticles b/ being encapsulated in the polymer particle a/ and/or adsorbed at the surface of the polymer particle a/. The invention also relates to a method for preparing the particulate structures. The invention further concerns the use of the particulate structures for radiotherapy or chemotherapy in the context of cancer treatment.

(57) Abrégé : La présente invention a pour objet une structure particulière caractérisée en ce qu'elle comprend : a/ une particule de polymère biodégradable b/ des nanoparticules d'or recouvertes à leur surface de chélateurs macrocycliques complexant au moins un ion d'intérêt et/ou un radionucléide pour l'imagerie médicale, c/ un polycation présentant une charge positive sur une gamme de pH allant de 5 à 11 les nanoparticules d'or b / étant encapsulées dans la particule de polymère a / et/ou adsorbées à la surface de la particule de polymère a/. L'invention concerne également un procédé de préparation desdites structures particulières. L'invention a encore pour objet une utilisation desdites structures particulières pour la radiothérapie ou la chimiothérapie dans le cadre du traitement du cancer.



WO 2021/014103 A1

WO 2021/014103 A1 

FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK,
MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI
(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML,
MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée:

— avec rapport de recherche internationale (Art. 21(3))

Description

Titre : Structures particulières à base de nanoparticules d'or, leurs procédés de préparation et leurs utilisations dans le traitement des tumeurs solides

5 **Domaine technique**

[0001] La présente invention relève du domaine de la chimie et de la formulation appliquées à la santé. Elle concerne notamment de nouvelles structures particulières qui comprennent des nanoparticules d'or multifonctionnelles, et leurs utilisations pour la radiothérapie, l'imagerie et la chimiothérapie dans le cadre du traitement du cancer.

[0002] L'invention concerne également un procédé de préparation de ces nouvelles structures particulières qui consiste notamment à encapsuler les nanoparticules d'or multifonctionnelles dans des particules de polymère biodégradable.

15 **Technique antérieure**

[0003] L'utilisation de nanoparticules d'or représente une stratégie prometteuse dans le diagnostic et le traitement du cancer (1), (2).

La taille réduite des nanoparticules permet une exploration du vivant jusqu'au niveau cellulaire. Ces nanoparticules sont suffisamment volumineuses pour ne pas franchir les barrières biologiques des tissus sains et suffisamment petites pour franchir l'épithélium poreux des vaisseaux sanguins des tumeurs solides.

Les nanoparticules d'or sont également attrayantes de par leurs propriétés intrinsèques. En effet, l'élément or est un métal noble par excellence, très peu sensible aux agressions chimiques extérieures, qui en outre présente une biocompatibilité adaptée aux applications médicales. Les nanoparticules d'or possèdent des propriétés optiques modulables dépendant de la taille, de la forme et de l'environnement diélectrique. Cette propriété est beaucoup utilisée dans le cadre de la thérapie photothermique et de l'imagerie (3). De plus, l'or, en raison d'un numéro atomique élevé, est caractérisé par une densité et une section efficace d'absorption des photons X et γ très élevées. Cette propriété,

indépendante de la taille, confère aux nanoparticules d'or un comportement d'agent de contraste pour la tomodensitométrie X et un effet radiosensibilisant exploitable pour la radiothérapie (4), (5). Enfin, les deux méthodes de synthèse principales décrites par Brust et Frens sont relativement simples à mettre en œuvre. La première consiste en une réduction d'un sel d'or par un réducteur fort en présence de ligands thiolés alors que la méthode de Frens mène à la formation de nanoparticules stabilisées par des ions citrates en utilisant le réducteur citrate de sodium sur le sel d'or (6), (7). La fonctionnalisation de ces nanoparticules d'or, qui peut être réalisée pendant ou après la synthèse, permet d'enrichir la palette des propriétés. Par un choix approprié des constituants utilisés pour la synthèse de nanoparticules d'or multifonctionnelles, il est alors possible, malgré la taille réduite, d'intégrer au sein d'un même objet une activité thérapeutique et des fonctions d'imagerie.

[0004] Le travail de thèse de G. Laurent (8) a montré que des nanoparticules d'or multifonctionnelles, à savoir des nanoparticules d'or recouvertes à leur surface de chélateurs macrocycliques capables de complexer des éléments d'intérêt pour l'imagerie médicale (Gd^{3+} pour l'IRM, $^{111}In^{3+}$ pour la TEMP et $^{64}Cu^{2+}$ pour la TEP), présentent un fort potentiel pour la radiothérapie guidée par imagerie.

Ces nanoparticules d'or ainsi fonctionnalisées présentent en effet le potentiel d'agent de contraste multimodal (IRM, imagerie nucléaire) et d'agent radiosensibilisant. Une fois injectées par voie intraveineuse, ces nanoparticules ont présenté un effet thérapeutique significatif suite à leur activation par un rayonnement X. Par ailleurs, le suivi de la biodistribution de ces nanoparticules a pu être réalisé par IRM, SPECT et tomodensitométrie X. Les nanoparticules d'or multifonctionnelles, de par leurs propriétés optiques et radiosensibilisantes, représentent donc une approche extrêmement intéressante pour le diagnostic et le traitement des tumeurs.

Cependant, malgré ces résultats prometteurs, le temps de demi-vie plasmatique de ces nanoparticules d'or multifonctionnelles demeure très faible, freinant ainsi leur accumulation dans les zones tumorales (taux d'accumulation d'environ 2%). L'élimination trop rapide des nanoparticules (clairance rénale) peut s'expliquer par

leur petite taille (diamètre hydrodynamique d'environ 6 à 7 nm) qui est néanmoins primordiale pour pouvoir être éliminées par voie rénale.

[0005] Il a ainsi été proposé d'augmenter le diamètre hydrodynamique des nanoparticules d'or afin de limiter le problème de la clairance rénale trop rapide.

5 Cependant, une telle approche réduit considérablement les propriétés radiosensibilisantes des nanoparticules ainsi que leur élimination de l'organisme par voie rénale (9), (10).

[0006] Les Inventeurs de la présente invention ont alors imaginé encapsuler les nanoparticules d'or multifonctionnelles dans des particules de polymère biodégradable plus grosses, qui circuleraient plus longtemps dans le sang et
10 auraient donc plus d'opportunités de s'accumuler dans la tumeur, tout en gardant l'élimination rénale des nano-objets.

[0007] Des approches pour encapsuler des nanoparticules d'or dans des particules de polymère biodégradable ont déjà été décrites dans la littérature. On
15 pourra ainsi citer l'encapsulation par simple émulsion huile-dans-eau ou par double émulsion eau-dans-huile-dans-eau décrite dans Wang Y et al (11) ou encore la synthèse des nanoparticules d'or *in situ*, à savoir directement à l'intérieur des particules polymériques, décrite dans Luque-Michel et al (12).

Cependant ces méthodes souffrent d'un faible rendement d'encapsulation et/ou
20 mènent à des particules de taille trop importante, à savoir de l'ordre du micromètre, et souffrent également d'un manque d'homogénéité en taille (particules polydisperses). De plus, les particules d'or généralement encapsulées sont « nues » (à savoir non fonctionnalisées) ce qui entraîne un manque de stabilité colloïdale en milieu physiologique et un problème d'élimination lors de la
25 dégradation de la particule polymérique, *in vivo*.

Résumé

[0008] Un des buts de la présente invention est de développer de nouvelles structures particulières qui comprennent les nanoparticules d'or multifonctionnelles, et qui présentent un temps de demi-vie plasmatique suffisamment long (à savoir
30 de 15 minutes à 120 minutes) afin d'améliorer leur accumulation au niveau de la zone tumorale et de mieux exploiter le potentiel radiosensibilisant des

nanoparticules d'or multifonctionnelles.

Un autre but de l'invention est de développer de nouvelles structures particulières qui sont des transporteurs biodégradables, qui présentent un temps de demi-vie plasmatique (temps de circulation dans le sang) suffisamment long afin d'exploiter
5 pleinement le potentiel prometteur des nanoparticules d'or multifonctionnelles pour la radiothérapie guidée par imagerie.

Un autre but de l'invention est de mettre au point de nouvelles structures particulières qui, tout en présentant un temps de demi-vie plasmatique suffisamment long pour améliorer leur accumulation tumorale, se dégradent
10 ensuite rapidement dans le sang et s'éliminent par voie rénale.

[0009] Un autre but de la présente invention est de mettre au point un procédé original de préparation de ces nouvelles structures particulières, ledit procédé permettant d'encapsuler efficacement les nanoparticules d'or multifonctionnelles dans des particules de polymère biodégradable, à savoir avec un rendement
15 d'encapsulation supérieur à 90%, proche de 100%, voire égal à 100%.

Un autre but de l'invention est de mettre au point un procédé permettant de préparer des structures particulières de l'ordre du nanomètre, à savoir qui présentent un diamètre allant de 50 à 200 nm, et qui présentent une distribution en taille étroite (à savoir qui présentent un faible indice de polydispersité).

20 Un autre but de l'invention est de mettre au point un procédé permettant de préparer des structures particulières telles que définies ci-dessus, avec une forte reproductibilité, aussi bien pour le taux de charge obtenu (taux d'encapsulation) que pour la taille des particules obtenues.

[0010] Lors de leurs recherches concernant la synthèse de particules de polymère biodégradable encapsulant des nanoparticules d'or, les Inventeurs se sont
25 notamment intéressés aux procédés basés sur la méthode de nanoprécipitation par déplacement de solvant (13).

Ils ont ainsi découvert de manière surprenante que le procédé de préparation de telles structures particulières pouvait être grandement amélioré par l'utilisation
30 d'un polycation présentant une charge positive sur une large gamme de pH, à savoir une gamme de pH allant de 5 à 11.

En effet, le polycation permet de piéger électrostatiquement les nanoparticules

d'or multifonctionnelles, ce qui facilite et rend notamment possible leur encapsulation dans les particules de polymère biodégradable.

[0011] La présente invention a plus particulièrement pour objet une structure particulière caractérisée en ce qu'elle comprend :

- 5 a/ une particule de polymère biodégradable,
b/ des nanoparticules d'or recouvertes à leur surface de chélateurs macrocycliques complexant au moins un ion d'intérêt et/ou un radionucléide pour l'imagerie médicale,
c/ un polycation présentant une charge positive sur une gamme de pH allant
10 de 5 à 11,
les nanoparticules d'or b/ étant encapsulées dans la particule de polymère a/ et/ou adsorbées à la surface de la particule de polymère a/.

[0012] Le terme « nanoparticule » désigne un objet, peu importe la forme, dont au moins une de ses dimensions est comprise entre 1 et 100 nanomètres.

- 15 La structure particulière de l'invention désigne notamment une particule de polymère biodégradable a/ à l'intérieur de laquelle sont encapsulées des nanoparticules d'or b/ et/ou à la surface de laquelle sont adsorbées des nanoparticules d'or b/.

- 20 **[0013]** Concernant les nanoparticules d'or, les formes possibles peuvent être des sphères, des nanoshells (cœur-coquille), des nanobâtonnets. La forme sphérique constitue cependant une approximation. En effet, l'or cristallise dans un réseau cubique à faces centrées et forme ainsi un objet polyédrique pouvant être assimilé à une sphère.

- 25 **[0014]** Selon l'invention, les nanoparticules d'or et les particules de polymère biodégradable sont de préférence de forme sphérique. De la même façon, la structure particulière de l'invention est de préférence de forme sphérique.

- 30 **[0015]** Les nanoparticules d'or des structures particulières de l'invention, recouvertes à leur surface de chélateurs macrocycliques complexant au moins un ion d'intérêt et/ou un radionucléide pour l'imagerie médicale, peuvent encore être dénommées indifféremment nanoparticules d'or « fonctionnelles » (par opposition à nanoparticules d'or « nues »), « multifonctionnelles », « fonctionnalisées »,

nanoparticules d'or fonctionnalisées radiosensibilisantes etc. Elles pourront simplement être désignées dans ce qui suit par nanoparticules d'or b/. De telles nanoparticules d'or b/ sont donc composées d'un cœur d'or entouré ou recouvert d'une couche organique constituée de chélateurs macrocycliques complexant des ions d'intérêt et/ou radionucléides.

[0016] Le rôle essentiel de la couche organique, outre la stabilité colloïdale, est de permettre la complexation des éléments pour l'imagerie médicale (ion d'intérêt, radionucléide) afin de pouvoir suivre les nanoparticules d'or b/ par imagerie.

[0017] Les nanoparticules d'or fonctionnelles b/ peuvent encore être désignées par le sigle Au@L(M) dans lequel Au représente l'or, L(M) représente le chélateur macrocyclique (à savoir L) complexant l'ion d'intérêt et/ou le radionucléide (à savoir M).

[0018] Le chélateur macrocyclique L peut également être désigné par ligand macrocyclique ou ligand.

[0019] Des représentations schématiques des nanoparticules d'or fonctionnalisées sont données aux Figures 1a, 1b et 1c.

[0020] On entend par polymère biodégradable au sens de l'invention, un polymère qui va se dégrader ou se résorber naturellement dans l'organisme d'un sujet. Le polymère biodégradable peut encore être dénommé polymère biorésorbable. La particule de polymère biodégradable ou biorésorbable pourra être désignée dans ce qui suit par particule de polymère a/, particule polymérique a/.

[0021] Le polycation présentant une charge positive sur une large gamme de pH telle que ci-dessus définie pourra être désigné dans ce qui suit par polycation c/. Ledit polycation c/ se trouvera toujours à proximité des nanoparticules d'or b/ puisqu'il est en interaction électrostatique avec ces dernières. Ainsi le polycation c/ peut être encapsulé dans la particule de polymère a/ et/ou adsorbé à la surface de la particule de polymère a/.

[0022] La structure particulaire objet de l'invention est encore caractérisée en ce qu'elle comprend un tensioactif adsorbé à la surface de la particule de polymère a/. Ledit tensioactif, lorsqu'il est présent, est donc toujours présent à la surface de la particule de polymère a/ et n'est jamais encapsulé au sein de cette dernière.

La présence du tensioactif est fonction de la nature du polymère biodégradable de la nanoparticule.

Le tensioactif de l'invention est notamment l'alcool polyvinylique (PVA) et/ou un poloxamère, et est de préférence le PVA.

- 5 A titre d'exemples de poloxamère on pourra citer ceux commercialisés sous la dénomination Pluronic F-127 (Poloxamer 407), P85, L64.

[0023] Des représentations schématiques de structures particulières de l'invention avec le tensioactif sont données aux Figures 2a, 2b et 2c.

- [0024]** Selon un autre aspect de l'invention, la structure particulière comprend en
10 outre au moins un principe actif encapsulé dans la particule de polymère a/, ledit principe actif étant de préférence un agent chimiothérapeutique et/ou un fluorophore.

[0025] A titre d'exemple d'agent chimiothérapeutique, on pourra citer le témozolomide, le paclitaxel, le docetaxel et l'étoposide.

- 15 **[0026]** A titre d'exemple de fluorophore on pourra citer le vert d'indocyanine (qui est utilisé en clinique pour l'imagerie) ou d'autres fluorophores tels que la cyanine 5, la cyanine 7 ou le Dil (nom IUPAC : « (2Z)-2-[(E)-3-(3,3-diméthyl-1-octadécylindol-1-ium-2-yl)prop-2-enylidène]-3,3-diméthyl-1-octadécylindole; perchlorate »).

- [0027]** Ainsi selon l'invention, la particule de polymère a/ permet
20 avantageusement la co-encapsulation de nanoparticules d'or b/ fonctionnelles et d'au moins un principe actif.

[0028] Des représentations schématiques de structures particulières de l'invention avec le principe actif sont données aux Figures 3a, 3b et 3c.

- [0029]** Selon l'invention, les chélateurs macrocycliques tels que mentionnés ci-
25 dessus, qui recouvrent les nanoparticules d'or, comportent chacun :

- une fonction d'ancrage qui comprend au moins un atome de soufre permettant d'accrocher le chélateur macrocyclique à la nanoparticule d'or, et qui comprend de préférence deux atomes de soufre formant une liaison disulfure endocyclique,
- 30 - au moins un site de complexation d'ions d'intérêt et/ou de radionucléides pour l'imagerie médicale, ledit site de complexation comprenant au moins une

fonction acide carboxylique et/ou une fonction amine,

un bras espaceur situé entre la fonction d'ancrage et le ou les sites de complexation,

- éventuellement un site de fonctionnalisation permettant le greffage du chélateur avec un agent de ciblage vers des cellules cancéreuses.

[0030] L'accroche entre au moins un atome de soufre de la fonction d'ancrage et la nanoparticule d'or désigne plus particulièrement une liaison iono covalente, qui est une liaison intermédiaire entre une liaison covalente et une liaison ionique.

[0031] Le chélateur macrocyclique recouvrant les particules d'or est plus particulièrement caractérisé en ce que :

- la fonction d'ancrage est un radical choisi dans le groupe comprenant :



, $^*-\text{N}-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{SH})_2$, $^*-\text{C}(=\text{O})-(\text{CH}_2)_n-\text{SH}$ avec n étant un entier allant de 2 à 5 et leurs mélanges ;

- le bras espaceur est un radical choisi dans le groupe comprenant :

$^*-(\text{CH}_2)_2-\text{CO}-\text{NH}-(\text{CH}_2)_2-\text{NH}^*$, $^*-\text{NH}-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})_m-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}^*$ avec m un entier égal à 0, 4 ou 11, et leurs mélanges

- le site de fonctionnalisation, s'il est présent, est un radical, provenant d'un acide aminé, choisi dans le groupe comprenant :

$^*-\text{NH}-\text{CH}((\text{CH}_2)_4-\text{NH}_2)-\text{CO}^*$, $^*-\text{NH}-\text{CH}(\text{CH}_2-\text{OH})-\text{CO}^*$,
 $^*-\text{NH}-\text{CH}(\text{CH}-\text{OH}-\text{CH}_3)-\text{CO}^*$, $^*-\text{NH}-\text{CH}(\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_4-\text{OH})-\text{CO}^*$,
 $^*-\text{NH}-\text{CH}((\text{CH}_2)_n-\text{NH}^*)-\text{CO}^*$ avec n allant de 2 à 5, et leurs mélanges.

A titre d'exemple d'acide aminé duquel provient le site de fonctionnalisation on peut citer la lysine, la sérine, la thréonine, la tyrosine.

[0032] Selon un mode de réalisation de l'invention, le chélateur macrocyclique est choisi dans le groupe comprenant :

TADOTAGA, TANODAGA, TADFO, TA[DOTAGA-lys-NH₂], TA[NODAGA-lys-NH₂], TA[DOTAGA-lys-NODAGA] et leurs mélanges.

Les significations de ces abréviations sont décrites ci-après.

DOTAGA : « 1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1-glutaric acid-4,7,10-triacetic acid ».

NODAGA : « 1,4,7-triazacyclononane-1-glutaric acid-4,7-diacetic acid ».

DFO : « Deferroxamine ».

TADOTAGA désigne le dérivé du DOTAGA avec l'ajout d'une fonction acide thioctique (TA).

TANODAGA désigne le dérivé du NODAGA avec l'ajout d'une fonction acide thioctique (TA).

TADFO désigne le dérivé du DFO avec l'ajout d'une fonction acide thioctique (TA).

TA[DOTAGA-lys-NH₂] désigne le dérivé du TADOTAGA avec l'ajout d'une fonction amine via la lysine.

TA[NODAGA-lys-NH₂] désigne le dérivé du TANODAGA avec l'ajout d'une fonction amine via la lysine.

TA[DOTAGA-lys-NODAGA] désigne un composé comprenant un motif DOTAGA et un motif NODAGA liés entre eux par la lysine avec l'ajout de la fonction acide thioctique (TA).

[0033] La couche organique entourant le cœur d'or, constituée de chélateurs macrocycliques, peut être une couche « mixte » ce qui signifie qu'elle est constituée d'un mélange de chélateurs macrocycliques.

[0034] A titre d'exemples de mélange on pourra citer [(TADOTAGA) (TANODAGA)], qui désigne un mélange de TADOTAGA et de TANODAGA, [(TADOTAGA) (TADFO)], qui désigne un mélange de TADOTAGA et de TADFO.

[0035] Selon un autre mode de réalisation de l'invention :

- l'ion d'intérêt pour l'imagerie médicale, et plus particulièrement pour l'imagerie par résonance magnétique (IRM), est choisi dans le groupe comprenant Gd³⁺, Ho³⁺, Dy³⁺ et leurs mélanges ;

- le radionucléide pour l'imagerie médicale, et plus particulièrement pour l'imagerie nucléaire (TEMP ou TEP), est choisi dans le groupe comprenant ⁶⁴Cu, ⁸⁹Zr, ⁸⁸Ga, ¹¹¹In et leurs mélanges.

L'imagerie par résonance magnétique (IRM) est une technique d'imagerie qui permet une visualisation tridimensionnelle des tissus biologiques en se basant sur le principe de résonance magnétique nucléaire (RMN). L'IRM exploite les propriétés magnétiques des protons de l'eau (constituant majeur des tissus biologiques, environ 80%) qui dépendent de l'environnement et donc du tissu.

Les techniques d'imagerie nucléaire nécessitent l'injection de radionucléides pour

réaliser une imagerie fonctionnelle de l'organisme. Deux techniques peuvent être distinguées : la tomographie par émission monophotonique (TEMP) qui utilise des émetteurs de photons γ et la tomographie par émission de positons (TEP) qui repose sur l'usage d'émetteurs de positons β^+ .

- 5 **[0036]** La TEMP et la TEP présentent l'avantage de posséder une sensibilité très importante et de pouvoir réaliser une imagerie fonctionnelle.

Les nanoparticules d'or b/ fonctionnelles, représentées par Au@L(M), peuvent donc être suivies par IRM (lorsque M est un ion d'intérêt), TEMP ou TEP (lorsque M est un radionucléide) et par imagerie X (grâce à l'or).

- 10 **[0037]** Le symbole @ désigne l'accroche ou encore la liaison iono covalente entre la fonction d'ancrage du chélateur macrocyclique L et la nanoparticule d'or.

- [0038]** La structure particulière de l'invention est encore caractérisée en ce que le polycation est choisi dans le groupe comprenant la polyéthylèneimine (PEI), la polylysine, la polyarginine, la polyamidoamine (PANAM), un poly(β -amino ester),
15 le chitosane et leurs mélanges, et est de préférence la polyéthylèneimine. A titre d'exemple plus particulier on citera la polyéthylèneimine branchée (par opposition à linéaire).

- Le terme polycation est utilisé car chacun des composés ci-dessus décrit comprend des groupements amines pouvant être chargés ou non par protonation
20 selon le pH. Comme déjà indiqué, le polycation utilisé dans le cadre de l'invention présente une charge positive sur une large gamme de pH, à savoir une gamme de pH allant de 5 à 11.

- [0039]** Selon un autre aspect, le polymère biodégradable de la particule est choisi dans le groupe comprenant l'acide poly(lactique-co-glycolique) (PLGA), l'acide
25 poly(lactique) (PLA), l'acide poly(glycolique) (PGA), la polycaprolactone (PCL), un polyanhydride, les copolymères de chacun desdits polymères avec le polyéthylèneglycol (PEG) et leurs mélanges, et est de préférence PLGA ou le copolymère (PLGA-PEG).

- Le PLGA est un hétéro copolymère d'acide lactique et d'acide glycolique obtenu
30 par réaction de copolymérisation. Les monomères sont liés par des liaisons ester et il en résulte un polyester aliphatique linéaire comprenant x unités d'acide lactique et y unités d'acide glycolique. Ainsi, PLGA 75/25 identifie un copolymère

dont la composition est de 75% d'acide lactique et 25% d'acide glycolique avec une masse moléculaire comprise entre 7000 et 17000 g/mole. Le PLGA 50/50 est plus particulièrement préféré.

Le PLGA est utilisé dans la libération de médicaments en raison de son excellente
5 biocompatibilité et biodégradabilité en acide lactique et acide glycolique, qui sont deux monomères naturellement produits par voies métaboliques.

A titre indicatif, lorsque le polymère biodégradable est le copolymère (PLGA-PEG), la structure particulaire de l'invention ne comprend pas de tensioactif.

[0040] A titre indicatif, les formules développées des chélateurs macrocycliques,
10 des polycations et des polymères biodégradables sont données à la Figure 4.

[0041] Selon encore un autre aspect de la structure particulaire de l'invention, le chélateur macrocyclic présent à la surface des nanoparticules d'or est lié à un agent de ciblage actif des intégrines $\alpha_V\beta_{III}$ surexprimées sur les néovaisseaux des tumeurs, ledit agent de ciblage étant de préférence le peptide RGD cyclique.

15 **[0042]** L'ajout d'un agent de ciblage permet de réaliser un ciblage actif, en plus du ciblage passif. L'affinité de la biomolécule avec les récepteurs surexprimés au niveau de la tumeur ou des néovaisseaux de la tumeur (cas du RGD) permettra ainsi une rétention plus longue des nanoparticules d'or dans la zone ciblée.

[0043] La structure particulaire est encore caractérisée en ce que :

- 20 - le diamètre hydrodynamique de la particule de polymère a/ est de 50 à 200 nm, de préférence de 70 à 160 nm ;
- le diamètre hydrodynamique des nanoparticules d'or b/ est de 3 à 15 nm, de préférence de 6 à 10 nm.

[0044] Le diamètre hydrodynamique d'une particule prend en compte le diamètre
25 de la particule et de sa couche dite « d'hydratation ».

[0045] Dans le cas présent, le diamètre hydrodynamique de la particule de polymère a/ est le diamètre de la particule de polymère a/ à la surface de laquelle sont adsorbées les nanoparticules d'or b/ et/ou le tensioactif.

Autrement dit, le diamètre de la particule polymérique a/ avec sa couche formée
30 par les nanoparticules d'or b/ et/ou le tensioactif constitue le diamètre hydrodynamique de la particule polymérique a/.

Le diamètre de la structure particulaire est donc égal au diamètre hydrodynamique de la particule polymérique a/.

Le diamètre hydrodynamique des nanoparticules d'or b/ désigne le diamètre des nanoparticules d'or recouvertes à leur surface des chélateurs macrocycliques
5 complexant au moins un ion d'intérêt et/ou un radionucléide.

[0046] Selon un mode de réalisation de l'invention, la structure particulaire est plus particulièrement caractérisée en ce que les nanoparticules d'or b/ et éventuellement le principe actif sont encapsulés dans la particule de polymère a/, lesdites nanoparticules d'or b/ pouvant en outre être éventuellement adsorbées à
10 la surface de la particule de polymère a/.

[0047] L'invention a encore pour objet un procédé de préparation d'une structure particulaire telle que définie ci-dessus (à savoir dans laquelle les nanoparticules d'or b/ (et éventuellement le principe actif) sont encapsulés dans la particule de polymère a/ et éventuellement adsorbées à la surface de la particule de polymère
15 a/). Ce procédé peut être effectué selon l'une ou l'autre des deux méthodes décrites ci-dessous, et pourra être appelé « procédé d'encapsulation ».

[0048] Méthode 1

Selon un mode de réalisation, le procédé de l'invention est caractérisé en ce qu'il comprend les étapes suivantes :

20 - mise en contact d'une suspension aqueuse de nanoparticules d'or b/, avec une solution aqueuse de polycation, afin d'obtenir un assemblage de nanoparticules d'or b/ et de polycation ;

- mise en contact de l'assemblage de nanoparticules d'or b/ et de polycation tel que défini à l'étape précédente avec un mélange de polymère biodégradable et de
25 solvant organique miscible à l'eau, ledit solvant organique étant éventuellement préalablement mélangé avec au moins un principe actif, afin d'obtenir un mélange de nanoparticules d'or b/, de polycation, de polymère biodégradable et éventuellement de principe actif,

- mise en contact du mélange de nanoparticules d'or b/, de polycation, de
30 polymère et éventuellement de principe actif tel que défini à l'étape précédente, avec de l'eau, éventuellement additionnée d'un tensioactif, afin de faire précipiter sous forme de particules le polymère autour des nanoparticules d'or b/ et

éventuellement du principe actif,

le rendement d'encapsulation des nanoparticules d'or b/ et éventuellement du principe actif, dans les particules de polymère a/ est d'au moins 75%, de préférence d'au moins 90%, et plus préférentiellement encore d'au moins 95%.

5 **[0049]** Méthode 2

Selon un autre mode de réalisation, le procédé de l'invention est caractérisé en ce qu'il comprend les étapes suivantes :

- mise en contact d'une solution aqueuse de polycation avec un mélange de polymère biodégradable et de solvant organique miscible à l'eau, ledit solvant
10 organique étant éventuellement préalablement mélangé avec au moins un principe actif,

- mise en contact de l'assemblage de polycation avec le mélange de polymère biodégradable et de solvant organique tel que défini à l'étape précédente avec la suspension aqueuse de nanoparticules d'or b/ afin d'obtenir un mélange de
15 nanoparticules d'or b/, de polycation, de polymère biodégradable et éventuellement de principe actif,

- mise en contact du mélange de nanoparticules d'or b/, de polycation, de polymère et éventuellement de principe actif tel que défini à l'étape précédente, avec de l'eau, éventuellement additionnée d'un tensioactif, afin de faire précipiter
20 sous forme de particules le polymère biodégradable autour des nanoparticules d'or b/ et éventuellement du principe actif,

le rendement d'encapsulation des nanoparticules d'or b/ et éventuellement du principe actif, dans les particules de polymère a/ est d'au moins 75%, de préférence d'au moins 90%, et plus préférentiellement encore d'au moins 95%.

25 **[0050]** Comme déjà indiqué, le principe actif peut être un fluorophore et/ou un agent chimiothérapeutique.

[0051] Le rendement d'encapsulation des nanoparticules d'or désigne la masse d'or finale (à savoir la masse d'or encapsulée et éventuellement la masse d'or adsorbée) par rapport à la masse d'or utilisée. En effet, lors du procédé
30 d'encapsulation il est possible qu'une partie des nanoparticules d'or ne se retrouve pas dans la particule de polymère biodégradable mais se retrouve adsorbée à la surface de la particule de polymère biodégradable. La masse d'or finale est

identique à la masse d'or utilisée si le rendement d'encapsulation est de 100%. Cela peut signifier néanmoins qu'une partie des nanoparticules d'or se retrouve à la surface de la particule de polymère biodégradable.

5 **[0052]** Le rendement d'encapsulation du principe actif désigne la masse de principe actif encapsulée par rapport à la masse de principe actif utilisée. Le principe actif se retrouve toujours dans la particule de polymère biodégradable et jamais à sa surface.

10 **[0053]** Concernant le polymère biodégradable, la masse de polymère finale est identique à la masse de polymère utilisée si le rendement de fabrication est de 100%.

[0054] Le taux d'encapsulation (encore dénommé taux de charge) des nanoparticules d'or désigne la masse d'or finale (à savoir la masse d'or encapsulée et éventuellement la masse d'or adsorbée) par rapport à la masse de particules de polymère biodégradable formées.

15 Le taux de charge des nanoparticules d'or obtenu avec le procédé d'encapsulation désigne la masse d'or finale (à savoir la masse d'or encapsulée et éventuellement la masse d'or adsorbée) par rapport à la masse de particules de polymère biodégradable formées.

20 **[0055]** Le taux d'encapsulation du principe actif désigne la masse de principe actif finale (à savoir la masse de principe actif encapsulée) par rapport à la masse de particules de polymère biodégradable formées.

[0056] Ce sont des masses effectives que l'on mesure après formulation.

[0057] A titre indicatif, le taux d'encapsulation des nanoparticules d'or est de 1 à 4 %, de préférence de 1 à 3%, et plus préférentiellement encore d'environ 1,4%.

25 **[0058]** Le taux d'encapsulation du principe actif est de 0,5 à 5%, de préférence de 1 à 3%, et plus préférentiellement encore d'environ 2 %.

[0059] Le procédé de préparation de l'invention ci-dessus décrit (procédé d'encapsulation) permet avantageusement un rendement d'encapsulation de plus de 75%, de préférence d'au moins 90%, et plus préférentiellement encore d'au

moins 95%, tandis que sans utilisation du polycation, le rendement d'encapsulation, tout comme le taux d'encapsulation, sont nuls.

[0060] L'utilisation du polycation tel que ci-dessus défini dans le procédé de l'invention permet avantageusement d'obtenir des forts rendements d'encapsulation, à savoir proche de 100%, voire égal à 100%, ce qui présente notamment un fort intérêt en termes de coût et de temps.

[0061] Selon un autre mode de réalisation de l'invention la structure particulière est plus particulièrement caractérisée en ce que les nanoparticules d'or b/ sont adsorbées à la surface de la particule de polymère a/, et le principe actif, s'il est présent, est encapsulé dans la particule de polymère.

[0062] Dans ce cas de figure, la particule de polymère a/ est une particule « remplie » de polymère a/ au sein de laquelle se trouve encore éventuellement un principe actif.

[0063] L'invention a encore pour objet un procédé de préparation d'une structure particulière telle que définie ci-dessus (à savoir dans laquelle les nanoparticules d'or b/ sont adsorbées à la surface de la particule de polymère a/ et le principe actif, s'il est présent, est encapsulé dans la particule de polymère a/). Ce procédé pourra encore être dénommé « procédé d'adsorption », et est caractérisé en ce qu'il comprend les étapes suivantes :

- mise en contact d'un mélange de polymère biodégradable et de solvant organique miscible à l'eau, ledit solvant organique étant éventuellement préalablement mélangé avec au moins un principe actif, avec de l'eau, éventuellement additionnée d'un tensioactif, afin de faire précipiter le polymère biodégradable sous forme de particules à la surface desquelles est adsorbé le tensioactif s'il est présent,

- mise en contact des particules de polymère a/ telles que définies à l'étape précédente avec une solution aqueuse d'un polycation, afin d'obtenir des particules de polymère a/ à la surface desquelles est adsorbé le polycation, lesdites particules de polymère biodégradable encapsulant en outre le principe actif s'il est présent,

- mise en contact des particules de polymère a/ à la surface desquelles est adsorbé le polycation telles que définies à l'étape précédente avec une

suspension aqueuse de nanoparticules d'or b/, afin de conduire à l'adsorption des nanoparticules d'or b/ à la surface des particules de polymère a/,
le rendement d'adsorption des nanoparticules d'or b/ à la surface de la particule de polymère a/ est de 30 à 70 %, de préférence de 40 à 60 %.

5 **[0064]** Le rendement d'adsorption des nanoparticules d'or désigne la masse d'or finale (à savoir la masse d'or adsorbée) par rapport à la masse d'or utilisée.

[0065] Le taux de charge des nanoparticules d'or obtenu avec le procédé d'adsorption désigne la masse d'or finale (à savoir la masse d'or adsorbée) par rapport à la masse de particules de polymère biodégradable formées.

10 **[0066]** Sans l'utilisation de polycation, le rendement d'adsorption serait nul.

[0067] Le procédé de l'invention concerne aussi bien le procédé d'encapsulation selon l'une des deux méthodes ci-dessus décrite que le procédé d'adsorption ci-dessus décrit, la caractéristique commune et originale de ces procédés étant l'utilisation d'un polycation.

15 **[0068]** Le taux de charge obtenu avec le procédé d'encapsulation (à savoir nanoparticules d'or à l'intérieur de la particule de polymère et éventuellement à la surface de la particule de polymère) est comparé au taux de charge obtenu avec le procédé d'adsorption (nanoparticules d'or uniquement à la surface de la particule de polymère), pour montrer qu'il y a bien une encapsulation étant donné
20 le taux de charge différent.

[0069] Des représentations schématiques des procédés de préparation de l'invention sont données à la Figure 5a (procédé d'encapsulation) et la Figure 5b (procédé d'adsorption).

[0070] Selon un mode de réalisation avantageux du procédé de préparation de
25 l'invention :

- la solution aqueuse de nanoparticules d'or b/ est à une concentration de 8 à 12 grammes de nanoparticules d'or par litre d'eau,
- la solution aqueuse de polycation est à une concentration de 30 à 70 grammes de polycation par litre d'eau,

30 - le mélange de polymère biodégradable avec le solvant organique miscible à l'eau, est à une concentration de 10 à 20 grammes de polymère par litre de

solvant, ledit solvant organique est choisi dans le groupe comprenant le diméthylsulfoxyde (DMSO), le diméthylformamide (DMF) et la N-méthylpyrrolidone,

- la quantité de principe actif, s'il est présent, dans le solvant organique est à une concentration de 0,15 à 0,75 grammes de principe actif par litre de solvant,
- la quantité de tensioactif, s'il est présent, dans l'eau est de 5 à 10 grammes de tensioactif par litre d'eau.

[0071] Ces différentes concentrations ou quantités sont valables aussi bien pour le procédé d'encapsulation que d'adsorption.

- 10 **[0072]** Comme déjà indiqué, la présence ou non du tensioactif dépend de la nature du polymère biodégradable utilisé. Ainsi lorsque le polymère biodégradable est du PEG ou un copolymère (PLGA-PEG), il n'est alors pas nécessaire de recourir à un tensioactif. Lorsque le polymère biodégradable est du PLGA, la présence du tensioactif est alors nécessaire. Le tensioactif sera par exemple
- 15 l'alcool polyvinylique (PVA).

[0073] Selon un autre mode de réalisation avantageux du procédé de préparation de l'invention, le ratio polycation/or, à savoir le ratio « solution aqueuse de polycation/suspension aqueuse de nanoparticules d'or b/ » varie de 4 à 8, et est de préférence de 5.

- 20 **[0074]** Selon encore un autre mode de réalisation avantageux du procédé de préparation de l'invention, et plus particulièrement du procédé d'encapsulation, le pH de la solution aqueuse de polycation varie de 9 à 11, et est de préférence de 10,8.

- [0075]** Le pH de la solution de polycation influe sur la taille de la particule de polymère obtenue. Un pH de 10,8 permet d'obtenir des particules de polymère a/ de diamètre hydrodynamique d'environ 150 nm.
- 25

- [0076]** Le procédé de préparation original de l'invention, qui consiste à utiliser un polycation, conduit à l'obtention de structures particulières qui présentent une taille monodisperse et modulable selon le ratio polycation/or et selon le pH de la
- 30 solution aqueuse de polycation.

[0077] A titre indicatif, l'indice de polydispersité des structures particulières doit être inférieur à 0,25. Les structures particulières de l'invention présentent un indice de polydispersité d'environ 0,16.

[0078] L'indice de polydispersité représente la distribution de taille d'une population de particules. Plus l'indice est bas, plus l'échantillon est monodisperse (taille homogène). Les méthodes classiques, qui n'utilisent pas de polycation, mènent à l'obtention de particules polydisperses et/ou généralement de taille importante (de l'ordre du micromètre) et qui comprennent un rendement d'encapsulation faible.

5
10 Outre l'obtention de particules de l'ordre du nanomètre et qui présentent une taille homogène, le procédé de préparation de l'invention est également intéressant en ce qu'il est fortement reproductible, aussi bien pour le taux de charge (taux d'encapsulation) obtenu que la taille des particules obtenues.

Le procédé de l'invention est encore avantageux en ce qu'il permet d'encapsuler
15 des nanoparticules d'or b/, à savoir des nanoparticules d'or déjà fonctionnalisées, qui possèdent notamment les propriétés d'agent de contraste requises pour l'IRM, et éventuellement un principe actif, avec un rendement d'encapsulation proche de 100%, voire de 100%.

[0079] Le principal domaine d'application des structures particulières de l'invention
20 est l'imagerie couplée au traitement de tumeurs par radiothérapie.

Les particules de polymère biodégradable a/, comme par exemple les particules de PLGA, vont jouer le rôle de transporteur, et les nanoparticules d'or b/ encapsulées et/ou adsorbées vont jouer le rôle d'agent de contraste et d'agent radiosensibilisant. L'intérêt premier de l'encapsulation (ou l'adsorption) des
25 nanoparticules d'or b/ dans les (à la surface des) particules polymériques a/ est d'augmenter le temps de demi-vie plasmatique des nanoparticules d'or b/ afin d'améliorer leur accumulation tumorale et de mieux exploiter leur potentiel radiosensibilisant. A titre indicatif, le temps de demi-vie plasmatique des particules de PLGA est de 15 jours. Les nanoparticules d'or b/ ainsi encapsulées et/ou
30 adsorbées circulent plus longtemps dans le sang et ont la possibilité de s'accumuler en plus grande quantité dans la tumeur. L'accumulation tumorale améliorée des nanoparticules d'or permet d'accroître l'effet synergique avec la

radiothérapie. De plus, une fois les particules polymériques dégradées, les nanoparticules d'or fonctionnalisées b/ retournent dans la circulation sanguine et pourront s'éliminer rapidement par voie rénale.

[0080] Par ailleurs le rôle des particules polymériques biorésorbables a/ ne se limite pas au transport des nanoparticules d'or fonctionnalisées b/ radiosensibilisantes. En effet, les particules polymériques a/ permettent, outre l'encapsulation des nanoparticules d'or b/, l'encapsulation d'au moins un principe actif tel qu'un agent chimiothérapeutique et/ou un fluorophore.

[0081] Cette co-encapsulation confère aux structures particulières de l'invention des propriétés thérapeutiques extrêmement intéressantes, puisque les structures particulières de l'invention permettent de combiner radiothérapie guidée par imagerie et chimiothérapie et ainsi améliorer le traitement de tumeurs.

[0082] Les structures particulières de l'invention permettent avantageusement de réaliser de la radiothérapie afin d'améliorer l'effet de la thérapie tout en réduisant les effets secondaires, notamment dans le cas de traitement de tumeurs.

[0083] L'invention a encore pour objet une composition pharmaceutique renfermant une quantité thérapeutiquement efficace d'au moins une structure particulière telle que ci-dessus définie.

La quantité des structures particulières pourra varier selon les applications envisagées, l'âge et le poids du malade.

[0084] Les structures particulières ou la composition pharmaceutique de l'invention pourront se présenter sous une forme appropriée pour une administration par voie intraveineuse. A titre d'exemples on pourra citer les suspensions injectables.

[0085] La présente invention a également pour objet une structure particulière telle que ci-dessus définie, pour une utilisation dans le traitement de tumeurs solides cancéreuses.

[0086] L'invention concerne également une méthode de traitement thérapeutique de tumeurs solides cancéreuses comprenant l'administration chez un sujet d'une quantité thérapeutiquement efficace d'au moins une structure particulière ou d'une composition telle que ci-dessus définie.

[0087] La présente invention a encore pour objet une structure particulière pour une utilisation telle que ci-dessus définie, par radiothérapie ou chimiothérapie, et plus particulièrement par radiothérapie guidée par imagerie.

[0088] L'invention concerne également une méthode de traitement thérapeutique par radiothérapie ou chimiothérapie, et plus particulièrement par radiothérapie guidée par imagerie, comprenant l'administration chez un sujet d'une quantité thérapeutiquement efficace d'au moins une structure particulière ou d'une composition telle que ci-dessus définie.

Brève description des dessins

10 **[0089]** D'autres caractéristiques, détails et avantages apparaîtront à la lecture de la description détaillée ci-après, et à l'analyse des dessins annexés.

Fig. 1a

[0090] [Fig. 1a] est une représentation schématique des nanoparticules d'or fonctionnalisées b/ dans lesquelles les chélateurs macrocycliques sont complexés à des ions d'intérêt.

Fig. 1b

[0091] [Fig. 1b] est une représentation schématique des nanoparticules d'or fonctionnalisées b/ dans lesquelles les chélateurs macrocycliques sont complexés à un radionucléide.

20 **Fig. 1c**

[0092] [Fig. 1c] est une représentation schématique des nanoparticules d'or fonctionnalisées b/ dans lesquelles les chélateurs macrocycliques sont complexés à des ions d'intérêt et un radionucléide.

Fig. 2a

25 [Fig. 2a] est une représentation schématique d'une structure particulière de l'invention comprenant une particule de polymère biodégradable a/ dans laquelle 100% des nanoparticules d'or b/ sont encapsulées. Les nanoparticules d'or forment des interactions électrostatiques avec le polycation.

Fig. 2b

[Fig. 2b] est une représentation schématique d'une structure particulière de l'invention comprenant des nanoparticules d'or b/ encapsulées dans la particule de polymère biodégradable a/ et adsorbées à la surface de la particule de polymère a/.

Fig. 2c

[Fig. 2c] est une représentation schématique d'une structure particulière de l'invention dans laquelle 100% des nanoparticules d'or b/ sont adsorbées à la surface de la particule de polymère a/.

10 Un tensioactif, adsorbé à la surface de la particule de polymère a/, est représenté dans chacune des Figures 2a, 2b et 2c. La présence de ce dernier est cependant optionnelle, et chacune de ces figures pourrait également être représentée sans le tensioactif.

Le polycation n'est pas représenté avec sa charge positive dans chacune des structures particulières de l'invention afin de ne pas encombrer chacune des

15 Figures 2a, 2b et 2c.

Fig. 3a

[0093] [Fig. 3a] est une représentation schématique d'une structure particulière de l'invention correspondant à celle de la Figure 2a mais qui comprend en outre un principe actif encapsulé dans la particule de polymère a/.

Fig. 3b

[0094] [Fig. 3b] est une représentation schématique d'une structure particulière de l'invention correspondant à celle de la Figure 2b mais qui comprend en outre un principe actif encapsulé dans la particule de polymère a/.

Fig. 3c

[0095] [Fig. 3c] est une représentation schématique d'une structure particulière de l'invention correspondant à celle de la Figure 2c mais qui comprend en outre un principe actif encapsulé dans la particule de polymère a/.

[0096] Le principe actif est représenté par une étoile dans chacune des Figures 3a, 3b et 3c.

Fig. 4a

[Fig. 4a] représente les formules développées des chélateurs macrocycliques (L).

5 **Fig. 4b**

[Fig. 4b] représente les formules développées des polycations.

Fig. 4c

[Fig. 4c] représente les formules développées des polymères biodégradables.

Fig. 5a

10 **[0097]** [Fig. 5a] représente le procédé de préparation des structures particulières de l'invention dans lesquelles les nanoparticules d'or b/ sont encapsulés dans la particule de polymère a/, quelques-unes des nanoparticules d'or b/ étant encore adsorbées à la surface de la particule de polymère a/ (procédé d'encapsulation selon la méthode 2).

15 **Fig. 5b**

[Fig. 5b] représente le procédé de préparation des structures particulières de l'invention dans lesquelles les nanoparticules d'or b/ sont adsorbées à la surface de la particule de polymère a/(procédé d'adsorption).

Dans l'éventualité de l'ajout d'un principe actif, ce dernier est mélangé avec le solvant organique et le polymère biodégradable, qu'il s'agisse du procédé d'encapsulation ou du procédé d'adsorption.

Dans ces figures « Np d'or » désigne les nanoparticules d'or.

Fig. 6

25 **[0098]** [Fig. 6] représente un cliché réalisé par microscopie électronique à transmission d'une structure particulière de l'invention dans laquelle on peut distinguer une particule de polymère a/ comprenant plusieurs nanoparticules d'or encapsulées et/ou adsorbées.

Fig. 7

[0099] [Fig. 7] représente un graphique de cinétique sanguine montrant l'évolution de la dose d'or injectée (en pourcentage) par gramme de sang en fonction du temps, pour les nanoparticules d'or seules (désignées par « Np d'or »), les nanoparticules d'or encapsulées dans des particules de PLGA (désignées par « NP3 ») ou dans des particules de PLGA-PEG (désignées par « NP3-PEG »).

[0100] Description des modes de réalisation

[0101] Exemples

[0102] Préparation de structures particulières selon l'invention dans laquelle :

- le polymère biodégradable a/ est l'acide poly(lactique-co-glycolique) (PLGA) ou un conjugué acide poly(lactique-co-glycolique) et polyéthylène glycol (PLGA-PEG),
- le chélateur macrocyclique est TADOTAGA et l'ion d'intérêt est le gadolinium (Gd^{3+}),
- le polycation est la polyéthylèneimine (PEI).

Le tensioactif est l'alcool polyvinylique (PVA) et le solvant organique miscible à l'eau est le diméthylsulfoxyde (DMSO).

Les nanoparticules d'or b/, recouvertes à leur surface du chélateur TADOTAGA complexant l'ion gadolinium, sont représentées dans ce qui suit par :

« Au@TADOTAGA(Gd) ».

[0103] Matériel

[0104] Plus particulièrement, le PLGA 50:50 (PM 7000-17000 Da) (commercialisé sous la dénomination Resomer® RG 502H) provient de chez Evonik Industries (Evonik Röhm GmbH) et le PLGA-PEG 50:50 (PLGA : PM 25000 Da, PEG : PM 5000 Da) provient de chez Sigma Aldrich (St Louis, États-Unis).

L'acide chloraurique ($HAuCl_4 \cdot 3H_2O$), le borohydrure de sodium ($NaBH_4$), le PVA (PM 30000-70000 Da), la polyéthylèneimine ramifiée (PEI) (PM 25000 Da), le chlorure de gadolinium ($GdCl_3 \cdot 6H_2O$) et le diméthylsulfoxyde (DMSO) proviennent de chez Sigma Aldrich (Saint Louis, États-Unis). Le ligand TADOTAGA provient de chez Chematech (Dijon, France).

[0105] Synthèse des nanoparticules Au@TADOTAGA(Gd)

[0106] La synthèse des nanoparticules d'or est adaptée du protocole mono-phase développé par Brust et al (6). Les nanoparticules d'or sont obtenues par réduction

du sel d'or ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) avec NaBH_4 en présence du ligand TADOTAGA. L'adsorption de TADOTAGA sur la surface des nanoparticules d'or permet de contrôler la taille et la stabilité colloïdale et permet l'immobilisation du gadolinium. Plus particulièrement, $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (50 mg, $1,22 \times 10^{-4}$ mol), dissous dans du méthanol (20 mL), est placé dans un ballon à fond rond de 250 mL. Le ligand TADOTAGA (86 mg, $1,22 \times 10^{-4}$ mol) dans de l'eau (10 mL) est ajouté à la solution de sel doré sous agitation. Le mélange passe du jaune à l'orange. Après quelques minutes, du NaBH_4 (48 mg, $12,7 \times 10^{-4}$ mol) dissous dans de l'eau (3 mL) est ajouté au mélange sous agitation vigoureuse à la température ambiante. L'agitation est maintenue pendant 1 h. Ensuite, le mélange est dialysé à l'aide d'une membrane MWCO de 6000-8000 kDa.

[0107] Pour obtenir la suspension finale $\text{Au@TADOTAGA}(\text{Gd})$ ($[\text{Au}] = 51 \text{ mM}$, $[\text{Gd}] = 5 \text{ mM}$) avant le procédé d'encapsulation dans les particules polymériques, la suspension d'or est concentrée et le gadolinium est piégé dans le chélateur TADOTAGA en agitant la suspension durant la nuit avec du $\text{GdCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (370 μL à 135 mM pour une suspension $\text{Au@TADOTAGA}(\text{Gd})$ à 10 mL). La concentration en gadolinium de 5 mM garantit la stabilité de la suspension et un signal IRM optimal.

[0108] Synthèse des particules polymériques PLGA ou PLGA-PEG encapsulant $\text{Au@TADOTAGA}(\text{Gd})$

[0109] Le procédé de préparation des particules polymériques encapsulant les nanoparticules d'or b/ ($\text{Au@TADOTAGA}(\text{Gd})$) est basé sur la méthode de nanopréciipitation par déplacement de solvant (13), avec l'originalité cependant d'utiliser le PEI. Les Inventeurs ont déterminé que la taille des particules polymériques est modulable en fonction du rapport PEI/or et du pH de la solution aqueuse de PEI.

[0110] Les Inventeurs ont notamment pu déterminer au cours de leurs recherches qu'un ratio PEI/or de 5 et qu'un pH d'environ 10,8 était approprié pour obtenir des particules polymériques présentant un diamètre hydrodynamique d'environ 160 nm. En effet, une taille de $160 \text{ nm} \pm 15 \text{ nm}$ est avantageuse en ce qu'elle permet d'encapsuler une quantité satisfaisante de nanoparticules d'or b/ tout en permettant un rendement de fabrication satisfaisant.

[0111] Une solution aqueuse de PEI (25 μ L, 5% p/p) est mélangée avec 1 mL de solution de PLGA ou de solution de PLGA-PEG dans du DMSO à 15mg/mL et 18mg/mL respectivement.

[0112] HCl 1N est préalablement ajouté dans la solution aqueuse de PEI afin
5 d'obtenir un diamètre hydrodynamique des particules PLGA proche de 160 nm \pm 15 nm.

[0113] Afin de moduler le ratio PEI/or pour la préparation de différentes particules, seule la concentration du PEI est ajustée. Le même volume de HCl est ajouté dans la solution que pour la préparation des particules PLGA de diamètre
10 d'environ 160 nm, indépendamment de la concentration de PEI.

[0114] Une suspension d'Au@TADOTAGA(Gd) (25 μ L, 10 mg/mL (soit 51 mM)) est ajoutée à la solution précédente comprenant le PEI et le PLGA.

[0115] Ensuite, 4 mL de PVA dissous dans de l'eau à 0,75 % sont ajoutés graduellement au mélange, préalablement agité en vortex.

15 **[0116]** Pour la préparation des particules de PLGA par adsorption des nanoparticules d'or, les particules de PLGA sont précédemment formées selon le même protocole que les particules de PLGA conventionnelles.

[0117] Ensuite, une solution à 5% de PEI (25 μ L) est transférée dans la suspension de particules PLGA sous agitation. Après 5 minutes d'incubation, une
20 suspension de Au@TADOTAGA(Gd) (25 μ L, 10 mg/mL (soit 51 mM)) est finalement ajoutée aux particules de PLGA enrobées de PEI.

[0118] Les différentes préparations sont lavées trois fois par ultracentrifugation à 30 000 G pendant 1 h, à 4°C pour éliminer les nanoparticules d'or libres. Enfin, les préparations sont lyophilisées en utilisant du saccharose comme cryoprotecteur,
25 sauf dans les lots utilisés pour estimer le rendement de production, le rendement d'encapsulation et le taux d'encapsulation.

[0119] Ces paramètres sont estimés de la façon suivante :

$$\text{Rendement de production (\%)} = \frac{\text{Quantité de particules PLGA formées}}{\text{Quantité de PLGA utilisée}} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{Rendement d'encapsulation (\%)} = \frac{\text{Quantité d'or encapsulée et éventuellement adsorbée}}{\text{Quantité d'or utilisée}} \times 100 \quad (2)$$

$$\text{Taux d'encapsulation (\%)} = \frac{\text{Quantité d'or encapsulée et éventuellement adsorbée}}{\text{Quantité de particules PLGA formées}} \times 100 \quad (3)$$

[0120] Les différentes caractéristiques des particules obtenues d'après ce protocole en faisant varier le ratio PEI/Or sont décrites dans le tableau 1 ci-après :

[0121] [Tableau 1]

Formulation	NP1	NP2	NP3	NP4	NP3 adsorbé	NP3-PEG
Ratio PEI/Or	0	6	5	4	5	5
Diamètre hydrodynamique (nm)	136±4	135±19	159±14	196±11	153±3	198±5
Index de polydispersité	0.05±0.02	0.16±0.03	0.16±0.01	0.017±0.03	0.007±0.01	0.17±0.03
Rendement de production	35±5	54±9	71±7	82±6	64±3	54±5
Rendement d'encapsulation	2±2	102±5	95±8	88±7	52±7	86±6
Taux d'encapsulation	0.0±0.0	1.5±0.1	1.4±0.2	1.3±0.1	0.7±0.1	1.1±0.0

[0122] On obtient ainsi des particules présentant un diamètre hydrodynamique allant de 130 nm à 200 nm (la taille peut encore être diminuée en ajustant le ratio PEI/or) avec un taux d'encapsulation de 1,4 environ. La réduction de la taille entraîne inévitablement une réduction de rendement de production du fait du lavage par centrifugation.

[0123] Les particules NP3 (ratio PEI/or de 5) sont sélectionnées pour les tests *in vivo*. Ces particules représentent un bon compromis entre taille et rendement de production. Le taux d'encapsulation est moitié moins important dans le cas du protocole d'adsorption (NP3 adsorbé) que celui d'encapsulation (NP3) ce qui indique bien l'encapsulation des nanoparticules d'or. La présence d'or est confirmée par imagerie par microscopie électronique à transmission (voir figure 6).

[0124] La thérapie guidée par imagerie

[0125] Les structures particulières de l'invention sont des candidats prometteurs pour la thérapie guidée par imagerie si elles montrent un comportement adapté après injection intraveineuse : accumulation dans la zone à traiter, absence de nanoparticules dans les tissus sains environnants, élimination rénale privilégiée (par rapport à la voie hépatobiliaire) et si le temps de demi-vie plasmatique est
5 augmenté par rapport aux nanoparticules d'or.

[0126] Ainsi, une étude de cinétique sanguine a été effectuée sur des rats en injectant 500 µL de la suspension NP3 (ou NP3-PEG) à 100 mg/mL en PLGA ou une quantité équivalente en or de nanoparticules d'or « seules » (NP d'or) par voie
10 intraveineuse (veine péniennne) après anesthésie à l'isoflurane. Un échantillon de sang a été prélevé au niveau de la queue à différents temps puis la quantité d'or présente dans les échantillons a été mesurée par spectroscopie d'absorption atomique.

[0127] Les résultats obtenus sont représentés à la figure 7.

15 [0128] Conclusion :

[0129] L'encapsulation, qu'elle soit effectuée avec le PLGA ou le PLGA-PEG, augmente le temps de demi-vie plasmatique des nanoparticules d'or.

Le procédé d'encapsulation de l'invention permet avantageusement l'encapsulation de nanoparticules d'or au sein de particules de taille réduite (entre
20 100 et 200 nm) avec un rendement proche de 100% tout en conservant un faible indice de polydispersité. La structure particulière ainsi obtenue permet d'augmenter le temps de demi-vie plasmatique des nanoparticules d'or, et présente donc un potentiel important et prometteur pour améliorer l'effet thérapeutique desdites nanoparticules d'or.

25 [0130] La présente invention ne se limite pas aux exemples décrits ci-avant, seulement à titre d'exemples, mais elle englobe toutes les variantes que pourra envisager l'homme de l'art dans le cadre de la protection recherchée.

Liste des documents cités

Littérature non-brevet

30 À toute fin utile, les éléments non-brevets suivants sont cités :

- (1) J.F. Hainfeld et al., *Phys. Med. Biol.*, 49 (2004) N309–315 ;
- (2) Gautier Laurent et al, *Nanoscale*, 8(2016) 12054-65 ;
- (3) A.M. Gobin et al, *Nano Lett.*, 7 (2007) 1929-1934 ;
- (4) J.F. Hainfeld et al, *Br. J. Radiol.*, 79 (2006) 248-253 ;
- 5 (5) K.T. Butterworth et al, *Nanoscale*, 4 (2012) 4830-4838 ;
- (6) M. Brust et al, *J. Chem. Soc. Chem, Commun.*, (1995) 0, 1655-1656 ;
- (7) P.C.S. John Turkevich, *Discuss Faraday Soc*, 11 (n.d.) 55-75 ;
- (8) Thèse de G. Laurent, Synthèse de nanoparticules multifonctionnelles pour la radiothérapie guidée par imagerie. Chimie organique. Université de Franche-
10 Comté, 2014 ;
- (9) T. Butterworth et al., *Nanoscale*, 2012 ; 4, 4830-4838 ;
- (10) M. Yu et al., *ACS nano*, 2015, 9, 6655-6674 ;
- (11) Wang Y et al., *Biomed Opt Express*, 2016, 7, 4125-4138 ;
- (12) Luque-Michel et al., *Nanoscale*, 2016, 8, 6495-6506 ;
- 15 (13) H. Fessi et al., *International Journal of Pharmaceutics*, 1989, 55, R1-R4.

Revendications

[Revendication 1] Structure particulière caractérisée en ce qu'elle comprend :

- a/ une particule de polymère biodégradable,
 - b/ des nanoparticules d'or recouvertes à leur surface de chélateurs macrocycliques complexant au moins un ion d'intérêt et/ou un radionucléide pour l'imagerie médicale,
 - c/ un polycation présentant une charge positive sur une gamme de pH allant de 5 à 11,
- les nanoparticules d'or b/ étant encapsulées dans la particule de polymère a/ et/ou adsorbées à la surface de la particule de polymère a/.

[Revendication 2] Structure particulière selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'elle comprend un tensioactif adsorbé à la surface de la particule de polymère a/, ledit tensioactif étant de préférence l'alcool polyvinylique (PVA) et/ou un poloxamère.

- 15 **[Revendication 3]** Structure particulière selon la revendication 1 ou 2, caractérisée en ce qu'elle comprend au moins un principe actif encapsulé dans la particule de polymère a/, ledit principe actif étant de préférence un agent chimiothérapeutique et/ou un fluorophore.

20 **[Revendication 4]** Structure particulière selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisée en ce que les chélateurs macrocycliques qui recouvrent les nanoparticules d'or comportent chacun :

- une fonction d'ancrage qui comprend au moins un atome de soufre permettant d'accrocher le chélateur macrocyclique à la nanoparticule d'or, et qui comprend de préférence deux atomes de soufre formant une liaison disulfure endocyclique,
- au moins un site de complexation d'ions d'intérêt et/ou de radionucléides pour l'imagerie médicale, ledit site de complexation comprenant au moins une fonction acide carboxylique et/ou une fonction amine,
- un bras espaceur situé entre la fonction d'ancrage et le ou les sites de complexation,

- éventuellement un site de fonctionnalisation permettant le greffage du chélateur avec un agent de ciblage vers des cellules cancéreuses.

[Revendication 5] Structure particulière selon la revendication 4, caractérisée en ce que :

- 5 - la fonction d'ancrage du chélateur macrocyclique est un radical choisi dans le groupe comprenant :



, $^*-\text{N}-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{SH})_2$, $^*-\text{C}(=\text{O})-(\text{CH}_2)_n-\text{SH}$ avec n étant un entier allant de 2 à 5 et leurs mélanges ;

- le bras espaceur du chélateur macrocyclique est un radical choisi dans le
- 10 groupe comprenant :

$^*-(\text{CH}_2)_2-\text{CO}-\text{NH}-(\text{CH}_2)_2-\text{NH}-^*$, $^*-\text{NH}-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})_m-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-^*$ avec m un entier égal à 0, 4 ou 11, et leurs mélanges ;

- le site de fonctionnalisation du chélateur macrocyclique, s'il est présent, est un radical, provenant d'un acide aminé, choisi dans le groupe comprenant :

- 15 $^*-\text{NH}-\text{CH}((\text{CH}_2)_4-\text{NH}_2)-\text{CO}-^*$, $^*-\text{NH}-\text{CH}(\text{CH}_2-\text{OH})-\text{CO}-^*$,
 $^*-\text{NH}-\text{CH}(\text{CH}-\text{OH}-\text{CH}_3)-\text{CO}-^*$, $^*-\text{NH}-\text{CH}(\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_4-\text{OH})-\text{CO}-^*$,
 $^*-\text{NH}-\text{CH}((\text{CH}_2)_n-\text{NH}-^*)-\text{CO}-^*$ avec n allant de 2 à 5, et leurs mélanges.

[Revendication 6] Structure particulière selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisée en ce que le chélateur macrocyclique est choisi

20 dans le groupe comprenant :

TADOTAGA, TANODAGA, TADFO, TA[DOTAGA-lys-NH₂], TA[NODAGA-lys-NH₂], TA[DOTAGA-lys-NODAGA] et leurs mélanges.

[Revendication 7] Structure particulière selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisée en ce que :

- 25 - l'ion d'intérêt pour l'imagerie médicale, et plus particulièrement l'imagerie à résonance magnétique (IRM), est choisi dans le groupe comprenant Gd³⁺, Ho³⁺, Dy³⁺ et leurs mélanges ;

- le radionucléide pour l'imagerie médicale, et plus particulièrement l'imagerie nucléaire (TEMP ou TEP), est choisi dans le groupe comprenant ⁶⁴Cu,

30 ⁸⁹Zr, ⁸⁸Ga, ¹¹¹In et leurs mélanges.

[Revendication 8] Structure particulière selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, caractérisée en ce que le polycation est choisi dans le groupe comprenant la polyéthylèneimine (PEI), la polylysine, la polyarginine, la polyamidoamine (PANAM), un poly(β -amino ester), le chitosane et leurs mélanges, et est de préférence la polyéthylèneimine.

[Revendication 9] Structure particulière selon l'une quelconque des revendications 1 à 8, caractérisée en ce que le polymère biodégradable est choisi dans le groupe comprenant l'acide poly(lactique-co-glycolique) (PLGA), l'acide poly(lactique) (PLA), l'acide poly(glycolique) (PGA), la polycaprolactone (PCL), un polyanhydride, les copolymères de chacun desdits polymères avec le polyéthylèneglycol (PEG) et leurs mélanges, et est de préférence l'acide poly(lactique-co-glycolique) ou le copolymère [Acide poly(lactique-co-glycolique) – Polyéthylèneglycol].

[Revendication 10] Structure particulière selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, caractérisée en ce que les nanoparticules d'or b/ sont recouvertes à leur surface d'un chélateur macrocyclique lié à un agent de ciblage actif des intégrines $\alpha_v\beta_{III}$ surexprimées sur les néovaisseaux des tumeurs, ledit agent de ciblage étant de préférence le peptide RGD cyclique.

[Revendication 11] Structure particulière selon l'une quelconque des revendications 1 à 10, caractérisée en ce que :

- le diamètre hydrodynamique de la particule de polymère a/ est de 50 à 200 nm, de préférence de 70 à 160 nm,
- le diamètre hydrodynamique des nanoparticules d'or b/ est de 3 à 15 nm, de préférence de 6 à 10 nm.

[Revendication 12] Structure particulière selon l'une quelconque des revendications 1 à 11, caractérisée en ce que les nanoparticules d'or b/ et éventuellement le principe actif sont encapsulés dans la particule de polymère a/, lesdites nanoparticules d'or b/ pouvant en outre être éventuellement adsorbées à la surface de la particule de polymère a/.

[Revendication 13] Structure particulière selon l'une quelconque des revendications 1 à 11, caractérisée en ce que les nanoparticules d'or b/ sont

adsorbées à la surface de la particule de polymère a/, et le principe actif, s'il est présent, est encapsulé dans la particule de polymère a/.

[Revendication 14] Procédé de préparation d'une structure particulière selon l'une quelconque des revendications 1 à 12, caractérisé en ce qu'il comprend les 5 étapes suivantes :

- mise en contact d'une suspension aqueuse de nanoparticules d'or b/, avec une solution aqueuse de polycation, afin d'obtenir un assemblage de nanoparticules d'or b/ et de polycation ;
- mise en contact de l'assemblage de nanoparticules d'or b/ et de polycation tel 10 que défini à l'étape précédente avec un mélange de polymère biodégradable et de solvant organique miscible à l'eau, ledit solvant organique étant éventuellement préalablement mélangé avec un moins un principe actif, afin d'obtenir un mélange de nanoparticules d'or b/, de polycation, de polymère biodégradable et éventuellement de principe actif,
- 15 - mise en contact du mélange de nanoparticules d'or b/, de polycation, de polymère et éventuellement de principe actif tel que défini à l'étape précédente, avec de l'eau, éventuellement additionnée d'un tensioactif, afin de faire précipiter sous forme de particules le polymère a/ autour des nanoparticules d'or b/ et éventuellement du principe actif,
- 20 le rendement d'encapsulation des nanoparticules d'or b/ et éventuellement du principe actif dans les particules de polymère a/ est d'au moins 75%, de préférence d'au moins 90%, et plus préférentiellement encore d'au moins 95%.

[Revendication 15] Procédé de préparation d'une structure particulière selon l'une quelconque des revendications 1 à 12, caractérisé en ce qu'il comprend les 25 étapes suivantes :

- mise en contact d'une solution aqueuse de polycation avec un mélange de polymère biodégradable et de solvant organique miscible à l'eau, ledit solvant organique étant éventuellement préalablement mélangé avec au moins un principe actif,
- 30 - mise en contact de l'assemblage de polycation avec le mélange de polymère biodégradable et de solvant organique tel que défini à l'étape précédente avec la suspension aqueuse de nanoparticules d'or b/ afin d'obtenir un mélange de

nanoparticules d'or b/, de polycation, de polymère biodégradable et éventuellement de principe actif,

- mise en contact du mélange de nanoparticules d'or b/, de polycation, de polymère et éventuellement de principe actif tel que défini à l'étape précédente, avec de l'eau, éventuellement additionnée d'un tensioactif, afin de faire précipiter sous forme de particules le polymère biodégradable autour des nanoparticules d'or b/ et éventuellement du principe actif,

le rendement d'encapsulation des nanoparticules d'or b/ et éventuellement du principe actif, dans les particules de polymère a/ est d'au moins 75%, de préférence d'au moins 90%, et plus préférentiellement encore d'au moins 95%.

[Revendication 16] Procédé de préparation d'une structure particulière selon l'une quelconque des revendications 1 à 11 ou 13, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes suivantes :

- mise en contact d'un mélange de polymère biodégradable et de solvant organique miscible à l'eau, ledit solvant organique étant éventuellement préalablement mélangé avec au moins un principe actif, avec de l'eau, éventuellement additionnée d'un tensioactif, afin de faire précipiter le polymère biodégradable sous forme de particules à la surface desquelles est adsorbé le tensioactif s'il est présent,
- mise en contact des particules de polymère a/ telles que définies à l'étape précédente avec une solution aqueuse d'un polycation, afin d'obtenir des particules de polymère a/ à la surface desquelles est adsorbé le polycation, lesdites particules de polymère biodégradable encapsulant en outre le principe actif s'il est présent,
- mise en contact des particules de polymère a/ à la surface desquelles est adsorbé le polycation telles que définies à l'étape précédente avec une suspension aqueuse de nanoparticules d'or b/, afin de conduire à l'adsorption des nanoparticules d'or b/ à la surface des particules de polymère a/, le rendement d'adsorption des nanoparticules d'or b/ à la surface de la particule de polymère a/ est de 30 à 70 %, de préférence de 40 à 60 %.

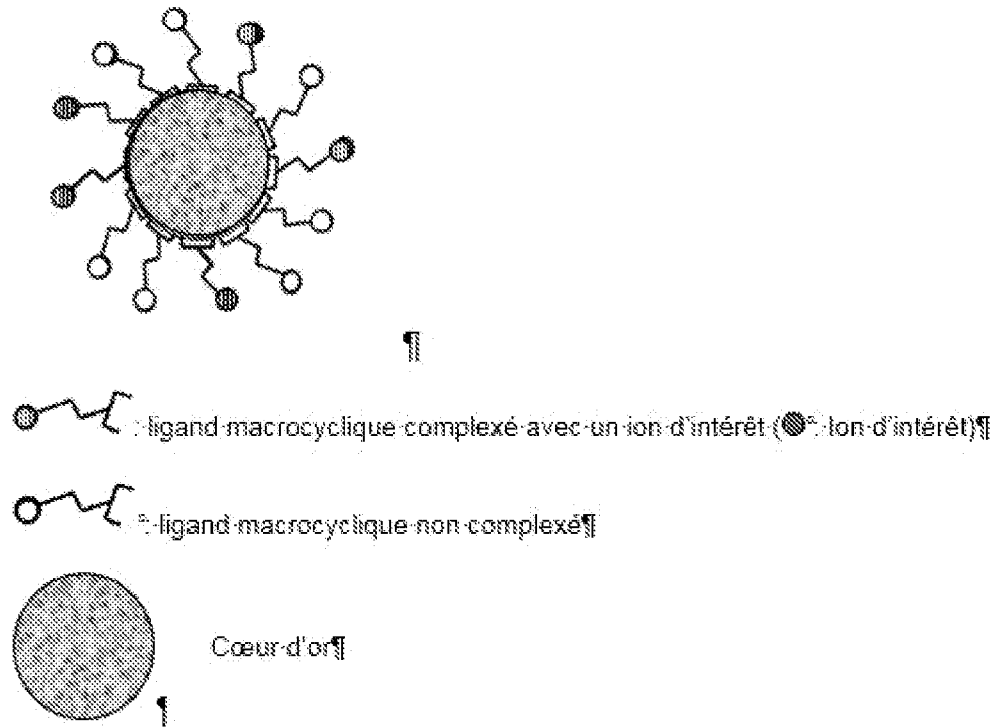
[Revendication 17] Procédé de préparation selon l'une quelconque des revendications 14, 15 ou 16, caractérisé en ce que :

- la solution aqueuse de nanoparticules d'or b/ est à une concentration de 8 à 12 grammes de nanoparticules d'or par litre d'eau,
- la solution aqueuse de polycation est à une concentration de 30 à 70 grammes de polycation par litre d'eau,
- 5 - le mélange de polymère biodégradable avec le solvant organique miscible à l'eau, est à une concentration de 10 à 20 grammes de polymère par litre de solvant, ledit solvant organique est choisi dans le groupe comprenant le diméthylsulfoxyde (DMSO), le diméthylformamide (DMF) et la N-méthyl-pyrrolidone,
- 10 - la quantité de principe actif, s'il est présent, dans le solvant organique est à une concentration de 0,1 à 0,75 grammes de principe actif par litre de solvant,
- la quantité de tensioactif, s'il est présent, dans l'eau est de 5 à 10 grammes de tensioactif par litre d'eau.

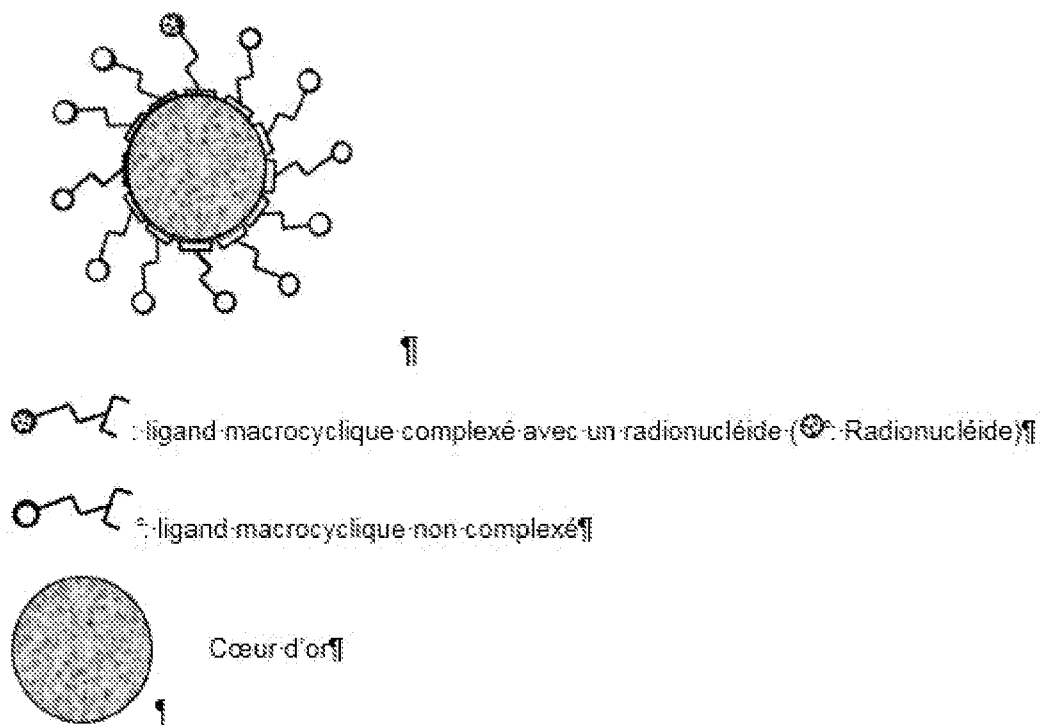
[Revendication 18] Structure particulière selon l'une quelconque des
15 revendications 1 à 13, pour une utilisation dans le traitement de tumeurs solides cancéreuses.

1/13

[Fig. 1a]

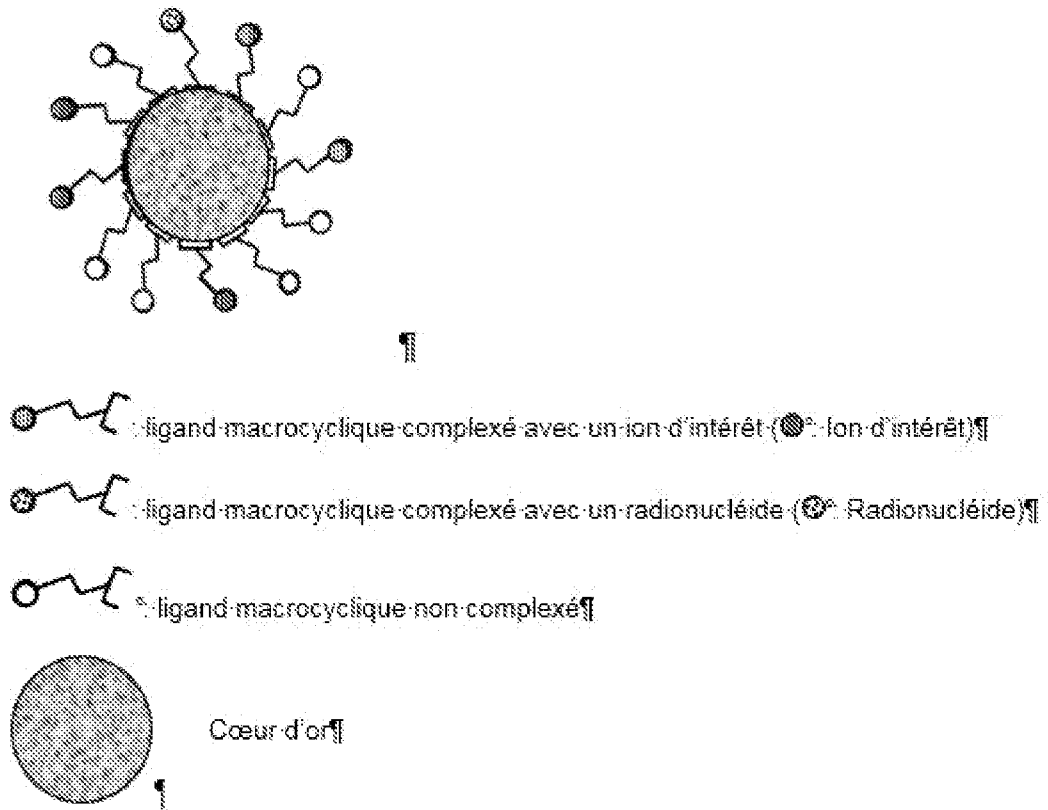


[Fig.1b]



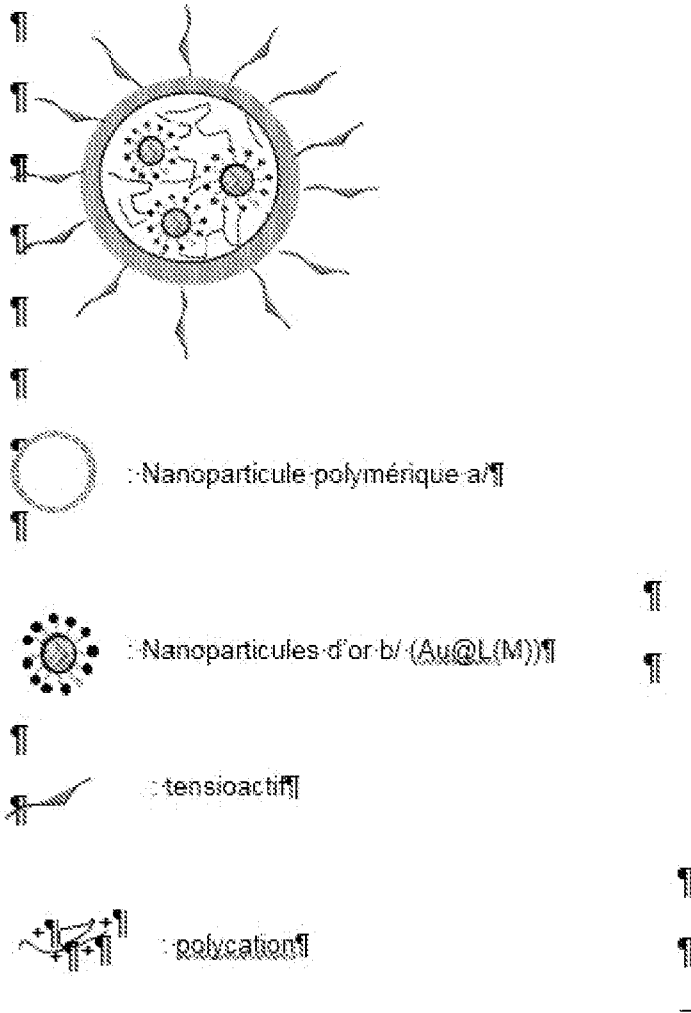
[Fig.1c]

2/13



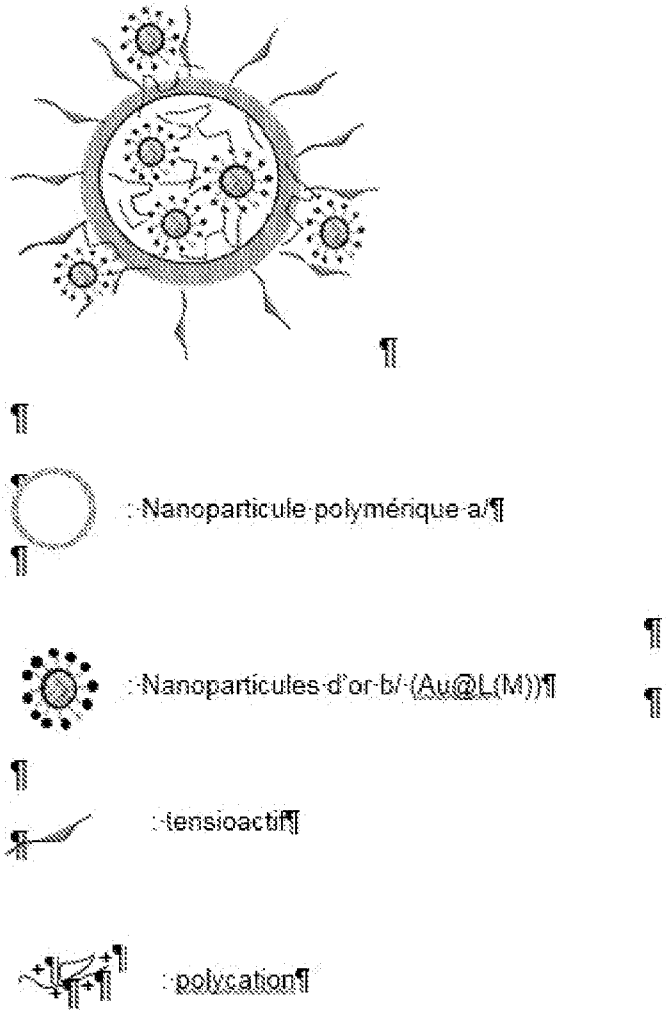
[Fig.2a]

3/13



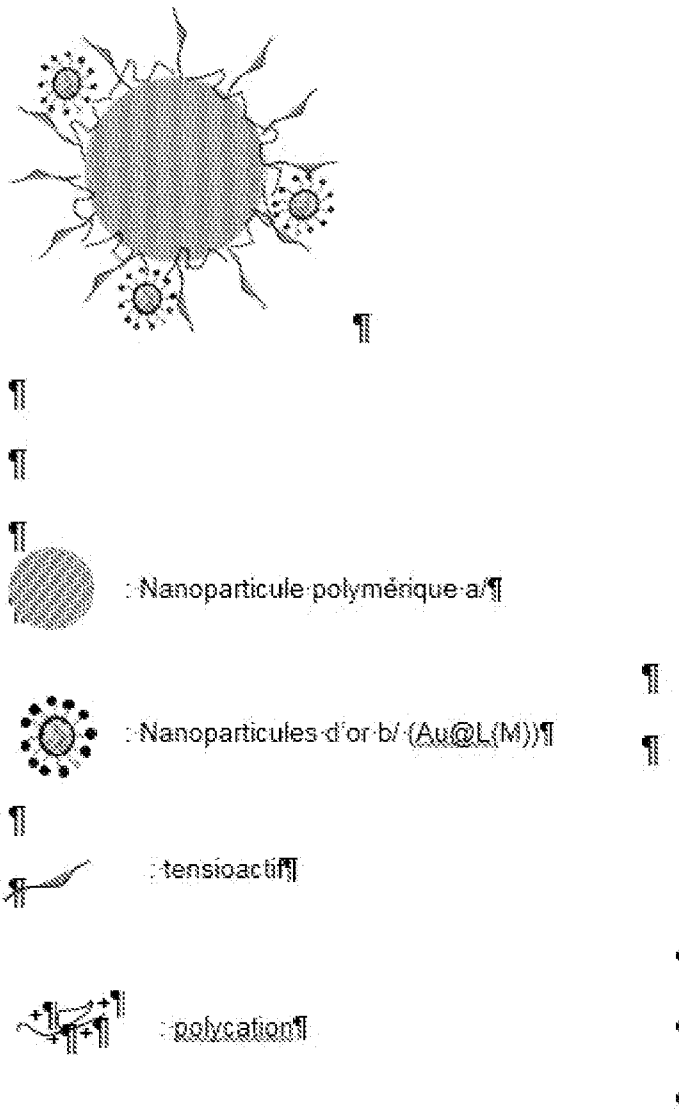
[Fig.2b]

4/13



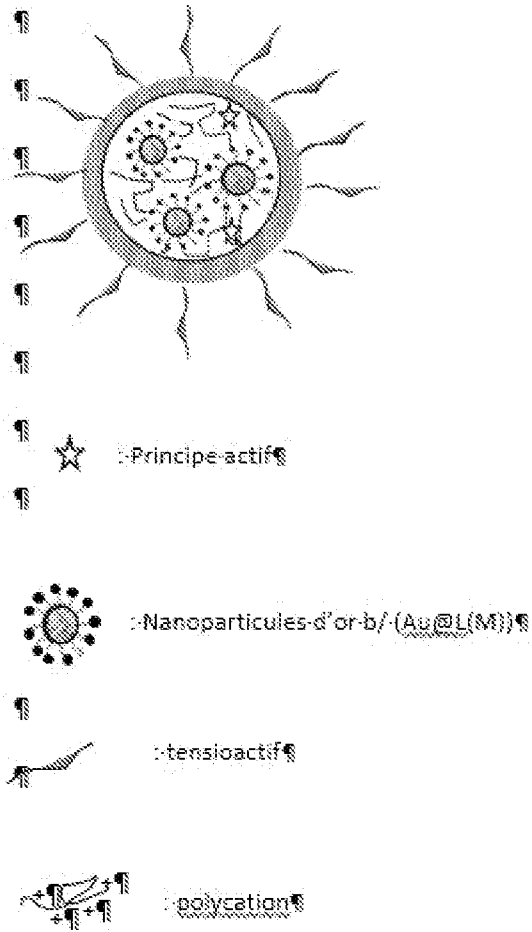
[Fig.2c]

5/13



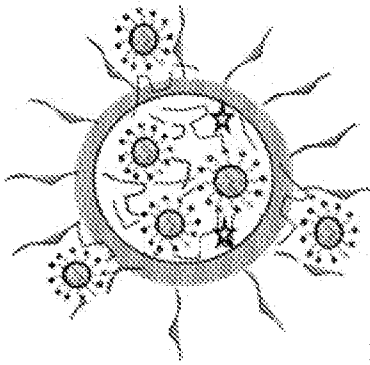
[Fig.3a]

6/13



[Fig.3b]

7/13



☆ : Principe actif



: Nanoparticules a' or b/ (Au@L(M))



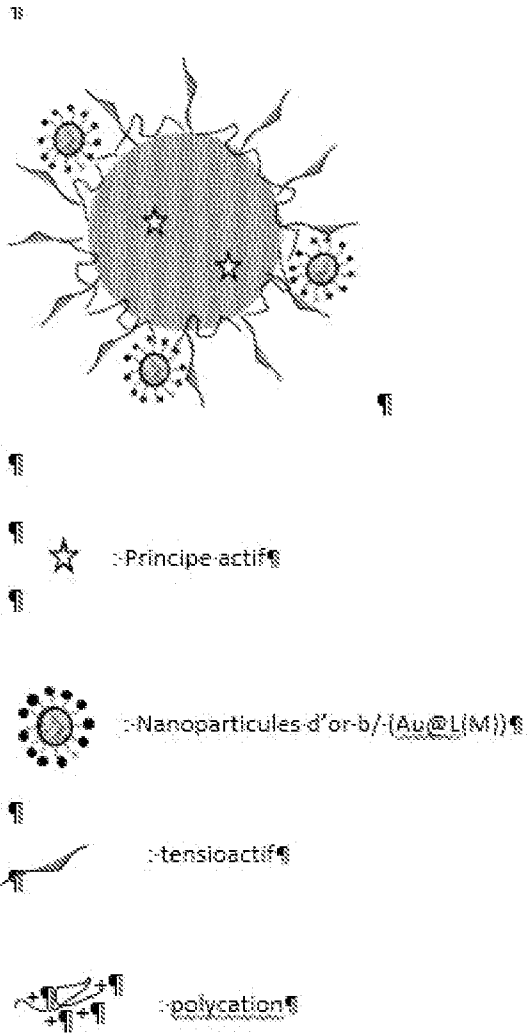
: tensioactif



: polycation

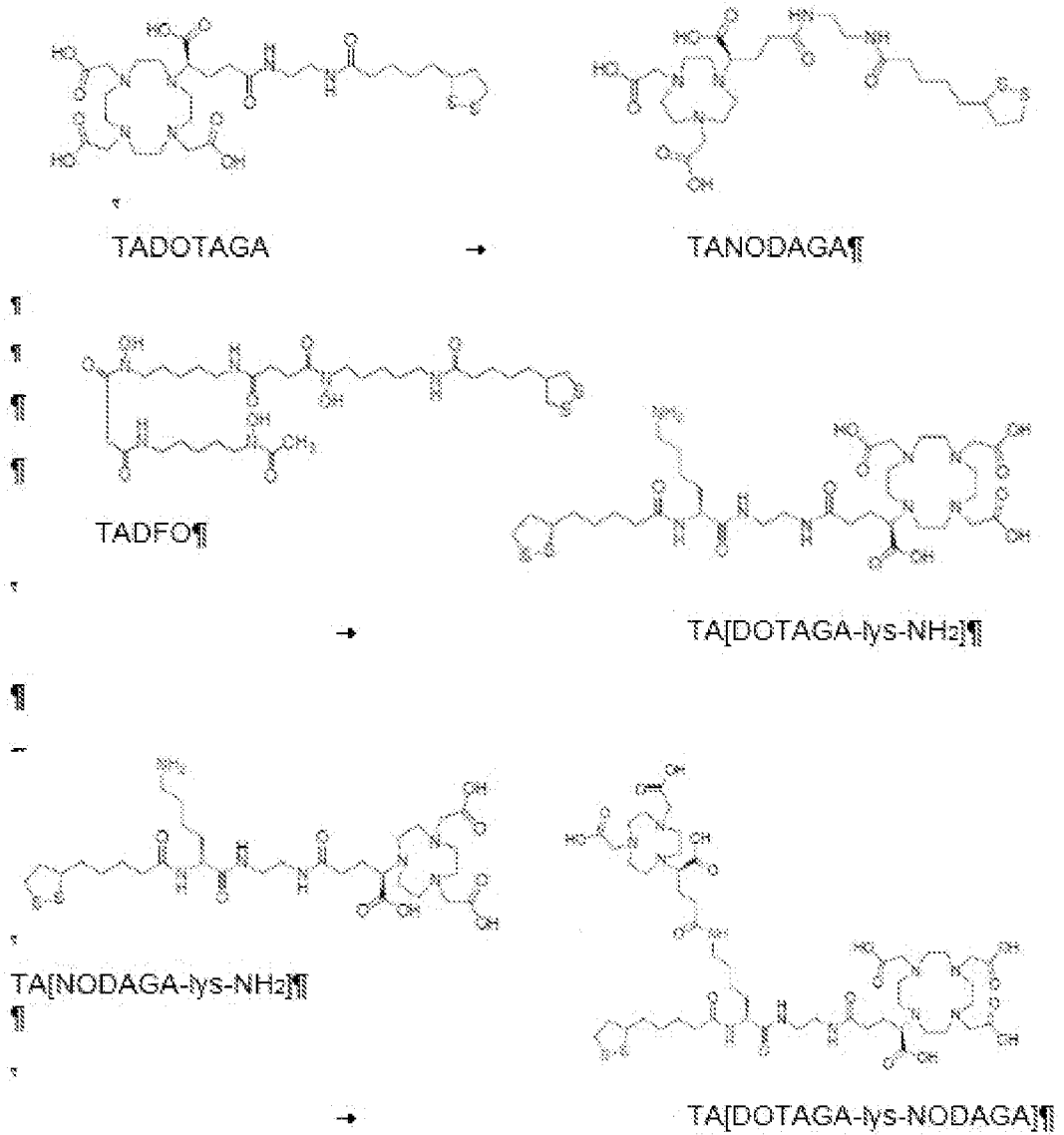
[Fig.3c]

8/13



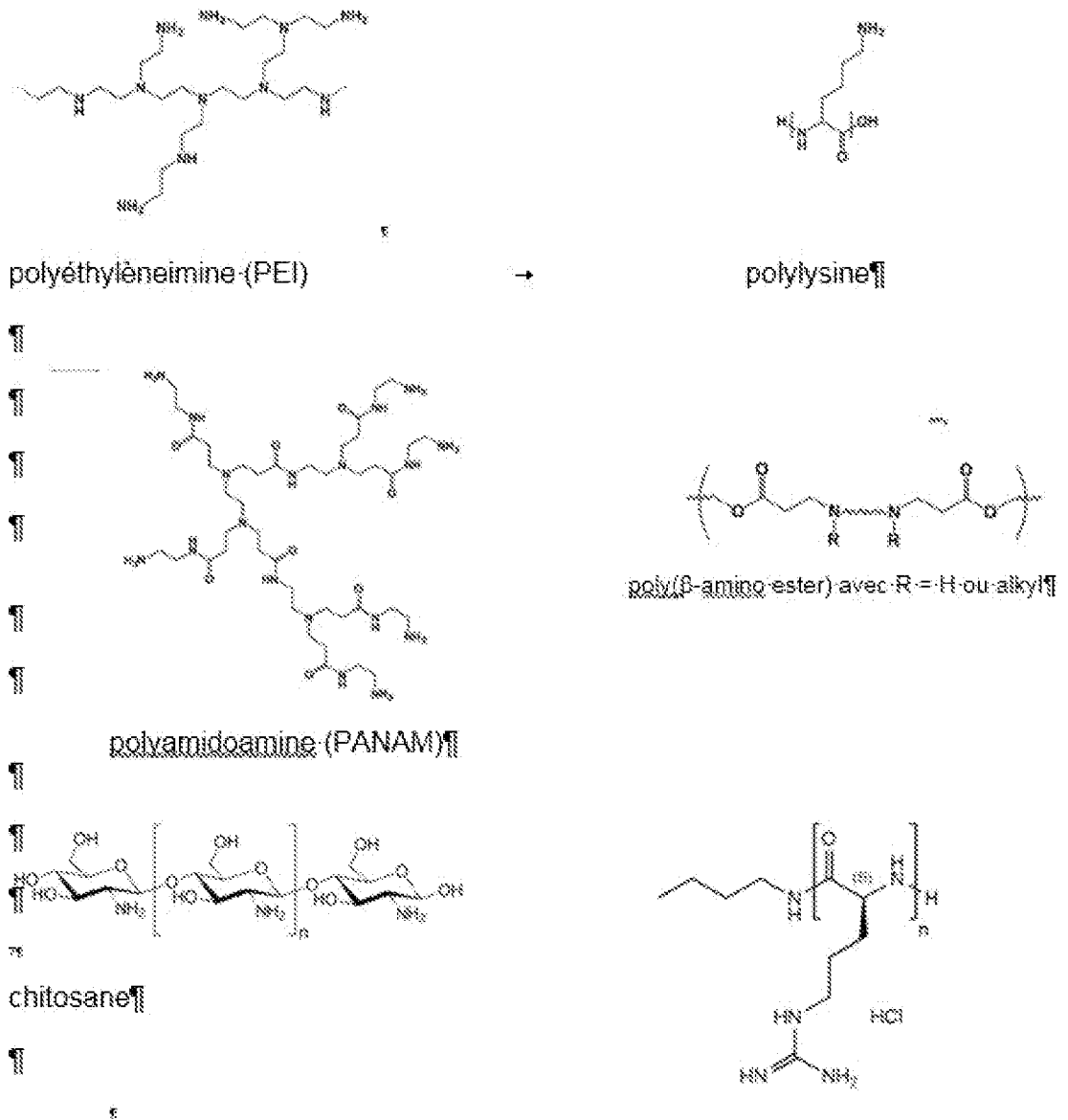
[Fig.4a]

9/13



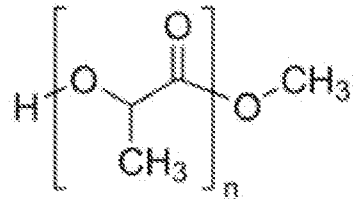
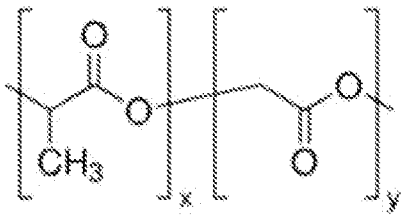
[Fig.4b]

10/13

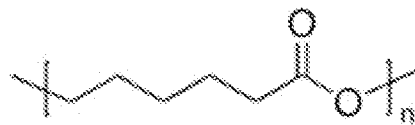
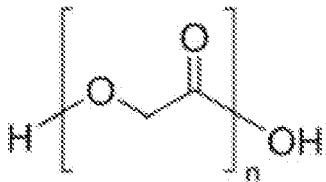


[Fig.4c]

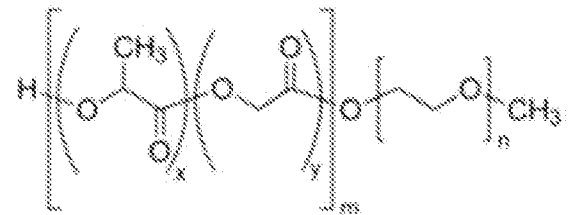
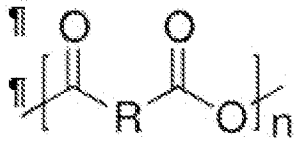
11/13



||
 acide poly(lactique-co-glycolique) (PLGA), → acide poly(lactique) (PLA), ||
 ||
 ||



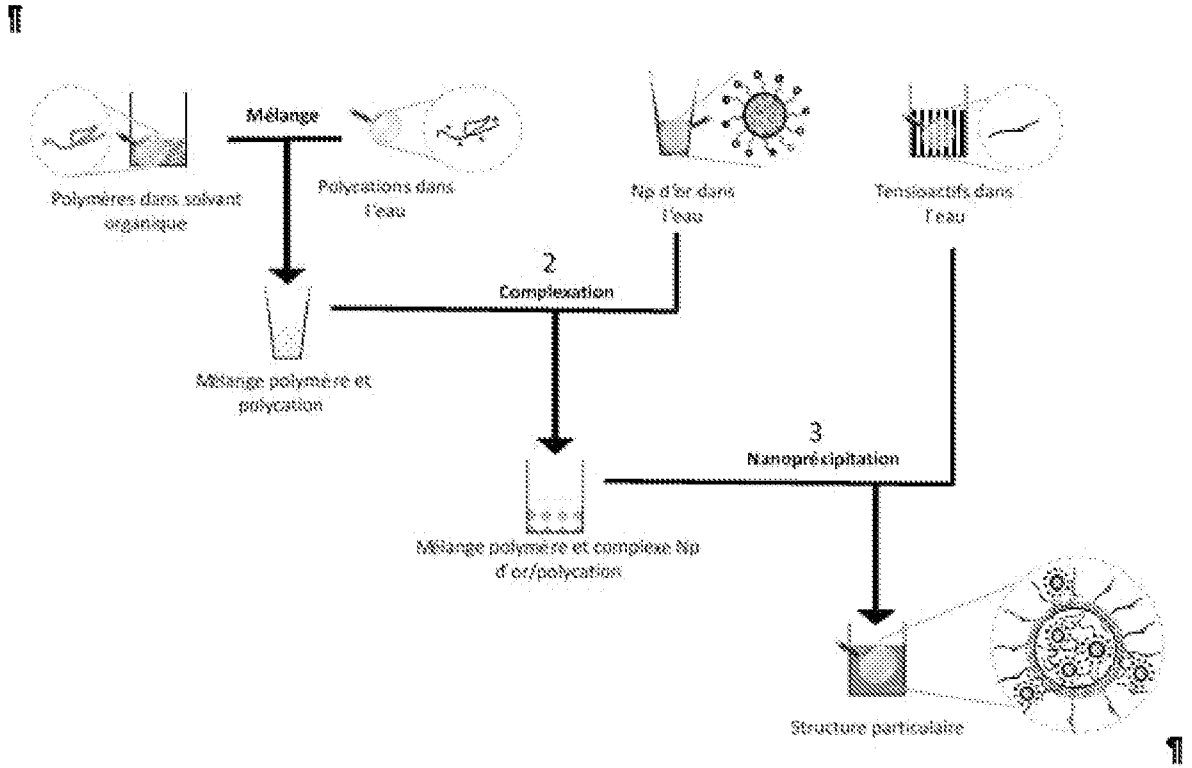
acide poly(glycolique) (PGA) → polycaprolactone (PCL) ||
 ||
 ||



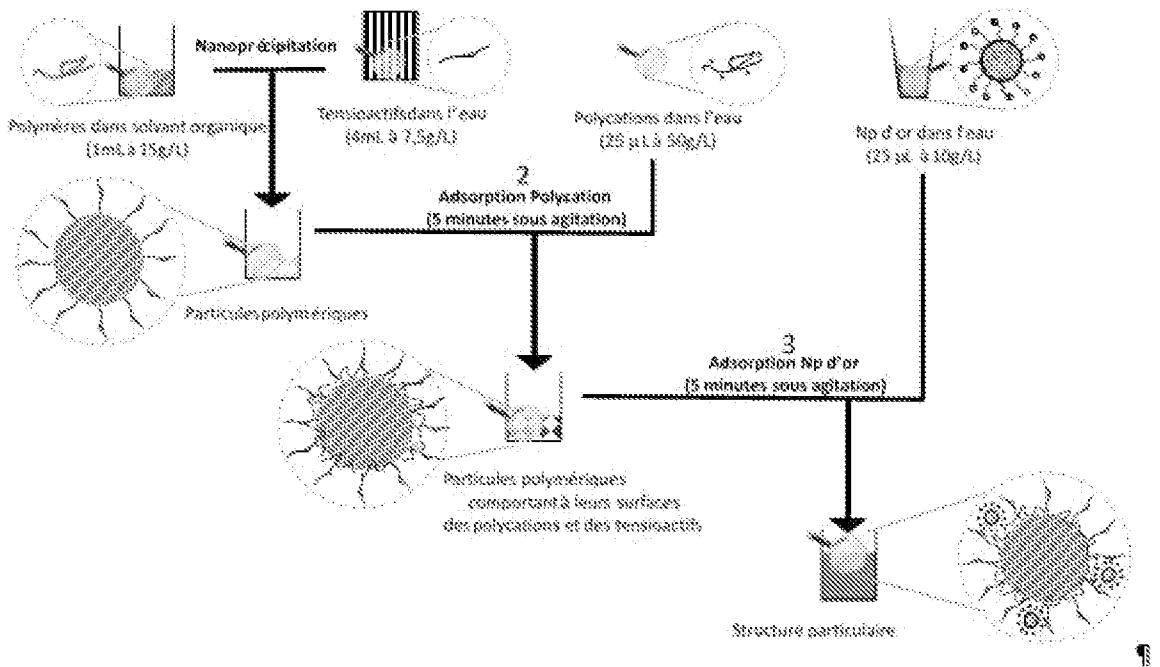
polyanhydride avec R = H ou alkyl → copolymère (PLGA-PEG) ||
 ||

[Fig.5a]

12/13

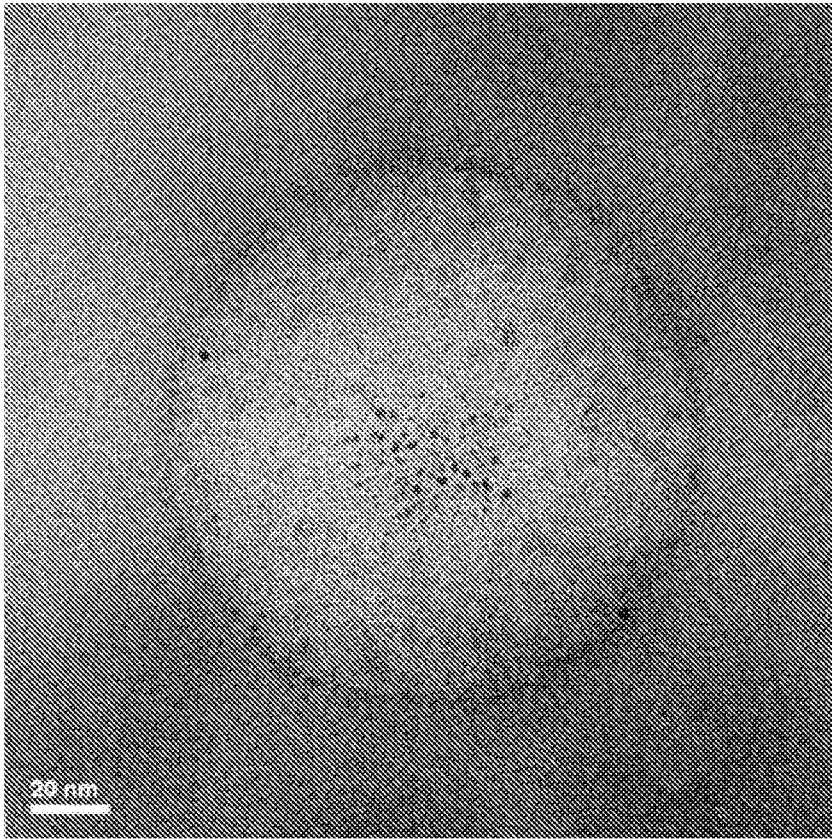


[Fig.5b]

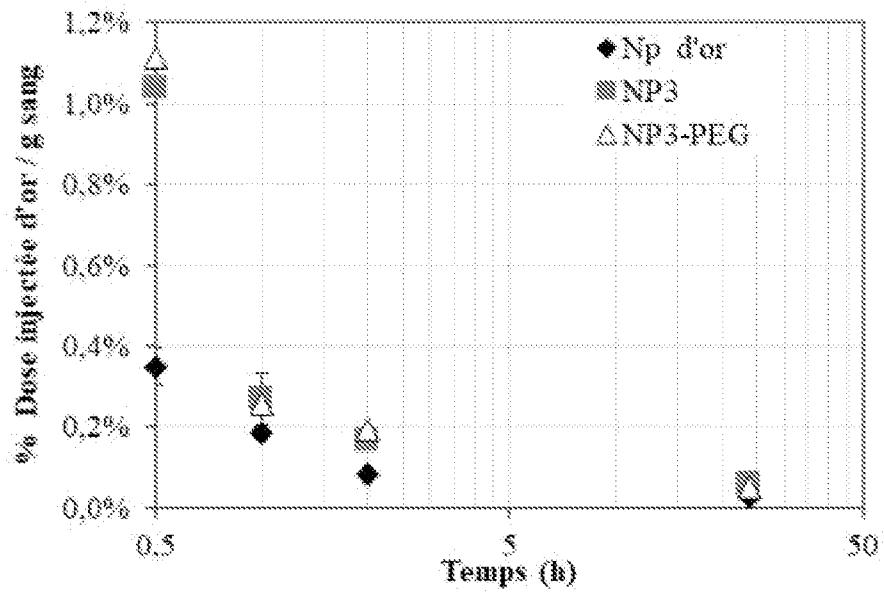


[Fig.6]

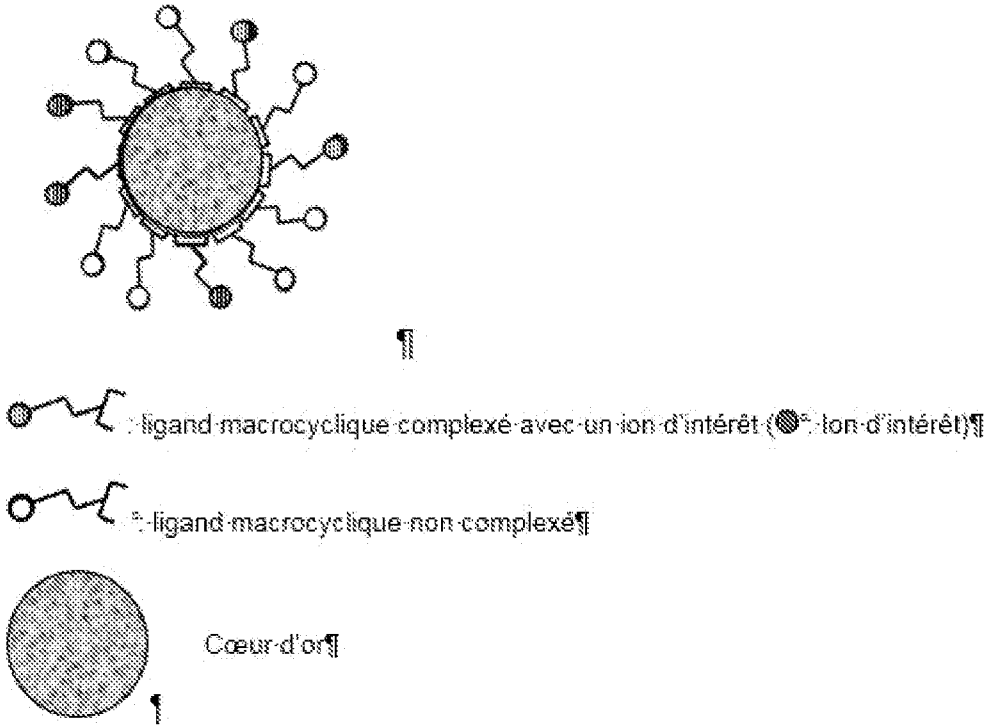
13/13



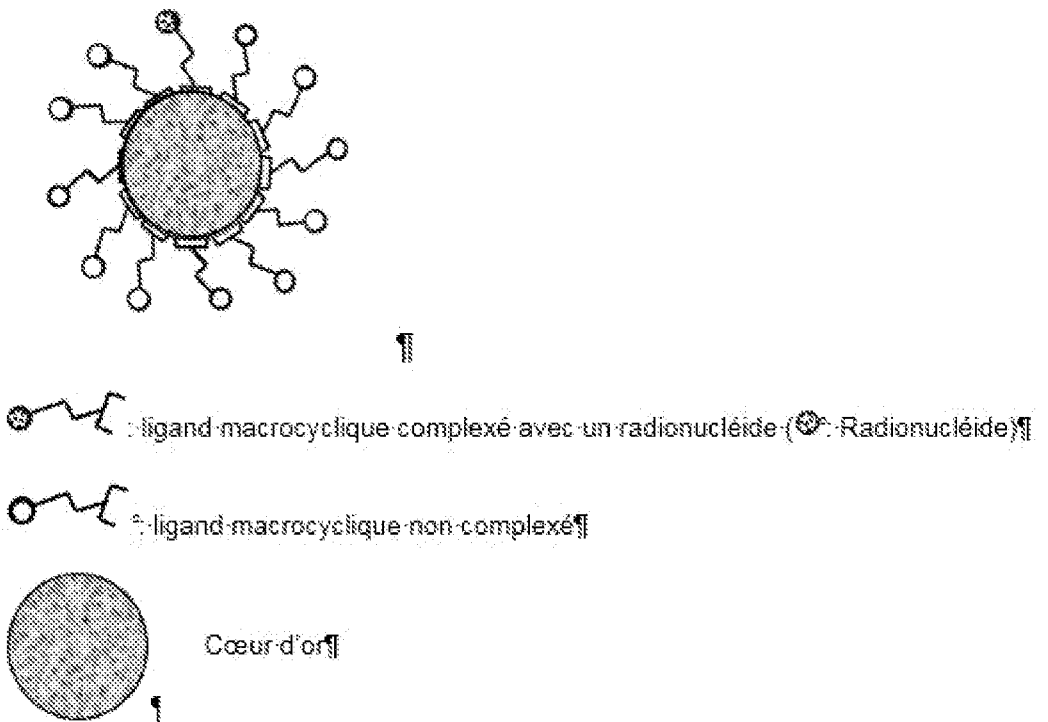
[Fig.7]



[Fig. 1a]



[Fig.1b]



[Fig.1c]