

POLYTECHNIQUE MONTRÉAL

affiliée à l'Université de Montréal

**Conception et caractérisation de nanosphères de poly(ester) amide urée
chargées d'ibuprofène pour l'administration topique chez les patients atteints
d'arthrite**

SIMON DE GRANDPRÉ

Institut de génie biomédical

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de *Maîtrise ès sciences appliquées*

Génie biomédical

Octobre 2023

POLYTECHNIQUE MONTRÉAL

affiliée à l'Université de Montréal

Ce mémoire intitulé :

Conception et caractérisation de nanosphères de poly(ester) amide urée chargées d'ibuprofène pour l'administration topique chez les patients atteints d'arthrite

présenté par **Simon DE GRANDPRÉ**

en vue de l'obtention du diplôme de *Maîtrise ès sciences appliquées*

a été dûment accepté par le jury d'examen constitué de :

Marc LAVERTU, président

LHocine YAHIA, membre et directeur de recherche

Nancy TAWIL, membre et codirectrice de recherche

Géraldine MERLE, membre

REMERCIEMENTS

Je voudrais remercier ma codirectrice, Dr Nancy Tawil, de m'avoir donné la chance de participer à un tel projet et de travailler chez Phagelux Canada Inc. Je voudrais exprimer ma gratitude à mon directeur de recherche, Professeur LHocine Yahia. Lors de la rédaction, il a apporté plusieurs éléments importants, et son expertise m'a été précieuse tout au long du processus. Je voudrais aussi remercier professeur Marc Lavertu et professeur Géraldine Merle d'être président et membre, respectivement, de mon jury. Je voudrais également remercier mes anciens collègues de laboratoire, Tristan Lépine et Ève Lefebvre, pour leurs idées et leurs encouragements. Un grand merci à Karine Gilbert de la plateforme de spectrométrie de masse de l'UdeM, qui me donnait toujours des résultats dans un court laps de temps, et ce, même quand j'avais des demandes de dernière minute. Finalement, je voudrais mentionner ma famille, mes amis ainsi que ma conjointe pour leur support moral constant et leur confiance en moi.

RÉSUMÉ

L'arthrite et les conditions qui lui sont associées sont une réalité du monde occidental actuel affectant de plus en plus de personnes chaque année. Au Canada, l'estimation par l'Unité Communautaire de l'Évaluation et de la Recherche sur l'arthrite (ACREU) est que d'ici 2040, le nombre d'individus affectés, présentement à 6 millions, s'élèvera à 9 millions. La première ligne de traitement pharmaceutique de l'arthrite, et la plus utilisée, fait appel aux drogues anti-inflammatoires non stéroïdiennes (NSAIDs). Ces médicaments, souvent prescrits à des doses plus élevées que les doses habituelles en vente libre, sont généralement pris par voie orale. Cela entraîne une forte exposition systémique au médicament. Comme la plupart des affections liées à l'arthrite sont chroniques et nécessitent plusieurs années de traitement, l'incidence des effets secondaires liés aux médicaments, notamment au niveau de l'intestin et des reins, augmente. L'ibuprofène, une NSAID, présente un profil connu de toxicité moindre, ce qui le rend particulièrement indiqué pour un produit à usage répété, contrairement au diclofénac, plus efficace, mais présentant aussi un profil plus risqué.

Ces dernières années, les nanosystèmes ont suscité l'intérêt des scientifiques et des sociétés pharmaceutiques en raison de leur potentiel en matière d'administration de médicaments, qui permet de protéger l'ingrédient actif, de réduire la dose et la toxicité, de prolonger la persistance dans l'organisme et d'améliorer le ciblage. Parmi ces nanosystèmes, on compte les nanoparticules de polymères, un type de nanoparticule choisie pour sa polyvalence importante.

Le projet actuel utilise des nanosphères de polyester-amide-urée pour une diffusion transdermique d'ibuprofène. L'objectif de ce mémoire est de concevoir ainsi que de caractériser ces nanocolloïdes afin de s'assurer qu'ils présentent les caractéristiques requises par Phagelux Canada Inc. Les nanosphères ont été fabriquées par la technique d'évaporation de solvant avec le polymère de Phagelux Canada Inc, un polymère à base d'acide aminé, le polyester amide urée (PEAU). Ensuite, les paramètres intrinsèques des systèmes nanocolloïdaux dédiés à l'administration de médicaments ont été quantifiés, tels que la taille, l'indice de polydispersité (PDI), le potentiel zêta et l'efficacité d'encapsulation, avec des concentrations variables de surfactant, de co-surfactant, de polymère ainsi que de masse d'ibuprofène. Des photos au microscope électronique à balayage (SEM) ont également été prises pour étudier la morphologie. Les formulations optimales étaient F1 et F9, présentant une bonne taille homogène (PDI:0,149 et 0,207, respectivement, ~200nm), une bonne

stabilité (potentiel zêta : $> | 25 | \text{ mV}$) et une bonne efficacité d'encapsulation (42 et 71%, respectivement). Ainsi, une preuve de concept est mise en évidence pour la conception de nanosphères biodégradables pour la délivrance d'ibuprofène. D'autres études doivent cependant être menées pour caractériser davantage les paramètres cinétiques de libération in vitro et in vivo.

Mots-clés : NSAID, ibuprofène, nanoparticule polymérique, topique, évaporation de solvant

ABSTRACT

Arthritis and its related conditions are a reality of the current civilized world affecting more people each year. In Canada, the estimation by the Arthritis Community Research & Evaluation Unit (ACREU) is that by 2040, the number of afflicted individuals, which currently sits at 6 million, will rise to 9 million. The first and most used pharmaceutical line of treatment for arthritis makes use of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). These drugs, often prescribed in higher than typical over-the-counter (OTC) doses, are commonly taken by oral administration. This leads to high systemic exposure to the drug. Because most arthritis associated conditions are chronic and require multiple years of treatment, this leads to increased incidence of drug-related side-effects, notably in the gut and kidneys. Ibuprofen, an NSAID, shows a well-known low toxicity profile, which is all indicated for a product which would require repeated applications. While other NSAIDs, like diclofenac, are more potent at managing the symptoms, these also present increased incidence of drug associated side effects.

To ensure appropriate delivery, nanosystems were considered for their potential in drug delivery, allowing for protection of the active ingredient, diminution of dose and toxicity as well as longer persistence in the organism and specificity of target. Nanosystems are an extremely diverse field and for this thesis polymeric nanoparticles were chosen for their versatility.

The current project utilizes polyester amide urea nanospheres for the transdermal delivery of ibuprofen. The objective of this thesis is to focus on the conception and characterization of these nanocolloids in order for them to present the required characteristics for topical delivery. Nanospheres were made using the solvent evaporation technique with Phagelux Canada Inc's proprietary polymer, an amino acid-based polymer, polyester amide urea (PEAU). Following this, intrinsic parameters of nanocolloidal drug delivery systems were quantified such as size, polydispersity index (PDI), zeta potential and encapsulation efficiency with varying concentration of surfactant, co-surfactant, polymer as well as ibuprofen mass. Scanning electron microscope (SEM) photos were also taken to investigate morphology. The optimal formulations were F1 and F9, presenting good and homogenous size (PDI:0.149 and 0.207, respectively, ~200nm), fair stability ($> |25|$ mV) and encapsulation efficiency (42 and 71%, respectively). Thus, it is possible to create biodegradable, biocompatible nanospheres for the delivery of ibuprofen. Further studies

must however be conducted to further characterize the kinetic release parameters *in vitro* and *in vivo*.

Keywords: NSAIDS, ibuprofen, polymeric nanoparticles, topical, drug delivery, solvent evaporation

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	III
RÉSUMÉ.....	IV
ABSTRACT	VI
LISTE DES TABLEAUX.....	X
LISTE DES FIGURES.....	XI
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS	XIII
LISTE DES ANNEXES.....	XV
CHAPITRE 1 INTRODUCTION	1
1.1 Problématique	1
1.2 But scientifique.....	2
1.3 Objectifs spécifiques et mesurables.....	2
CHAPITRE 2 REVUE DE LITTÉRATURE.....	4
2.1 La pathologie de l'arthrite	4
2.2 Ibuprofène.....	5
2.2.1 Métabolisme et mécanisme d'action de IBU	6
2.2.2 Dosage physiologique efficace de IBU	7
2.2.3 Effets secondaires de IBU et les traitements alternatifs actuels.....	8
2.3 Systèmes de distributions de médicaments	9
2.3.1 Liposome.....	10
2.3.2 Nano-transporteurs lipidiques	11
2.3.3 Micro/nanoémulsion.....	12
2.3.4 Nanoparticule polymérique	12
2.3.4.1 Méthodes de préparation de NPs	13

2.3.4.2	Nanoparticules polyester amide urée (PEAU)	14
2.3.5	Méthodes actuelles pour l'administration d'IBU	14
CHAPITRE 3 ENCAPSULATION OF NON-STEROIDAL ANTI-INFLAMMATORY DRUGS (NSAIDS).....		16
3.1	Title of invention	16
3.2	Field of invention	16
3.3	Background	16
3.4	Summary of invention	17
3.5	Detailed description.....	22
CHAPITRE 4 RÉSULTATS ADDITIONNELS		49
4.1	Formulations inconcluantes.....	49
4.2	Effet du Tween80 sur la taille, PDI et le potentiel zeta	50
4.3	Efficacité d'encapsulation	53
4.4	Morphologie	54
CHAPITRE 5 DISCUSSION GÉNÉRALE.....		57
CHAPITRE 6 CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS.....		62
RÉFÉRENCES.....		63
ANNEXE		69

LISTE DES TABLEAUX

Table 3-1 Preparation parameters for F1 formulation.....	32
Table 3-2 Properties of F1 formulation nanospheres	33
Table 3-3 Preparation parameters for F9 formulation.....	33
Table 3-4 Properties of F9 formulation nanospheres	34
Tableau 4-1 Effet de différents paramètres sur la taille, sa distribution et l'encapsulation	49

LISTE DES FIGURES

Figure 1-1 Exigences de Phagelux Canada Inc.	2
Figure 2-1 Conformations énantiomériques de l'ibuprofène[24]	5
Figure 2-2 Voie de l'acide arachidonique en réponse aux dommages cellulaires ou au stress[33] 7	
Figure 2-3 Types de nanoparticules[44].....	10
Figure 3-1 Voie de l'acide arachidonique suivant des dommages ischémiques	45
Figure 3-2 Nanosphères(blanc) et PVA (gris foncé) sur une feuille d'aluminium (gris pale) vu au microscope à balayage électronique (SEM).....	46
Figure 3-3 Nanosphère engommée dans du PVA résiduel vu au SEM	47
Figure 3-4 Nanocapsules vues au SEM.....	48
Figure 4-1 Taille des nanosphères F1, avec et sans (CTRL) ibuprofène en fonction de la concentration de Tween80	50
Figure 4-2 Taille des nanosphères F9, avec et sans (CTRL) ibuprofène en fonction de la concentration de Tween80	51
Figure 4-3 Indice de polydispersité (PDI) de F1, avec et sans (CTRL) ibuprofène en fonction de la concentration de Tween80	51
Figure 4-4 Indice de polydispersité (PDI) de F9, avec et sans (CTRL) ibuprofène en fonction de la concentration de Tween80	52
Figure 4-5 Potentiel zeta des nanosphères de F1, avec et sans (CTRL) ibuprofène en fonction de la concentration de Tween80	52
Figure 4-6 Potentiel zeta des nanosphères de F1, avec et sans (CTRL) ibuprofène en fonction de la concentration de Tween80	53
Figure 4-7 Nanosphères (points blancs) de la F1 engommés dans du PVA résiduel (gris foncé avec des replis). Photo prise au SEM	54

Figure 4-8 Nanosphères (structure circulaire blanches) de F1 en bordure et dans le PVA (gris foncé) sur le papier d'aluminium (gris pale). Photo prise au SEM	55
Figure 4-9 Nanosphères (structure circulaire blanches) de F9 en bordure et dans le PVA (gris foncé) sur le papier d'aluminium (gris pale). Photo prise au SEM	55
Figure 4-10 PVA sur papier d'aluminium du contrôle F9	56

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

ACREU	Arthritis Community Research & Evaluation Unit
CDC	Center for Drug and Disease Prevention
COX	Cyclooxygénase
CTRL	Contrôle
CYP	Cytochrome P
DCM	Dichlorométhane
DMARD	Droge anti-rhumatoïdes modificatrice de la maladie
EE	Efficacité d'encapsulation
FDA	Food and Drug Administration
HPLC	Chromatographie de haute performance en phase liquide
IBU	Ibuprofène
NLC	Transporteur lipidique nanostructuré
NP	Nanoparticule polymériques
NSAID	Droge anti-inflammatoire non-stéroïdienne
OA	Acide oléique
OTC	Sans prescription
PDI	Indice de polydispersité
PEAU	Poly(ester) amide urée
PGH ₂	Prostaglandine H ₂
PLA	Acide poly(lactique)
PLA ₂	Phospholipase 2
PLGA	Acide poly(lactique-co-glycolique)
PGA	Acide poly(glycolique)

PVA	Alcool polyvinylique
SEM	Microscope électronique à balayage
SLN	Nanoparticule solide-lipide

LISTE DES ANNEXES

ANNEXE A Figures complémentaires	69
--	----

CHAPITRE 1 INTRODUCTION

1.1 Problématique

Les maladies rhumatoïdes sont un ensemble de maladies qui ont des causes variables, mais qui entraînent ultimement en des lésions et une perte du cartilage dans le temps, souvent associé avec de la douleur, de l'inflammation et de la mobilité réduite dans les articulations affectées. Physiologiquement, l'environnement de l'articulation est altéré et compromet l'homéostasie entre la synthèse de nouveau cartilage et sa dégradation, équilibre qui est normalement maintenu chez l'individu sain.[1] Contrairement aux croyances populaires, l'arthrite et ses conditions connexes ne font pas partie du processus normal de vieillissement. Bien que la prévalence de l'arthrite ait une certaine corrélation avec l'âge, les individus âgés de moins de 65 diagnostiqués avec une maladie arthritique représentent les deux tiers de la population affectée.[2] Il est estimé par le Center for Disease Control and Prevention (CDC) que l'arthrite et ses conditions connexes affectent présentement 25% de la population des États-Unis. Le fardeau économique annuel s'élèverait à 140 milliards de dollars américains pour le système de santé des États-Unis, un montant auquel s'additionnent 164 milliards en perte de revenu, pour un coût total de 304 milliards.[2], [3] Dans une étude en 2019 au Canada, il a été démontré que 20% de la population souffrait d'arthrite et pourrait atteindre les 25% d'ici 2040[4]–[6].

Il n'existe présentement aucun traitement pharmacologique curatif pour l'arthrite et ses conditions connexes. Pour cette raison, les efforts sont surtout concentrés sur le traitement des symptômes, soit l'inflammation et la douleur. Le traitement pharmacologique le plus commun est l'utilisation de drogues non stéroïdiennes anti-inflammatoires (NSAIDs). L'ibuprofène (IBU), qui est couramment utilisé en tant qu'antidouleur, possède également des propriétés anti-inflammatoires si le médicament est pris en quantité suffisante[7]. Cependant, la voie d'administration la plus commune est par voie orale. En raison de la dispersion systémique du médicament suite à la prise orale, la dose requise pour atteindre une concentration efficace au(x) articulation(s) affectée(s) est notablement plus élevée, en plus d'être distribuée dans tout l'organisme.[8] Divers problèmes de santé, comme des ulcères peptidiques et le saignement associé, un risque augmenté de complications cardiaques et de néphrotoxicité a été observé suite à cette exposition systémique. Ces effets secondaires pourraient s'exacerber si le traitement est prolongé sur une longue

période.[9] Il est donc nécessaire d'administrer la dose de manière locale afin de limiter la biodistribution systémique du médicament. L'administration par injection permettrait une administration ciblée, mais cette méthode invasive et compliquée pourrait nécessiter plusieurs injections journalières dues à la courte demi-vie de la molécule. L'administration topique semblerait alors être la méthode la plus simple pour administrer localement une dose efficace.[10]

Les nanotechnologies ont, durant les dernières années, piqué la curiosité de la communauté scientifique pour leur potentiel dans la livraison de médicaments. Les scientifiques se sont particulièrement intéressés aux nanoparticules polymériques en raison de leur capacité à passer au travers des différentes barrières physiologiques dues à leur petite taille, de leur capacité à protéger les ingrédients actifs et de leur possibilité d'un relargage contrôlé en plus de leur biodégradabilité et leur bonne biocompatibilité.[11]

1.2 But scientifique

Le but du présent travail de recherche est de concevoir une suspension à application topique de nanoparticules aminopolymériques contenant de l'ibuprofène pour le traitement local des maladies inflammatoires articulaires.

1.3 Objectifs spécifiques et mesurables

Pour ce projet de maîtrise les objectifs sont **1)** générer des nanoparticules contenant une haute quantité d'ibuprofène, et **2)** caractériser et quantifier les différentes propriétés intrinsèques aux systèmes nanocolloïdes (morphologie, taille, taux d'encapsulation, stabilité) afin de respecter les conditions demandées par Phagelux Canada Inc, exprimées dans la Figure 1.1.

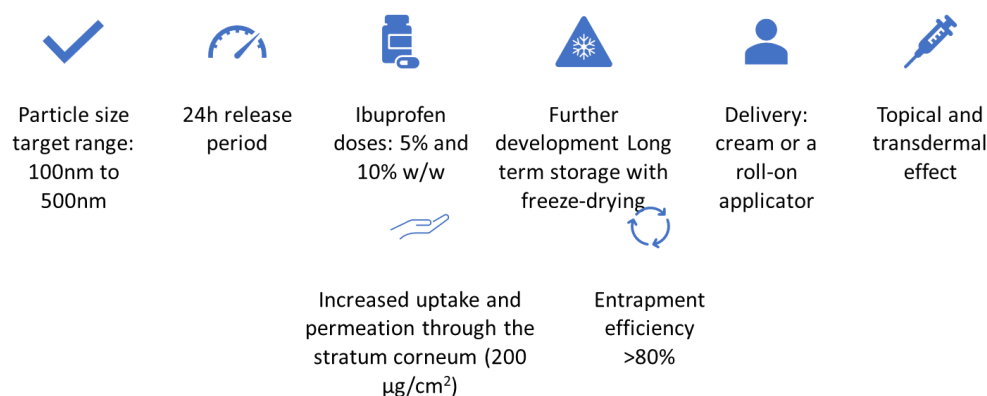


Figure 1-1 Exigences de Phagelux Canada Inc.

Il est à noter qu'afin que ce projet ait une charge comparable à celle d'un étudiant de maîtrise sur une durée de 1 an et demi, seulement quelques-unes de ces exigences ont été atteintes. La taille des nanoparticules, leur potentiel zêta et l'efficacité d'encapsulation sont les objets principaux de cette maîtrise et du présent mémoire.

CHAPITRE 2 REVUE DE LITTÉRATURE

2.1 La pathologie de l'arthrite

Le terme arthrite définit une centaine de conditions articulaires qui mènent à l'inflammation et/ou au gonflement des articulations. Afin de garder cette partie concise, seulement l'arthrose et l'arthrite rhumatoïde seront abordées. Cependant, il est à noter que puisque la majorité des maladies chroniques articulaires comportent aussi de l'inflammation et que le produit proposé traite l'inflammation et non la maladie en elle-même, les conclusions tirées peuvent alors être extrapolées à d'autres troubles inflammatoires articulaires.

L'arthrose est l'affliction la plus commune dans les articulations, affectant près de 10% de la population des États-Unis en date de juillet 2020, selon la CDC.[12] La condition est souvent observée dans le cou, le bas du dos, les hanches, les genoux, les mains et les pieds. Cliniquement, cela se traduit par l'incapacité des chondrocytes à régénérer le cartilage. En fait, dans les patients souffrant d'arthrose, les chondrocytes dégradent le cartilage en relâchant des enzymes. L'hypothèse présentement avancée par Gabriella Simona M. et son équipe est qu'une certaine molécule, nommée la molécule « d'usure », est relâchée par l'environnement de l'articulation de manière constitutive ou à la suite d'un trauma.[13] Dans l'articulation affectée, ces molécules, dont leur production est normalement contrôlée et éliminée par les cellules immunitaires résidentes, atteignent un seuil où leur présence surpasse ce que peuvent gérer les macrophages résidents et celles-ci deviennent alors des médiateurs d'inflammation. Ce changement dans l'environnement fait basculer les chondrocytes vers leur phénotype pro-inflammatoire, où le tissu cartilagineux devient dégradé par l'action d'enzymes relâchées par les chondrocytes. De plus, les produits de dégradation du cartilage activent la libération de cytokines pro-inflammatoire. Ce phénomène crée donc un environnement qui promeut sa propre inflammation, d'où la chronicité de la maladie.[13]

Dans le cas de l'arthrite rhumatoïde, la pathologie est plus complexe comme elle implique une composante génétique et des composants immunologiques qui causent ultimement une inflammation chronique dans l'articulation. Le mécanisme exact par lequel l'inflammation est causée dans les patients atteints d'arthrite rhumatoïde est encore mal compris. Toutefois, il y a de plus en plus d'information supportant que les cellules immunitaires comme les cellules

dendritiques, les cellules T, les cellules B et certaines cellules immunitaires innées, en plus de fibroblastes et ostéoblastes, jouent tout un rôle dans l'établissement de cette pathologie et dans la conservation d'un environnement pro-inflammatoire dans l'articulation.[14] Il doit également être mentionné que l'arthrite rhumatoïde est une maladie multiorgane qui impacte directement plusieurs tissus comme la peau, les yeux, les nerfs, les reins, le cœur, les poumons et le système gastro-intestinal.[15]

2.2 Ibuprofène

L'ibuprofène est une molécule chirale dérivée de l'acide propionique. En raison de sa faible solubilité dans l'eau, son acidité et sa haute perméabilité (la molécule mesure 206.28 Da), la drogue est classifiée classe IIa, selon la classification biopharmaceutique des drogues (BCS).[16] L'ibuprofène est une NSAID et est le médicament le plus populaire donné sans ordonnance (OTC) pour le traitement de la douleur modérée ou moindre. Il s'agit du traitement pharmaceutique de première ligne pour traiter de nombreuses maladies inflammatoires. L'IBU est un énantiomère et, avec un stéréocentre, il présente deux conformations soit R-(-)-ibuprofène et S-(+)-ibuprofène.[17] L'énantiomère S-(+) est environ 160 fois plus efficace pour inhiber la cascade de réactions de la cyclooxygénase, responsable de l'inflammation.[18] Le médicament est administré sous sa forme racémique puisque a) la séparation d'énantiomères est un processus ardu et coûteux, dû aux propriétés physiques identiques, et b) le corps humain possède un enzyme, nommé iuprofenyl-CoA, qui est capable de convertir jusqu'à 65% de l'énantiomère R-(-)-ibuprofène en l'énantiomère S-(+)-ibuprofène.[19]–[21] Vers la fin des années 90, des études ont déterminé que l'ibuprofène possède une assez courte demi-vie dans l'organisme, soit d'environ 2-3 heures. C'est cette particularité qui expliquerait en partie la faible toxicité associée à ce médicament.[22], [23]

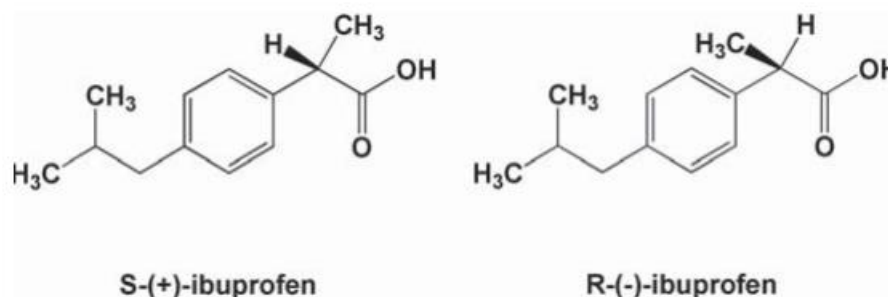


Figure 2-1 Conformations énantiomériques de l'ibuprofène[24]

2.2.1 Métabolisme et mécanisme d'action de IBU

Lorsque l'ibuprofène est administré et entre dans la circulation sanguine, la molécule se lie rapidement aux protéines du plasma, particulièrement l'albumine, et se dissémine dans tout l'organisme via le système circulatoire.[25] Chez des patients sains, les niveaux d'albumine présents dans le fluide synovial sont inférieurs à ceux dans le plasma et, donc, la localisation de IBU est surtout au niveau du plasma. Chez les patients souffrant de maladies musculosquelettiques inflammatoires chroniques, les sites affectés présentent une inflammation constante, ce qui se traduit en une augmentation de la concentration d'albumine dans le fluide synovial, améliorant ainsi la localisation et la persistance de IBU dans les zones affectées.[25] Les personnes âgées présentent aussi un profil d'albumine généralement plus élevé, ce qui pourrait augmenter l'exposition de l'organisme à l'IBU.[22] L'IBU est ensuite métabolisé par les enzymes CYP, principalement CYP2C9, en carboxy-ibuprofène et en 2-hydroxy-ibuprofène qui sont ensuite excrétés dans l'urine avec plusieurs autres métabolites mineurs. Un petit pourcentage (<15%) de la dose est métabolisé directement en ibuprofène-acyl glucoronide par les uridine 5'diphosphoglucuronosyltransferases.[21]

Le mécanisme d'action de l'ibuprofène fait effet principalement via l'inhibition réversible non sélective des cyclooxygénases, qui sont responsables de la catalyse de l'acide arachidonique, un acide gras libéré par des cellules endommagées ou avoisinantes. Cet acide gras, libéré par la phospholipase 2 (PLA2), est normalement catalysé en prostaglandine H2 (PGH2), un précurseur d'une panoplie de prostanoïdes responsables de la douleur et de l'inflammation.[26] Deux isoformes de la cyclooxygénases sont présentes chez l'humain : cyclooxygénase-1 (COX-1) et cyclooxygénase-2 (COX-2). COX-1 est une enzyme constitutive qui possède un rôle dans l'inflammation, l'homéostasie gastro-intestinale, le flux sanguin rénal et le contrôle de la réponse coagulatrice. COX-2 est une enzyme inductible qui joue un rôle majeur dans la promotion de l'inflammation via la synthèse de prostaglandines.[27] L'expression et l'action de COX-2 sont modulées par les stimuli inflammatoires, les hormones et les facteurs de croissance.[28] Il est pertinent de mentionner que COX-2 serait exprimée de manière constitutive dans certains tissus, notamment le cerveau, les reins, le tube gastro-intestinal et le thymus. Toutefois, le rôle des COX-2 constitutives est encore mal défini, mais elles sembleraient jouer un rôle important dans les troubles neuropathologiques.[29]

L'IBU possède aussi des effets non-associés à l'inhibition de la synthèse des prostaglandines, notamment l'analgésie, via l'inhibition de la relâche de neuropeptides et l'hyperexcitabilité, ce qui se traduit par une perception amoindrie de la douleur.[30], [31] Un groupe a aussi découvert que l'ibuprofène avait une action anti-inflammatoire accrue, propre à son action sur l'inhibition de l'attraction et l'activation des neutrophiles.[32]

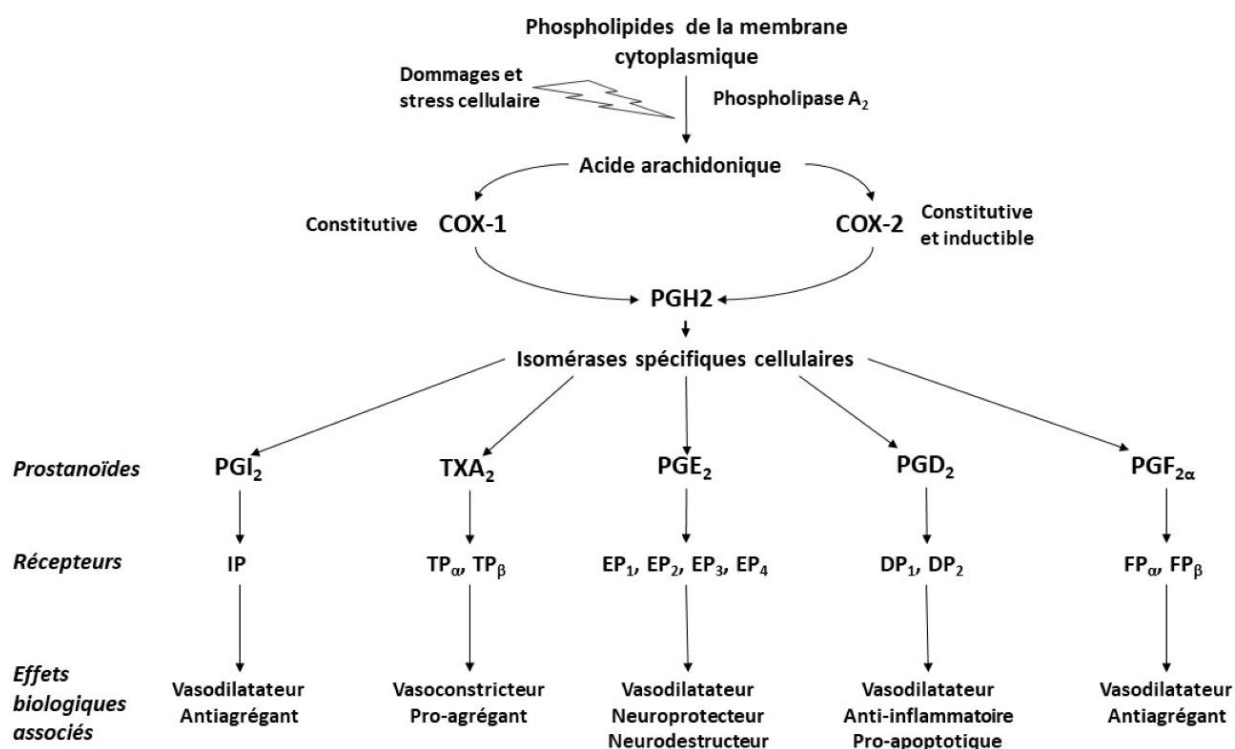


Figure 2-2 Voie de l'acide arachidonique en réponse aux dommages cellulaires ou au stress[33]

2.2.2 Dosage physiologique efficace de IBU

L'ibuprofène peut être administré de différentes méthodes, ce qui rend la dose biodisponible variable. Due au fait que IBU est utilisé pour traiter l'inflammation dans l'ensemble de l'organisme, la concentration efficace dans les sites désirés est aussi variable. Les travaux de Tiso et al. comparent l'administration topique et orale de IBU et font ressortir qu'une dose quotidienne d'un hydrogel d'IBU contenant 320 mg offre une efficacité comparable à une dose orale quotidienne de 2400 mg pour le traitement de la douleur chez des patients atteints d'ostéoporose.[34] Il a été

rapporté que la réponse analgésique commence aux alentours de 5-10 ug/mL dans le plasma. Cependant, il est important de rappeler que le site d'action pour le traitement de l'arthrite est la capsule synoviale ainsi que le fluide synovial, qui ont une capacité de rétention du médicament dépendante de la concentration protéique. Chez un individu sain, la concentration de protéines dans le plasma varie entre 60 à 80 mg/mL avec 50-60% de ses protéines qui sont de l'albumine.[35] Dans le fluide synovial, la concentration est d'environ 25 mg/mL avec moins de 50% composé d'albumine.[36] Ces données se traduisent en de plus bas pics maximaux de concentration et de plus longs temps d'attente avant d'atteindre la concentration maximale. Étrangement, cela permet aussi une persistance notablement plus prononcée dans le fluide synovial que dans le plasma. Anna-Liisa Mäkelä et son équipe ont déterminé qu'après 12 heures suivant l'administration d'une dose de 40 mg/kg, la concentration du sérum se situait à 20 µmol/L vs 65 µmol/L dans le fluide synovial et que dans les 12 heures suivantes, le niveau dans le fluide synovial diminuait, mais était encore plus élevé comparé au plasma.[37]

2.2.3 Effets secondaires de IBU et les traitements alternatifs actuels

Les NSAIDs présentent de nombreux effets secondaires lorsqu'elles sont prises sur de longues périodes ou en surdose. Les effets les plus communs pour la prise régulière ou à long terme d'IBU sont observés dans le tube gastro-intestinal, les reins, le système nerveux central et la coagulation.[38]

D'autres alternatives pharmaceutiques incluent les glucocorticoïdes, un médiateur hormonal qui agit comme un puissant immunosuppresseur. Ce médicament permet de réduire significativement l'inflammation dans l'articulation via l'inhibition des cellules immunitaires responsables de la réponse pro-inflammatoire. Toutefois, un haut dosage ou une utilisation prolongée de glucocorticoïdes vient avec d'importants effets secondaires tels qu'un risque accru d'infection, d'ostéoporose, d'amincissement et d'atrophie de la peau et un processus de guérison affaibli.[39] Ces observations sont donc particulièrement problématiques dans une population de patients atteints chroniquement qui requiert un traitement pharmaceutique pour plusieurs années, voire des décennies.

D'autres alternatives possibles, particulièrement pour l'arthrite rhumatoïde, sont les drogues anti-rhumatoïdes modificatrices de maladie (DMARDs). Ces médicaments ont un effet différent des autres alternatives puisqu'elles modifient l'environnement pro-inflammatoire et arrêtent la

progression de l'arthrite rhumatoïde chez les patients plutôt que le traitement usuel des symptômes. Physiologiquement, les DMARDs ciblent des voies spécifiques propres au système immunitaire pour désactiver ou inhiber la prolifération, l'adhésion, la différenciation et la communication dans les cellules immunitaires. Dépendamment du DMARD, les effets secondaires comprennent de la dysfonction rénale, de l'insuffisance cardiaque congestive ainsi que de la suppression et de l'hépatotoxicité au niveau de la moelle osseuse. [40]

Une autre avenue de traitement utilise les nanosystèmes de livraison avec comme but la réparation ou la régénération du cartilage ou de l'os. Les éléments destinés à être livrés comprennent, non exhaustivement, les facteurs de croissance, le matériel génétique et les nutriments.[41] Certaines avancées utilisent aussi des hydrogels qui, suite à la microfracture, la procédure couramment utilisée pour traiter les lésions cartilagineuses, permettent une localisation et une persistance du caillot au niveau de la lésion.[42] Les cellules de la moelle osseuse peuvent alors utiliser le réseau polymérique comme échafaud afin de reconstituer le tissu natif. D'autres proposent des injections de cellules souches ou de chondrocytes peu différenciés.[43] Le potentiel de ces avancées combiné avec un traitement pharmacologique approprié pourrait apporter un impact réel sur la manière dont l'arthrose est traitée.

2.3 Systèmes de distributions de médicaments

Bien qu'il s'agisse de paramètres importants, la nature d'un médicament ou la méthode d'administration choisie ne sont pas les seules composantes à prendre en compte pour déterminer l'efficacité d'un traitement pharmacologique. Le médicament doit pouvoir atteindre son site d'action en limitant au maximum les interactions avec les cibles non désirées. Dans le cas de l'ibuprofène topique, le but est de réduire la quantité d'ibuprofène dans le sang afin de limiter l'exposition non spécifique des organes non ciblés. Pour aider avec cette livraison spécifique, les systèmes nanoparticulaires ont fait leur apparition et ont pris d'ampleur dans la dernière décennie. Depuis, un grand nombre de méthodes ont été imaginées, utilisant une variété de macromolécules et de composés inorganiques ou synthétiques pour combler les besoins. Quelques-unes de ces méthodes de livraison seront discutées dans le présent travail.

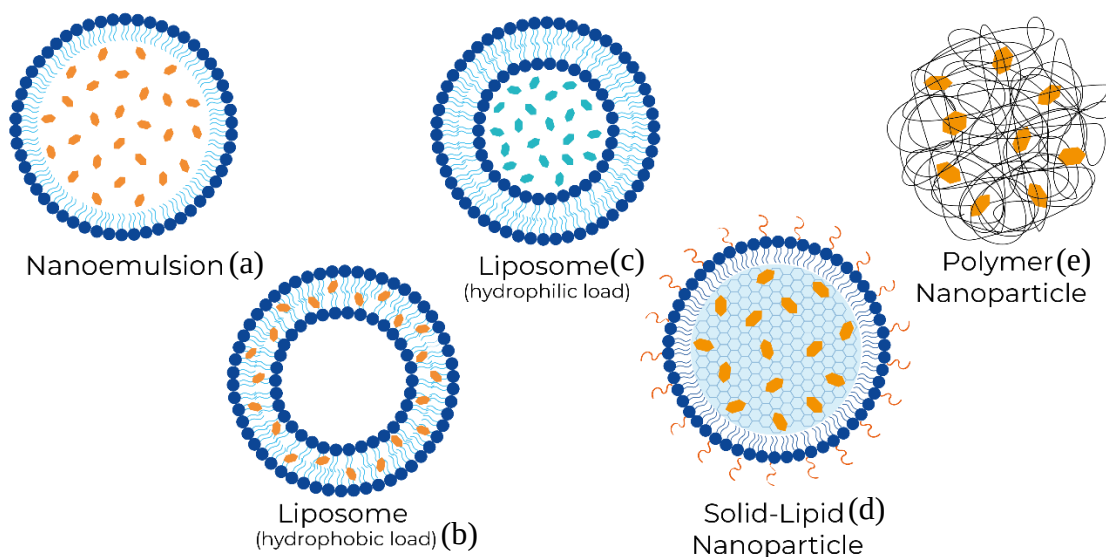


Figure 2-3 Types de nanoparticules[44]

2.3.1 Liposome

La plus ancienne de ces méthodes de livraison est probablement le liposome qui a fait son apparition dans les années 1960.[45] Les liposomes sont des structures sphériques d'une taille se situant entre 20 et 1000 nm. Ils sont composés d'une bicouche lipidique composée de phospholipides et de stéroïdes et possèdent un cœur aqueux. Ces propriétés font des liposomes un système de distribution intracellulaire prisé puisque, par la nature de leur bicouche, ils se fusionnent facilement à la membrane cytoplasmique des cellules humaines.[46] De plus, la bicouche procure un caractère amphiphile qui permet le chargement concomitant d'ingrédients actifs hydrophiles et hydrophobes (Figure 2-3b et 2-3c). Des modifications peuvent être apportées à la surface des liposomes afin de leur conférer différentes propriétés. La PEGylation est un exemple d'un procédé bien connu qui ajoute une couche hydrophile à la surface du liposome et limite les interactions non spécifiques avec les cellules immunitaires ainsi que l'élimination par le système réticuloendothélial augmentant ainsi la stabilité et le temps de circulation des liposomes. Il est également possible d'y greffer des récepteurs (protéiques ou sous forme d'anticorps) pour favoriser une action locale prédéterminée.[46] En revanche, il ne s'agit pas de la méthode tout indiquée si la cible de l'agent actif n'est pas intracellulaire. Comme cela a été expliqué précédemment pour les patients souffrant d'arthrite, le site d'action de l'agent actif est le liquide synovial au sein duquel baignent les

articulations. On omet ainsi l'une des principales caractéristiques qui font que les liposomes constituent une approche intéressante, soit leur structure à deux couches de phospholipides qui favorise leur fusion à la membrane cellulaire. L'utilisation de liposomes pour une application transdermique est également assez mal définie et est moins efficace que l'utilisation d'agents favorisant la pénétration (ex. menthol) pour une même application.[47] La production de liposomes est également assez complexe, elle nécessite l'utilisation de solvants organiques et est difficile à adapter pour de la production à grande échelle.[45]

2.3.2 Nano-transporteurs lipidiques

Les nanotransporteurs lipidiques sont dérivés des liposomes et s'en inspirent pour tenter de pallier leurs lacunes. Ils sont normalement des vésicules composées d'un lipide, un surfactant/co-surfactant ainsi que l'ingrédient actif. Contrairement aux liposomes, ils ne possèdent qu'une couche de phospholipides, généralement stabilisée par des stéroïdes (Figure 2-3d). La composition du cœur varie en fonction du type de nanotransporteurs. Les nanoparticules de lipide solide (SLN) sont faites avec un seul lipide de sorte que leur structure cristalline interne est dite monocristalline. Ce cœur cristallin donne aux nanoparticules une stabilité augmentée (en plus de la stabilité conférée par l'addition de surfactants), surtout comparé aux liposomes. Cela rend aussi les SLN particulièrement résistantes aux processus de stérilisation, un avantage notable de cette méthode de livraison de médicaments. Toutefois, cette structure particulière est également responsable d'une diminution considérable du dosage qui peut être encapsulé puisque, lors du processus de cristallisation, l'ingrédient actif est expulsé en dehors de la vésicule. Les transporteurs lipidiques nanostructurés (NLC) répondent à ce problème en introduisant des lipides liquides dans un cœur solide ou en utilisant des lipides qui ne cristallisent pas en solidifiant et créent une phase amorphe.[48] Ils sont relativement simples à produire et ne nécessitent pas l'utilisation de solvants organiques. Cependant, au même titre que les liposomes, ils n'ont qu'une capacité de pénétration limitée à travers la peau, limitant leur utilité et efficacité dans un système d'administration topique.[45] Une toxicité a aussi été démontrée lorsque les nanotransporteurs lipidiques sont constitués de lipides cationiques en raison de leur capacité à activer certaines voies pro-inflammatoires et pro-apoptotiques.[49]

2.3.3 Micro/nanoémulsion

Les microémulsions (et nanoémulsions) sont des gouttes d'huile (ou d'eau) qui sont suspendues dans une phase de polarité inverse et recouvertes d'un surfactant, permettant de stabiliser la gouttelette (Figure 2-3a). Ce dispositif ne permet l'encapsulation que d'un seul type d'agent actif, en fonction de la composition du cœur. Les microémulsions sont thermodynamiquement stables alors que les nanoémulsions sont cinétiquement stables.[50] Dans le cas des nanoémulsions, l'ajout d'un co-surfactant est souvent nécessaire pour maintenir l'état de haute énergie des particules, assurant ainsi la stabilité de la suspension. Il est pertinent de mentionner que les nanoémulsions, dues à leur petite taille(1-100nm), possèdent intrinsèquement un mouvement Brownien important, ce qui favoriserait la diffusion des gouttelettes à travers la peau.[50] Les nanoémulsions comportent les risques normalement associés aux systèmes de tailles nanométriques, notamment leur propriété de pénétrer les différentes barrières biologiques(ex : barrière hématoencéphalique), alors que les microémulsions ont la capacité de causer une perte d'eau transépidermique suite à leur application topique, ce qui amène à la déshydratation du tissu.[51], [52]

2.3.4 Nanoparticule polymérique

Les nanoparticules polymériques (NPs) sont composées de monomères qui, lorsqu'ils sont attachés les uns derrière les autres, forment une chaîne polymérique. Il est possible de changer une panoplie de composantes du polymère afin de moduler ses propriétés. Par exemple, les unités monomériques peuvent être identiques ou différentes, elles peuvent suivre un ordre particulier ou non. Les monomères peuvent aussi comprendre des chaînes latérales qui forment d'autres liaisons, altérant davantage les propriétés du polymère. Pour ces raisons, les polymères sont une catégorie de matériaux couramment utilisée dans le milieu de la santé et particulièrement dans la livraison de médicaments, en grande partie en raison de leur polyvalence. Les polymères synthétiques biodégradables les plus utilisés pour la création de NPs sont l'acide polylactique (PLA), l'acide polyglycolique (PGA) et l'acide poly(lactique-co-glycolique) (PLGA) alors que, chez les polymères naturels, le collagène, le chitosane et la gélatine sont particulièrement utilisés.[53] Ces polymères ont tous d'excellentes propriétés de biocompatibilité et biodégradabilité et relâchent leur agent actif de manière prévisible et contrôlée (modèle/profil de dégradation connu).[54] Il est aussi possible de fonctionnaliser davantage les NPs en leur greffant des récepteurs pour rendre leur action spécifique au site ou de les PEGyler pour assurer une plus longue persistance dans l'organisme. Il

est à noter que ces particules requièrent, la plupart du temps, la présence d'un surfactant afin d'assurer la stabilité de la suspension colloïdale et d'éviter l'agrégation. Des études ont aussi montré que les NPs recouvertes de surfactant présentaient une taille réduite et montraient une rétention et une accumulation dans les tissus supérieurs à des NPs non recouvertes.[55] Le surfactant pourrait, en fonction du système de livraison, être responsable d'une diminution de la toxicité observée lorsque des systèmes de NPs sont utilisés.[56] Les NPs possèdent de nombreux avantages sur les autres types de nanopréparations, notamment, elles sont faciles à produire, souvent ne nécessitant qu'une étape de haute énergie (sonification/homogénéisation). Également, elles ont généralement un temps de circulation supérieur aux autres types, ce qui permet de diminuer la quantité d'agent actif requise ainsi que la toxicité.[53] Elles sont aussi dites des transporteurs inertes, l'agent actif reste à l'intérieur de la particule sans dépendre de liaisons chimiques entre le médicament et le polymère pour assurer sa stabilité.[53] Il est notable de mentionner que la préparation des NPs requiert souvent un solvant organique comme de l'acétone, du dichlorométhane ou l'éthyle acétate. Dépendamment du solvant exact, l'évaporation peut être plus ou moins ardue ce qui peut rendre l'utilisation de certains solvants moins propice que d'autres pour la formation de NP, étant donné la nature toxique des solvants.

2.3.4.1 Méthodes de préparation de NPs

De nombreux procédés peuvent être utilisés pour préparer des nanoparticules polymériques. Il est possible de les catégoriser selon leur principe fondamental de fonctionnement. Les méthodes de préparations reposent soit sur le principe de dispersion ou sur le principe de polymérisation. Dans le cas de la dispersion, le plus souvent, il s'agit de mélanger le polymère en solution avec une phase aqueuse. La solution résultante est ensuite mélangée par une technique de haute énergie. La méthode peut faire l'utilisation de solvants organiques (sauf dans le cas de l'utilisation de technologie à fluide supercritique). L'alternative comporte l'ensemble des techniques se basant sur la polymérisation, où 2 monomères (ou plus) sont utilisés pour synthétiser le polymère. Les méthodes se basant sur ce principe sont moins couramment utilisées pour la création de NPs à usage thérapeutique, puisque les réactions nécessaires peuvent être incomplètes, laissant ainsi des monomères potentiellement toxiques où certains sous-produits suivant la réaction pourraient être nocifs, nécessitant donc une purification.[53] La méthode utilisée dans le présent projet est la méthode d'évaporation de solvant, une des méthodes de dispersion les plus courantes pour la préparation de NPs.[57] Le polymère d'intérêt et l'agent actif sont dissous ensemble dans un

solvant organique. La solution résultante est ensuite ajoutée à un volume de suspension aqueuse et mélangée par homogénéisation. La préparation, à laquelle un barreau magnétique est ajouté, est ensuite laissée sous une hotte chimique jusqu'à l'évaporation complète du solvant organique. Avant de récupérer la formulation, un volume de surfactant est ajouté pour aider à stabiliser les NPs.

2.3.4.2 Nanoparticules polyester amide urée (PEAU)

Les nanoparticules polymériques ici présentées ont de nombreux avantages. Étant donné leur composition en acides aminés, les composants du polymère sont non toxiques et se retrouvent naturellement dans l'organisme sous la forme d'acides aminés, d'acides dicarboxyliques et de diols gras. Ces composantes contiennent des liaisons ester hydrolysables à unité monomérique principalement responsables de la dégradation du polymère. Ces nanoparticules présentent des avantages notables sur d'autres polyesters biodégradables (ex : acide polyglycolique, acide polylactique) et leurs copolymères puisque la polycondensation peut subvenir sans l'utilisation de catalyseur toxique et possèdent une meilleure hydrophilicité, ce qui se traduit en une meilleure compatibilité avec les tissus[58]. Les polymères de polyester amide sont couramment utilisés pour la livraison de médicament de manière locale sur les endoprothèses[59]. Il y a aussi évidence que les produits de dégradation des polyesters sont acides. Cela peut entraîner des effets secondaires indésirables au niveau cellulaire alors que les produits de dégradation des polyesters uréthane et des polyesters urés sont des composés tel que le CO₂, les acides aminés hydrophobes et les diols, tous des acteurs naturels du métabolisme humain[60].

2.3.5 Méthodes actuelles pour l'administration d'IBU

Comme mentionné précédemment, la très grande majorité des patients consommant de l'IBU régulièrement prennent le médicament par voie orale, sous forme de tablettes ou de gélules. Il existe aussi plusieurs types de crèmes ou gels topiques qui utilisent l'action des NSAIDs (Voltaren, Ibuleve). Néanmoins, tous les produits présents sur le marché font usage d'alcool isopropylique ou d'un composé similaire pour faciliter la dissolution des NSAIDs qui sont généralement très hydrophobes, et permettre ainsi une meilleure pénétration à travers les couches lipidiques de la peau.[61] Une application répétée d'isopropanol, comme dans le cas de patients atteints d'une maladie inflammatoire chronique comme l'arthrose, assèche constamment la peau et peut causer

une inflammation importante apparaissant sous forme de dermatite ainsi qu'une sensibilisation de la peau aux infections.[62] Pour ce qui est de l'application topique des NSAIDs, il s'agit d'un sujet relativement documenté. Le médicament le plus mentionné en comparaison avec l'ibuprofène est le diclofénac. Le diclofénac, retrouvé notamment dans la crème pour l'arthrite « Voltaren », est reconnu comme le NSAID le plus efficace pour le traitement de la douleur chez les patients atteints d'arthrose[10]. Par contre, les produits topiques à base de diclofénac ont aussi des risques accrus d'effets secondaires, particulièrement au niveau de la peau, comparé à l'ibuprofène[63]. Il existe très peu d'études comparatives entre l'ibuprofène et le diclofénac au niveau de l'application topique, ce qui complexifie le choix de l'ingrédient actif. Étant donné que la communauté scientifique conclut que l'utilisation topique des NSAIDs est préférable comparé à l'administration orale (efficacité comparable et incidence d'effets secondaires réduits), le choix pour l'ibuprofène semble plus évident afin d'éviter un maximum d'effets secondaires[64].

CHAPITRE 3 ENCAPSULATION OF NON-STEROIDAL ANTI-INFLAMMATORY DRUGS (NSAIDS)

Provisional patent submitted to the United States Patent and Trademark Office on 03/09/2023

Inventors: Nancy Tawil, Simon De Grandpré

3.1 Title of invention

Encapsulation of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs)

3.2 Field of invention

[0001] The present invention relates to the general field of conditions involving inflammation, such as arthritis, among others, and pain treatment and is more particularly concerned with encapsulation of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs).

3.3 Background

[0002] Rheumatoid diseases are a regrouping of illnesses that vary in their causes but result ultimately in cartilage damage and loss, often associated with pain, inflammation, and reduced motion of the affected joints. Physiologically, there is an alteration in the joint environment, compromising the homeostasis between cartilage wear and cartilage neosynthesis that is normally achieved in a healthy individual. While arthritis prevalence does correlate with age, individuals under 65 who are diagnosed with a rheumatic disease represent more than two-third of the affected population[2]. The CDC estimates that arthritis and related conditions currently affect approximately 25% of the population of the United States of America. The associated economic burden on the American health care system is upwards \$140 billion and \$164 billion in arthritis attributable earning losses, rising to \$304 billion for the cost of illness[2], [3]. In Canada, it is estimated that 20% of the population suffers from arthritis with \$6.4 billion in associated costs per year.

[0003] There is no current pharmaceutical cure for arthritis and related conditions. For this reason, efforts are concentrated on treatment of the symptoms, which are mostly inflammation and pain. The most common pharmaceutical treatment is the prescription of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs). Ibuprofen (IBU) is an NSAID routinely used as a pain killer, possessing anti-inflammatory properties when taken in sufficient amount. Oral administration of IBU suffers from systemic dispersion, where the dose required to achieve efficient concentration at the site of injury is relatively high. This systemic exposure correlates to some notable health issues such as peptic ulcers and associated bleeding, increased risk of cardiac incidents and nephrotoxicity. These side effects may be exacerbated when treatment is carried over prolonged periods of time. Therefore, there needs to be a way to administer the efficient dose locally. Intravenous or intramuscular delivery allows for local administration but is an intrusive and complicated procedure for a treatment that may require multiple daily injections due to the molecule's short half-life. Topical delivery remains as the simplest way to administer local efficient dosage.

[0004] Accordingly, there exists also a need for new methods and media for delivering NSAIDs. An object of the present invention is to provide such methods and media.

3.4 Summary of invention

[0005] There is provided a method to generate nanoparticles containing a high amount of NSAIDs with appropriate morphology, size, encapsulation rate, stability, and release profile for the delivery of NSAIDs to a subject. There is also provided a method comprising applying to the skin of the subject a composition including the NSAIDs encapsulated in biodegradable nanoparticles.

[0006] In a broad aspect, there is provided a method of delivering at least one NSAID to a subject, the method comprising applying on a skin of the subject a composition including biodegradable nanospheres, wherein the biodegradable nanospheres include the at least one NSAID dispersed in a polymer.

[0007] Polymeric nanoparticles may allow for the diffusion of the NSAIDs at the site of action and controlled release of effective clinical dose for a prolonged period of time. Such nanoparticles may be used for the delivery of ibuprofen and NSAIDs in amino polymeric nanoparticles for localized topical treatment of pain and in inflammatory articular diseases, among others.

[0008] There may also be provided a method wherein the composition is provided to treat a condition selected from the group consisting of ankylosing spondylitis, antiphospholipid antibody syndrome, autoimmune encephalitis, chronic recurrent multifocal osteomyelitis, gout, Henoch-Schonlein purpura, juvenile dermatomyositis, juvenile idiopathic arthritis, juvenile lupus (SLE), juvenile scleroderma, juvenile vasculitis, Kawasaki disease, lupus (Systemic Lupus Erythematosus), mixed connective tissue disease, myositis, poststreptococcal inflammatory syndromes, psoriatic arthritis, reactive arthritis, rheumatoid arthritis, scleroderma, Sjogren's syndrome, spondyloarthritis / spondyloarthropathy, systemic juvenile idiopathic Arthritis, undifferentiated connective tissue disease, uveitis and vasculitis. among others.

[0009] There may also be provided a method wherein the NSAID is selected from the group consisting of diclofenac, diflunisal, etodolac, fenoprofen, flurbiprofen, ibuprofen, indomethacin, ketoprofen, ketorolac, mefenamic acid, meloxicam, nabumetone, naproxen, oxaprozin, piroxicam, sulindac, tolmetin and coxibs.

[0010] There may also be provided a method wherein the composition is in the form of a cream or a formulation applicable using a roll-on applicator.

[0011] In another broad aspect, there is provided a composition comprising at least one NSAID encapsulated in biodegradable polymeric nanospheres. The NSAID is at least partially dispersed in the polymer itself. In these latter cases, the nanospheres may be hollow or full. Typically, the nanospheres are full, that is no central cavity is formed in them.

[0012] There may also be provided a composition wherein the biodegradable polymeric nanospheres include a polymer selected from

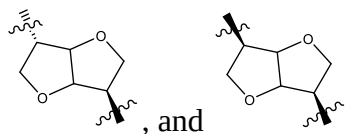
- (1) a poly (ester amide urea) wherein at least one diol, at least one diacid, and at least one amino acid are linked together through an ester bond, an amide bond, and a urea bond,
- (2) a poly (ester urethane urea) wherein at least one diol and at least one amino acid are linked together through an ester bond, a urethane bond, and a urea bond,
- (3) a poly (ester amide urethane urea) wherein at least one diol, at least one diacid, and at least one amino acid are linked together through an ester bond, an amide bond, a urethane bond, and a urea bond,
- (4) a poly (ester amide urethane) wherein at least one diol, at least one diacid, and at least one amino acid are linked together through an ester bond, an amide bond, and a urethane bond,
- (5) a poly (ester urea) wherein at least one diol and at least one amino acid are linked together through an ester bond and a urea bond, and
- (6) a poly (ester urethane) wherein at least one diol and at least one amino acid are linked together through an ester bond and a urethane bond,

further wherein

the at least one diol is a compound of formula:

$\text{HO-R}_1\text{-OH}$, R_1 is chosen from $\text{C}_2\text{-C}_{12}$ alkylene optionally interrupted by at least one

oxygen, $\text{C}_3\text{-C}_8$ cycloalkylene, $\text{C}_3\text{-C}_{10}$ cycloalkylalkylene,

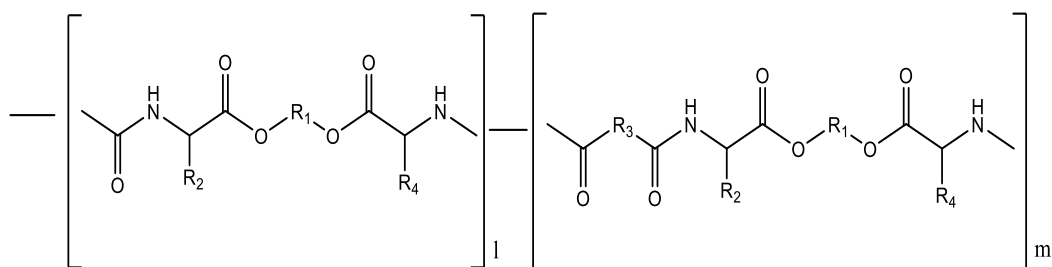


the at least one diacid is a compound of formula:

$\text{HO-(CO)-R}_3\text{-(CO)-OH}$, R_3 is $\text{C}_2\text{-C}_{12}$ alkylene,

the at least one amino acid is chosen from naturally occurring amino acids and non-naturally occurring amino acid.

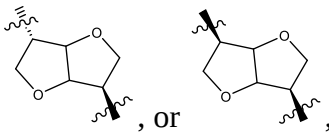
[0013] There may also be provided a composition wherein the polymer is a poly (ester amide urea) (PEAU) comprising the following two blocks with random distribution thereof:



wherein

the ratio of l:m ranges from 0.05:0.95 to 0.95:0.05, $l+m=1$,

R_1 is chosen from C_2 - C_{12} alkylenes optionally interrupted by at least one oxygen, C_3 - C_8

cycloalkylenes, C_3 - C_{10} cycloalkylalkylenes, , or

R_3 is C_2 - C_{12} alkylene,

R_2 and R_4 are independently chosen from the side chains of L- and D - amino acids so that the carbon to which R_2 or R_4 is attached has L or D chirality.

[0014] There may also be provided a composition wherein R_1 is $-(CH_2)_6-$, R_3 is $-(CH_2)_8-$, and both R_2 and R_4 are the side chain of L-leucine.

[0015] More details regarding such polymers and others usable with the present invention are provided in PCT application PCT/US2016/038527 and US patent application 15/188,783, the contents of which is hereby incorporated by reference in its entirety.

[0016] There may also be provided a composition further comprising a permeation enhancer.

[0017] There may also be provided a composition further comprising one or more compounds selected from the group consisting of polyvinyl alcohol(for example Mowiol 8-88, M_w 67 000), dichloromethane, distilled water, hydrocarbons, including alkanes, alkenes, squalene, mineral oil, halogens, alcohols, including glycerols, glycols, polyglycols, ethanol, caprylic alcohol, lauryl alcohol, organic acids, including oleic acid, undecanoic acid, amines, amides, including pyrrolidone(N-methyl-2-pyrrolidone 2-pyrrolidon)azones, (1-dodecylazacycloheptan-2-one))urea, isopropyl myristate, sodium lauryl sulfate, cetyltrimethyl ammonium bromide, sorbitan

monolaurate, polysorbate 80, dodecyl dimethyl ammoniopropene sulfate, dimethyl sulfoxide, dodecyl methyl sulfoxide, phospholipids, water (for example 70:30, v/v), and carbopol .

[0018] There may also be provided a composition wherein the formulation is for administration across at least one of dermal and epidermal barriers, and wherein the nanospheres are configured so as to not enter systemic circulation.

[0019] There may also be provided a composition wherein the polymer is degraded in-vivo over a period of from about 12 hours to about 48 hours, for example 24 hours.

[0020] There may also be provided a composition wherein the nanospheres are between 100 nm and 500 nm in diameter, for example with a mean diameter of about 200nm.

[0021] There may also be provided a composition comprising an emulsifier, for example Kolliphor P188.

[0022] There may also be provided a composition further comprising Tween 80.

[0023] There may also be provided a composition wherein the NSAID forms between 5% and 10% w/w of the composition.

[0024] Advantageously, the proposed compositions can provide a relatively large uptake and permeation through the stratum corneum, for example up to (200 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$).

[0025] The proposed nanosphere size enables release of the active ingredient in the dermis, while preventing penetration of the nanoparticles in the circulatory system (which occurs typically with particle size smaller than 100 nm). Free NSAID will target sensory afferents in glabrous skin whilst nanoparticles will move through the hair shaft and release the active targeting hair nociceptors and sensory afferents in the dermis. The proposed nanospheres can also be stored over relatively long period of time after freeze-drying.

[0026] Other objects, advantages and features of the present invention will become more apparent upon reading of the following non-restrictive description of preferred embodiments thereof, given by way of example only with reference to the accompanying drawings.

BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

[0027] In the drawings:

[0028] Figure 3-1 illustrates the arachidonic acid pathway for ibuprofen following ischemic damage;

[0029] Figure 3-2 is a scanning electron microscopy image of formulation F1 described in the example below;

[0030] Figure 3-3 is a scanning electron microscopy image of formulation F9 described in the example below; and

[0031] Figure 3-4 is a scanning electron microscopy image of formulation F9 described in the example below better illustrating the formed nanospheres.

3.5 Detailed description

[0032] A method of topical and/or transdermal delivery of NSAIDs, such as ibuprofen, is proposed. Topical and transdermal delivery offer multiple advantages over other routes of administration. The proposed method allows in some embodiments for the delivery of the NSAIDs in the management of diverse conditions in user-friendly dosage forms that ensure sustained and consistent delivery of efficient doses in the management of medical conditions for which they are found effective. Moreover, topical, and transdermal dosage forms promote adherence and eliminate the need for frequent drug consumption.

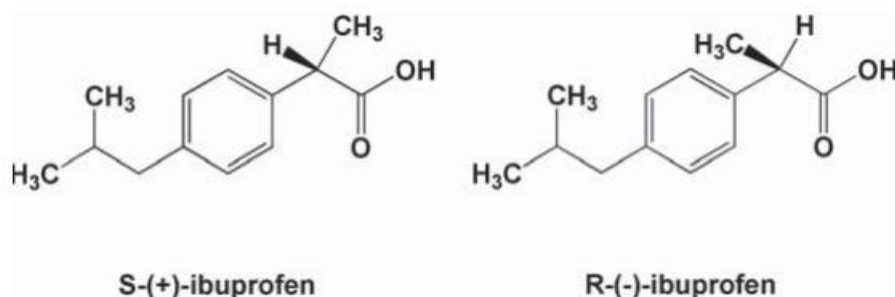
[0033] For example, arthritis comprises over a hundred of joint conditions which result in inflammation and/or swelling of articulations, with osteoarthritis and rheumatoid arthritis being the most common. However, because most chronic articular diseases cause inflammation and the proposed product treats inflammation, not the disease itself, the conclusions could be extrapolated to other types of inflammatory articular disorders.

[0034] Osteoarthritis is the most common affliction of the joint, affecting 10% of the USA's population as of July 2020, according to the CDC[12]. It is typically observed in the neck are, the lower back, as well as the hips, knees, hands, and feet. This condition is marked by the failure of the chondrocytes to regenerate cartilage. Chondrocytes degrade the cartilage by releasing enzymes in the joint environment. In the affected joint, these molecules, which are normally controlled and eliminated by the resident immune cells, suddenly reach a threshold where their presence overwhelms the resident macrophages and they become mediators of inflammation. This change in the environment turns the chondrocytes into their pro-inflammatory phenotypes, where the cartilaginous tissue degrades by the action of the enzymes released by the chondrocytes. Furthermore, the cartilage degradation products activate the release of pro-inflammatory cytokines which in turn cause further activation of the chondrocytes' pro-inflammatory response. This creates an environment which promotes its own inflammation hence the chronicity of the disease.[13]

[0035] On the other hand, rheumatoid arthritis is more complex as it implicates genes and immunological components that participate in chronic inflammation of the joint. The exact underlying mechanism for inflammation in rheumatoid patients is still to be determined, however, it is becoming increasingly evident that immune cells such as dendritic cells, T cells, B cells and some innate immune cells as well as fibroblasts and osteoblasts all have a role in the establishment of this pathology and the conservation of the pro-inflammatory joint environment.[14] It also of mention that rheumatoid arthritis has a direct impact on a multitude of organs and tissues such as the skin, the eyes, the nerves, the kidney, the heart, the lung and the gastrointestinal system.[15]

[0036] Ibuprofen is a chiral propionic acid-derived molecule. Because of its poor solubility in water, acidic nature and high permeability (the molecule measures 206.28 Da) the drug is classified BCS Class IIa[16]. Ibuprofen is a NSAID and is the most popular OTC drug for treatment of up to

moderate pain and is the first line of pharmaceutical treatment for many inflammatory diseases. IBU is an enantiomer and with one stereocenter, it has both R-(-)-ibuprofen and S-(+)-ibuprofen[17]. The S-(+) enantiomer is about 160 times more efficient in inhibiting the cyclooxygenase pathway responsible for inflammation[18]. The drug is given as a racemate because a) enantiomer separation is arduous and costly due to their identical physical properties and b) the body possesses an enzyme, known as ibuprofenyl-CoA capable of converting up to 65% R-(-)-ibuprofen into S-(+)-ibuprofen[19]–[21]. Studies in the late 90s have determined that ibuprofen has quite a short half-life of around 2-3 hours, which is believed to be an important factor in the limitation of drug toxicity.[22], [23] The formulas for ibuprofen are



[0037] When ibuprofen is administered and enters the bloodstream, it quickly binds to plasma proteins, predominantly albumin, and disseminates through the entire organism via the circulatory system.[25] In healthy patients, albumin levels in synovial fluid are lower than those in plasma, resulting in increased concentration of IBU in the plasma. Patients who suffer from chronic inflammatory musculoskeletal diseases present constant inflammation at the affected site which results in an increase of albumin concentration in synovial fluid, making it easier for ibuprofen to persist in the affected joints.[25]. The elderly also present an increased unbound albumin profile which may result in higher exposure to ibuprofen.[22] Ibuprofen is then metabolised by CYP enzymes, mainly CYP2C9, into carboxy-ibuprofen and 2-hydroxy-ibuprofen which are excreted through urine along with many other metabolites. A small percentage(<15%) of the dosage is also directly metabolized into ibuprofen-acyl glucuronide by uridine 5'diphosphoglucuronosyltransferases[21].

[0038] Ibuprofen's mechanism of action works mostly via non-selective, reversible inhibition of cyclooxygenases which catalyze arachidonic acid, a fatty acid released by damaged or neighboring cells by phospholipase 2(PLA₂), into prostaglandin H₂(PGH₂), a precursor for specific prostanoids, responsible for pain and inflammation.[26] There are two isoforms of cyclooxygenases in humans: cyclooxygenase-1(COX-1) and cyclooxygenase-2(COX-2). COX-1 is a constitutive enzyme which plays a role in inflammation, gastro-intestinal homeostasis, renal blood flow and inhibition of blood clotting. COX-2 is an inductive enzyme which has a major role in promoting inflammation via aforementioned prostaglandin synthesis [27]. The latter responds to inflammatory stimuli, hormones and growth factors.[28] It is of note that COX-2 is expressed constitutively in specific tissues notably in the brain, the kidney, the gastrointestinal tract and the thymus. However, the role of constitutively expressed COX-2 is still poorly understood but it seem to have an important role in neuropathological disorders.[29]

[0039] There is also evidence of non-prostaglandins related effects of ibuprofen which also lead to analgesia via inhibition of neuropeptide release and hyper-excitability which translate to reduced pain perception.[30], [31] A group also found out that ibuprofen had further non-COX related action through the inhibition of attraction and activation of neutrophils, contributing further to the anti-inflammatory effect.[32] Figure 1 illustrates various metabolic pathways affected by ibuprofen, and their corresponding biological effects.

[0040] Ibuprofen can be administered via various methods, making the bioavailable dose variable. Because ibuprofen is used to treat inflammation all around the body, the effective concentration in the relevant locations vary. The work of Tiso et al. comparing topical and oral ibuprofen administration showed that a daily dose of an ibuprofen hydrogel of 320 mg conferred similar efficiency to a 2400 mg daily oral dose in pain management for osteoarthritic patients.[34] It is reported that analgesic response starts around 5-10 ug/mL in plasma, however the site of action for arthritis treatment is the synovium and synovial fluid, which have a drug retainability dependent of the protein concentration. In healthy humans, the protein concentration in plasma varies between 60 to 80 mg/mL with 50-60% being albumin.[35] In synovial fluid, its approximately 25 mg/ml with less than 50% being albumin.[36] This translates in lower concentration peaks and longer time to reach maximum concentration. Coincidentally, this also allow for much longer persistence of

ibuprofen compared to plasma. German scientist Rolf Rau and his team have assessed that, 4 hours following an oral administration of 400 mg of ibuprofen in arthritic patients, the concentration of ibuprofen in plasma and synovial fluid were 15.45 ug/ml and 9.4 ug/mL, respectively.

[0041] NSAIDS present a variety of side effects when taken for extended periods of time or in overdosage. Common side effects for regular ibuprofen intake are observed in the gastrointestinal tract, the kidney the coagulation system and the central nervous system. Peptic ulcers are the most prevalent with an estimate of 1 in 5 patients occurrence in chronic users.[38]

[0042] Other pharmaceutical alternatives include glucocorticoids, a hormone mediator which is a powerful immunosuppressor. This can help significantly reduce the inflammation in the joint via inhibition of the immune cells responsible for pro-inflammatory response. However, high dosage or prolonged use of glucocorticoid come with severe side effects such as increased risk of infections, osteoporosis, skin thinning/atrophy and impaired wound healing to name a few[39]. This is problematic in a patient population which requires pharmaceutical treatments for multiple years, sometimes decades.

[0043] Another common treatment option, especially for rheumatoid arthritis, are disease modifying anti-rheumatic drugs (DMARDs). These have a different effect from other alternatives as they stop disease progression in rheumatoid patients rather than treating the symptoms. Mechanistically, they target specific pathways of the immune system to deactivate or inhibit proliferation, adhesion, differentiation, or communication in immune cells. Inherently, this causes an increase in infection risks. Depending on the exact DMARD, side effects also include renal dysfunction, bone marrow suppression/hepatotoxicity and congestive heart failure.[40]

[0044] The administration of a drug and its efficacy are impacted by more than the nature of the drug or the administration method. The drug must be allowed to reach its clinical target and have as little interaction as possible with nontargets along the way. In topical ibuprofen's case, it is to reduce the ibuprofen in the blood to limit non-specific organ exposure. To aid in this targeted delivery, nanoparticulate systems have made their appearance in the last decade. Since then, a great

number of methods have been devised using a variety of macromolecules and inorganic compounds.

[0045] Current utilization of ibuprofen in topical application is limited. The few marketed options available all make use of alcohol-based gels. This allows to remove the sebaceous oily layer that covers the skin so that the active molecules diffuse into the skin, rather than stay in the sebum due to the hydrophobic nature of most NSAIDs. This layer is then reproduced by the sebaceous glands over the course of a few hours. However, repeated usage, like what is required in arthritic patients, constantly strips the skin of the protection given by the sebum. This leads to a dryness of the skin in the affected area which can cause dermatitis and increased risks of infections. The invention presented does not make use of alcohol to penetrate stratum corneum and diffuses into skin due to the nanoparticles' small size and polarity. It offers a safer and non-irritating (long term) alternative to regular ibuprofen consumers.

[0046] In term of regulation, FDA has already put in place a system for non-prescription use through Rx-to-OTC Switch Process. FDA already approved non-prescription Voltaren Arthritis Pain (TM) to GlaxoSmithKline plc and of non-prescription Pataday Twice Daily Relief (TM) and Pataday Once Daily Relief (TM) to Alcon. The Office of Non-prescription Drugs in the FDA's Center for Drug Evaluation and Research set framework for approval of a wider range of non-prescription drugs with the aim of providing the millions of people that suffer with joint pain from arthritis daily over-the-counter access to another non-opioid treatment option. Evidently, data must be provided to demonstrate that the drug is safe and effective for use in self-medication as directed in proposed labeling. NSAIDs were shown to have a certain cardiac effect, notably in increases of heart attacks, heart failures and strokes. However, these effects are rare and often the blame is shared by other comorbidities, especially in older individuals. By decreasing the total systemic bioavailable dosage, it would decrease the exposition of the drug in the organism all the while offering an efficacy comparable to oral counterparts but in the affected locations rather than the whole body.

[0047] Voltaren Arthritis Pain, which contains diclofenac and is intended for the temporary relief of joint pain, is not for immediate relief and may take up to 7 days to work. The proposed invention will entrap IBU in biodegradable polyester amide urea polymer for optimized prolonged topical

delivery and permeability of IB for pain and inflammation. It will present a rapid pain relief as well as an anti-inflammatory effect in the form of an easily absorbed, penetrating gel or cream. Application could include but not limited to muscle pain, back pain, joint pain and arthritic pain.

[0048] Current scientific works have obtained mitigated success in making polymeric nano vehicles for delivery of NSAIDs. Notably, Llera-Rojas and al have developed polymeric biodegradable ibuprofen-loaded nanospheres. Their nanospheres were smaller(183nm) and obtained a decent zeta potential(20.9 mV). However, their preparation used 250mg of IBU in a 300mL volume and their encapsulation efficiency was 43%. This means they had extremely low concentration of active drug(about 20 times less) compared to the proposed PEAU formulation (0.83 mg/ml vs 18.18 mg/mL). Another group, Pham and al., have designed ibuprofen-loaded solid lipid nanoparticules (SLNs) in a hydrogel for topical application. Their nanoparticles were significantly smaller(98nm) but they had poor stability (3.17 mV) and similar encapsulation efficiency (58%).

[0049] The proposed IBU-PEAU nanoparticles present numerous advantages. Being composed of Amino acid-based biodegradable polymers (AABBP), they are entirely composed of non-toxic building blocks such as naturally occurring amino acids and fatty diols and dicarboxylic acids. These compounds contain hydrolysable ester bonds at a monomer stage, which when incorporated into the polymeric backbones are responsible for the biodegradation of the polymers. These have evident advantages over biodegradable polyesters (PEs) (e.g. polyglycolic and poly(lactic acids)) and their copolymers as polycondensation synthesis can occur without any toxic catalyst, they possess higher hyphilicity and, hence, better compatibility with tissues as well as longer shelf-life. They also present a variable hydrophobicity/hydrophilicity balance suitable for constructing devices suitable for sustained/controlled drug release and an erosive mechanism and *in vitro* biodegradation rates ranging from 10^{-3} to 10^{-1} mg/(cm² • h) that can be regulated by the addition of enzymes. Their biodegradation is complete and even and they present excellent adhesion to plastic metal and glass surfaces. Polyester amides are also known to be biocompatible, hemocompatible, and are used in stent-based local drug delivery. Additionally, it has been shown that polyester degradation by-products are acidic, resulting in undesirable side-effects at a cellular level, which limits their use as functional tissue engineering scaffolds. In contrast to polyesters, AABBP degradation biproducts are less acidic and more biocompatible. For example, hydrolysis

products of poly(ester amide)s are neutral (zwitterionic) amino acids, readily metabolizable diols, and weak fatty acids. Another example are the biodegradation products of poly(ester urethane)s and poly(ester urea)s which are naturally occurring physiological compounds such as CO₂, hydrophobic amino acids, and diols.

[0050] The advantages of nanoparticles are also notable as they improve solubility and bioavailability of the drug. They are cost-effective to produce and provide a stable recipient for the entrapped drug. They lower drug-associated toxicity and protect the active agent from unnecessary degradation while allowing for a sustained release of active agents at optimum therapeutic concentrations. Additionally, they may offer site-specific targeted delivery of the drug, improving absorption in afflicted areas. What is more, PEAU delivery system and its innate properties drive the cartilage regeneration process by improving the wound environment, i.e. PEAU utilises enzymes in the wound environment to biodegrade, thus reducing protease concentrations, reducing the negative impact on articular regeneration, while providing a sustained, prolonged release of IBU at the site of injury. Other similar polymers, such as the polymers mentioned in the Summary of invention section are also usable to manufacture the nanospheres.

[0051] The invention proposes the following:

[0052] Potential candidates for entrapped NSAIDs include but are not limited to: diclofenac, diflunisal, etodolac, fenoprofen, flurbiprofen, ibuprofen, indomethacin, ketoprofen, ketorolac, mefenamic acid, meloxicam, nabumetone, naproxen, oxaprozin, piroxicam, sulindac, tolmetin and coxibs.

[0053] Excipients include polyvinyl alcohol(Mowiol 8-88, M_w 67 000), dichloromethane (used for polymer solubilization and then evaporated in its entirety) and distilled water. Other non-limiting excipients include permeation enhancers selected from the group consisting of hydrocarbons, including alkanes, alkenes, squalene, mineral oil, halogens, alcohols, including glycerols, glycols, polyglycols, ethanol, caprylic alcohol, laury alcohol, organic acids, including oleic acid, undecanoic acid, amines, amides, including pyrrolidone(N-methyl-2-pyrrolidone 2-pyrrolidon)azones, (1-dodecylazacycloheptan-2-one))urea, isopropyl myristate, sodium lauryl

sulfate, cetyltrimethyl ammonium bromide, sorbitan monolaurate, polysorbate 80, dodecyl dimethyl ammoniopropene sulfate, dimethyl sulfoxide, dodecyl methyl sulfoxide, phospholipids, water (for example 70:30, v/v), and carbopol .

[0054] Afflictions that would benefit from the invention could include but are not limited to: ankylosing spondylitis, antiphospholipid antibody syndrome, autoimmune encephalitis, chronic recurrent multifocal osteomyelitis, gout, Henoch-Schonlein purpura, juvenile dermatomyositis, juvenile idiopathic arthritis, juvenile lupus (SLE), juvenile scleroderma, juvenile vasculitis, Kawasaki disease, lupus (Systemic Lupus Erythematosus), mixed connective tissue disease, myositis, poststreptococcal inflammatory syndromes, psoriatic arthritis, reactive arthritis, rheumatoid arthritis, scleroderma, Sjogren's syndrome, spondyloarthritis / spondyloarthropathy, systemic juvenile idiopathic Arthritis, undifferentiated connective tissue disease, uveitis, vasculitis.

[0055] EXAMPLES

[0056] To make IBU-PEAU nanoparticles, the following protocol was used:

Materials:

Fisherbrand™ 150 Handheld Homogenizer Motor

Fisherbrand™ 150 Hand Held Homogenizer Accessory, Stainless Steel Probe

100mL glass beaker

Glass lens

Low recipient to serve as ice water bath for beaker

Pipette gun

10 mL and 25 mL pipettes

PVA solution(10%)

PEAU solution(12.5 or 25%)

Stirring bar

Stirring Block

50 mL Falcon tubes

4-Isobutyl-alpha-methylphenylacetic acid, 99% (Ibuprofen powder)

Method:

PEAU-IBU solution

- In a 50 mL Falcon tube, weigh 1000mg of ibuprofen
- Using a pipette, add 10 mL of 25% PEAU solution making sure to catch any powder that gets stuck on the sides of the tube
- Homogenize at 35 000rpm in ice cold water for 1min

Dispersant

- In 100mL beaker with a stirring bar, add 30 ml of PVA 10%

Emulsion

- Place the PVA solution beaker in an ice cold bath
- Start the homogenizer at 35 000rpm in the PVA solution
- Slowly pour in the PEAU-IBU solution and move the beaker in circular motions in order to mix the 2 phases
- Keep homogenizing for 10min then place the beaker on a stirring plate, cover with a glass lens and stir at maximum speed without causing splash for 18h.

Stability agent and storage

- Collect the resulting formulation in 50 mL Falcon tubes using a pipette before adding 500uL of Tween 80, for a 2% Tween 80 solution
- Store at 4°C

[0057] Analysis for HPLC were done using the following:

Sample preparation

Vortex samples thoroughly (1min)

In duplicate, weight 20-30mg of formulation in an eppendorf tube

Add 200uL H₂O, vortex

Centrifuge 11 000rpm 5min

Remove supernatant

Add 200uL H₂O, vortex

Centrifuge 11 000rpm 5min

Remove supernatant

Add 100uL DCM, vortex

Add 100uL ACN, vortex

Add 100uL of MeOH

Add 900uL (MeOH:ACN:H₂O) 50:30:20, vortex

Sonicate 20 min

Centrifuge 11 000rpm 5 minutes

Dilute 10uL + 990 uL(MeOH:ACN:H₂O) 50:30:20,vortex

Inject 2uL

LC-MS Method

Intrument: Agilent 1200 coupled to TOF MS 6224

Mobile phase A: 0.15mM NH₄F in H₂O

Mobile phase B: ACN

Column: Poroshell EC-C18 4.6 x 100mm, 2.7um

ESI negative

SIM mode : m/z 204.97

[0058] Analysis for DLS and zeta potential were done using a Malvern Zetasizer and following method:

Sample preparation

Dilute formulation 1/200 in distilled water and vortex until solution looks turbid but monophasic

Run for DLS and zeta potential

[0059] There are 2 formulations who were kept for they showed good potential, these being F1 and F9. Formulation F1 had the following conditions:

Table 0-1 Preparation parameters for F1 formulation

Formulation Name	Stirring speed(rpm)	PEAU %	PVA %	E1 (min)	E2 (min)	IBU mass (g)
F1	35 000	12.5	10	1	10	0.5

And gave the following results:

Table 0-2 Properties of F1 formulation nanospheres

Formulation Name	Normal distribution (Y/N)?*	[IBU] (mg/ml)	IBU(g) per gram of PEAU	Average size (nm)	Tween80 %	Zeta potential (mV)
F1	Y	6.5	0.527	227	2	-30.5

*Note: Formulations were checked for the homogeneity of their nanoparticle population because it was discovered that there were sometimes multiple populations within a size distribution.

[0060] Formulation F9 had the following conditions

Table 0-3 Preparation parameters for F9 formulation

Formulation Name	Stirring speed(rpm)	PEAU %	PVA %	E1 (min)	E2 (min)	IBU mass (g)
F9	35 000	25	10	1	10	0.5

And gave the following results:

Table 0-4 Properties of F9 formulation nanospheres

Formulation Name	Normal distribution (Y/N)?*	[IBU] (mg/ml)	IBU(g) per gram of PEAU	Average size (nm)	Tween80 %	Zeta potential (mV)
F9	Y	20.1	0.693	215	2	-28.7

[0061] Scanning electron microscopy (SEM) was also effectuated on F1 and F9. The following method was used to prepare the sample for analysis:

- Dilute formulation sample 1/10 in distilled water. Vortex
- Centrifuge at 10 000 rpm/10min
- Remove supernatant before resuspending in 1 mL of distilled water
- Repeat washing step until supernatant is practically clear
- Suspend nanoparticle pellet in 1mL of distilled water.
- Drop 10 uL of diluted nanoparticle solution on cut pieces of aluminium foil (1x1 cm)
- Leave to dry at room temperature until completely dry (~3-4 hours)

[0062] Results (FIGS. 2 to 4) shows PVA (the gooey dark grey substance) as a residual contaminant of the washes, the aluminum foil which serves as the background and appears as light grey and finally, the nanospheres which appear as tiny white specs.

[0063] In the proposed composition, Ibuprofen and other NSAID molecules are trapped in a solid PEAU matrix. Thus, IBU-PEAU nanospheres are prepared using a single emulsion(oil-water). The nanospheres are suspended typically in a relatively high concentration PVA solution, for example about 10% PVA. This amount of PVA is advantageous as nanosized particles are relatively unstable, and PVA is a known stabilizing agent for colloidal suspensions.

[0064] The kinetics of release for the active compound in nanospheres differs from the kinetics of release in nanocapsules, as in the former case, the compound is released gradually, while in the latter case, all of the compound is released once the envelope of the capsules is breached.

[0065] It is noted that the proposed composition is relatively difficult to achieve successfully, as the NSAID is, before being incorporated to the polymer, a powder.

[0066] Although the present invention has been described hereinabove by way of exemplary embodiments thereof, it will be readily appreciated that many modifications are possible in the exemplary embodiments without materially departing from the novel teachings and advantages of this invention. Accordingly, the scope of the claims should not be limited by the exemplary embodiments, but should be given the broadest interpretation consistent with the description as a whole. The present invention can also be modified, without departing from the spirit and nature of the subject invention as defined in the appended claims.

References

- [1] I. B. McInnes and G. Schett, “The pathogenesis of rheumatoid arthritis,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 365, no. 23, pp. 2205–2219, Dec. 2011, doi: 10.1056/NEJMra1004965.
- [2] CDC, “Arthritis,” Centers for Disease Control and Prevention, Nov. 03, 2021. <https://www.cdc.gov/chronicdisease/resources/publications/factsheets/arthritis.htm> (accessed Sep. 15, 2022).
- [3] L. B. Murphy, M. G. Cisternas, D. J. Pasta, C. G. Helmick, and E. H. Yelin, “Medical Expenditures and Earnings Losses Among US Adults With Arthritis in 2013,” *Arthritis Care Res.*, vol. 70, no. 6, pp. 869–876, Jun. 2018, doi: 10.1002/acr.23425.

- [4] “Arthritis Facts, Figures and Statistics.” <https://arthritis.ca/about-arthritis/what-is-arthritis/arthritis-facts-and-figures> (accessed Sep. 27, 2022).
- [5] P. H. A. of Canada, “Chapter 6: Life with arthritis in Canada: a personal and public health challenge – Economic burden of arthritis,” Jul. 19, 2010. <https://www.canada.ca/en/public-health/services/chronic-diseases/arthritis/life-arthritis-canada-a-personal-public-health-challenge/chapter-six-economic-burden-of-arthritis.html> (accessed Sep. 27, 2022).
- [6] D. C. Baranowski, B. Buchanan, H. C. Dwyer, J. P. Gabriele, S. Kelly, and J. A. Araujo, “Penetration and efficacy of transdermal NSAIDs in a model of acute joint inflammation,” *J. Pain Res.*, vol. 11, pp. 2809–2819, Nov. 2018, doi: 10.2147/JPR.S177967.
- [7] M. N. V. Ravi Kumar and N. Kumar§, “Polymeric Controlled Drug-Delivery Systems: Perspective Issues and Opportunities,” *Drug Dev. Ind. Pharm.*, vol. 27, no. 1, pp. 1–30, Jan. 2001, doi: 10.1081/DDC-100000124.
- [8] “Osteoarthritis (OA) | Arthritis | CDC,” Aug. 04, 2020. <https://www.cdc.gov/arthritis/basics/osteoarthritis.htm> (accessed Feb. 22, 2023).
- [9] G. Man and G. Mologhianu, “Osteoarthritis pathogenesis – a complex process that involves the entire joint,” *J. Med. Life*, vol. 7, no. 1, pp. 37–41, Mar. 2014.
- [10] Y.-J. Lin, M. Anzaghe, and S. Schülke, “Update on the Pathomechanism, Diagnosis, and Treatment Options for Rheumatoid Arthritis,” *Cells*, vol. 9, no. 4, p. E880, Apr. 2020, doi: 10.3390/cells9040880.
- [11] M. Cojocaru, I. M. Cojocaru, I. Silosi, C. D. Vrabie, and R. Tanasescu, “Extra-articular Manifestations in Rheumatoid Arthritis,” *Mædica*, vol. 5, no. 4, pp. 286–291, Dec. 2010.

- [12] C. Alvarez, I. Núñez, J. J. Torrado, J. Gordon, H. Potthast, and A. García-Arieta, "Investigation on the possibility of biowaivers for ibuprofen," *J. Pharm. Sci.*, vol. 100, no. 6, pp. 2343–2349, Jun. 2011, doi: 10.1002/jps.22472.
- [13] N. M. Davies, "Clinical Pharmacokinetics of Ibuprofen," *Clin. Pharmacokinet.*, vol. 34, no. 2, pp. 101–154, Feb. 1998, doi: 10.2165/00003088-199834020-00002.
- [14] N. M. Davies, "Clinical pharmacokinetics of ibuprofen. The first 30 years," *Clin. Pharmacokinet.*, vol. 34, no. 2, pp. 101–154, Feb. 1998, doi: 10.2165/00003088-199834020-00002.
- [15] "Chiral separations - ProQuest." <https://www.proquest.com/openview/7327e0c2d7bbd609c9557102213c3c60/1?pq-origsite=gscholar&cbl=7879> (accessed Nov. 03, 2022).
- [16] T. S. Tracy, D. P. Wirthwein, and S. D. Hall, "Metabolic inversion of (R)-ibuprofen. Formation of ibuprofenyl-coenzyme A," *Drug Metab. Dispos. Biol. Fate Chem.*, vol. 21, no. 1, pp. 114–120, Feb. 1993.
- [17] L. L. Mazaleuskaya et al., "PharmGKB summary: ibuprofen pathways," *Pharmacogenet. Genomics*, vol. 25, no. 2, pp. 96–106, Feb. 2015, doi: 10.1097/FPC.0000000000000113.
- [18] K. D. Rainsford, *Ibuprofen: Pharmacology, Therapeutics and Side Effects*. Basel: Springer, 2012. doi: 10.1007/978-3-0348-0496-7.
- [19] K. D. Rainsford, "Ibuprofen: pharmacology, efficacy and safety," *Inflammopharmacology*, vol. 17, no. 6, pp. 275–342, Dec. 2009, doi: 10.1007/s10787-009-0016-x.

- [20] Q. Che et al., “Enantioselective skin permeation of ibuprofen enantiomers: mechanistic insights from ATR-FTIR and CLSM studies based on synthetic enantiomers as naphthalimide fluorescent probes,” *Expert Opin. Drug Deliv.*, vol. 11, no. 10, pp. 1513–1523, Oct. 2014, doi: 10.1517/17425247.2014.929661.
- [21] K. Brune, “Persistence of NSAIDs at effect sites and rapid disappearance from side-effect compartments contributes to tolerability,” *Curr. Med. Res. Opin.*, vol. 23, no. 12, pp. 2985–2995, Dec. 2007, doi: 10.1185/030079907X242584.
- [22] E. Ricciotti and G. A. FitzGerald, “Prostaglandins and Inflammation,” *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, vol. 31, no. 5, pp. 986–1000, May 2011, doi: 10.1161/ATVBAHA.110.207449.
- [23] L. S. Simon, “Role and regulation of cyclooxygenase-2 during inflammation,” *Am. J. Med.*, vol. 106, no. 5, Supplement 2, pp. 37S–42S, May 1999, doi: 10.1016/S0002-9343(99)00115-1.
- [24] B. Wang et al., “Metabolism pathways of arachidonic acids: mechanisms and potential therapeutic targets,” *Signal Transduct. Target. Ther.*, vol. 6, no. 1, Art. no. 1, Feb. 2021, doi: 10.1038/s41392-020-00443-w.
- [25] J. Prabhakaran, A. Molotkov, A. Mintz, and J. J. Mann, “Progress in PET Imaging of Neuroinflammation Targeting COX-2 Enzyme,” *Molecules*, vol. 26, no. 11, Art. no. 11, Jan. 2021, doi: 10.3390/molecules26113208.
- [26] D. M. Southall, L. R. Michael, and R. M. Vasko, “Intrathecal NSAIDs attenuate inflammation-induced neuropeptide release from rat spinal cord slices,” *Pain*, vol. 78, no. 1, pp. 39–48, Oct. 1998, doi: 10.1016/S0304-3959(98)00113-4.

- [27] H. Zj, H. E, L. Hc, R. Al, R. Rl, and S. Xj, “Topical application of compound Ibuprofen suppresses pain by inhibiting sensory neuron hyperexcitability and neuroinflammation in a rat model of intervertebral foramen inflammation,” *J. Pain*, vol. 12, no. 1, Jan. 2011, doi: 10.1016/j.jpain.2010.06.008.
- [28] A. M. Evans, “Pharmacodynamics and pharmacokinetics of the profens: enantioselectivity, clinical implications, and special reference to S(+)-ibuprofen,” *J. Clin. Pharmacol.*, vol. 36, no. 12 Suppl, pp. 7S-15S, Dec. 1996.
- [29] “The Janus Face of Cyclooxygenase-2 in Ischemic Stroke | Stroke.” <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/01.STR.0000153797.33611.d8> (accessed Jan. 11, 2023).
- [30] S. Tong-Ngork, “Oral Versus Topical Ibuprofen for Chronic KneePain: A Prospective Randomized Pilot Study,” *Pain Physician*, vol. 5;13, no. 5;9, pp. 457–467, Sep. 2010, doi: 10.36076/ppj.2010/13/457.
- [31] M. Leeman, J. Choi, S. Hansson, M. U. Storm, and L. Nilsson, “Proteins and antibodies in serum, plasma, and whole blood—size characterization using asymmetrical flow field-flow fractionation (AF4),” *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 410, no. 20, pp. 4867–4873, 2018, doi: 10.1007/s00216-018-1127-2.
- [32] “A Normative Study of the Synovial Fluid Proteome from Healthy Porcine Knee Joints - PMC.” <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4184458/> (accessed Jan. 12, 2023).
- [33] R. Bushra and N. Aslam, “An Overview of Clinical Pharmacology of Ibuprofen,” *Oman Med. J.*, vol. 25, no. 3, p. 155, Jul. 2010, doi: 10.5001/omj.2010.49.

[34] M. Yasir, A. Goyal, and S. Sonthalia, “Corticosteroid Adverse Effects,” in StatPearls, Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2022. Accessed: Feb. 28, 2023. [Online]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK531462/>

[35] O. Benjamin, A. Goyal, and S. L. Lappin, “Disease Modifying Anti-Rheumatic Drugs (DMARD),” in StatPearls, Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2022. Accessed: Feb. 28, 2023. [Online]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507863/>

WHAT IS CLAIMED IS:

1. A method of delivering at least one NSAID to a subject, the method comprising applying on a skin of the subject a composition including biodegradable nanospheres, wherein the biodegradable nanospheres include the NSAID dispersed in a biodegradable polymer.
2. The method as defined in claim 1, wherein the composition is provided to treat a condition selected from the group consisting of ankylosing spondylitis, antiphospholipid antibody syndrome, autoimmune encephalitis, chronic recurrent multifocal osteomyelitis, gout, Henoch-Schonlein purpura, juvenile dermatomyositis, juvenile idiopathic arthritis, juvenile lupus (SLE), juvenile scleroderma, juvenile vasculitis, Kawasaki disease, lupus (Systemic Lupus Erythematosus), mixed connective tissue disease, myositis, poststreptococcal inflammatory syndromes, psoriatic arthritis, reactive arthritis, rheumatoid arthritis, scleroderma, Sjogren's syndrome, spondylarthritis / spondyloarthropathy, systemic juvenile idiopathic Arthritis, undifferentiated connective tissue disease, uveitis and vasculitis among others.
3. The method as defined in claim 1, wherein the NSAID is selected from the group consisting of diclofenac, diflunisal, etodolac, fenoprofen, flurbiprofen, ibuprofen, indomethacin, ketoprofen, ketorolac, mefenamic acid, meloxicam, nabumetone, naproxen, oxaprozin, piroxicam, sulindac, tolmetin and coxibs.
4. The method as defined in claim 1, the composition is in the form of a cream or a formulation applicable using a roll-on applicator.
5. A composition comprising at least one NSAID encapsulated in biodegradable polymeric nanospheres.

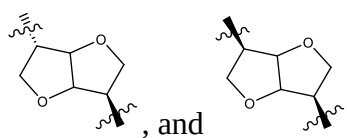
6. The composition as defined in claim 5, wherein the biodegradable polymeric nanospheres include a polymer selected from

- (1) a poly (ester amide urea) wherein at least one diol, at least one diacid, and at least one amino acid are linked together through an ester bond, an amide bond, and a urea bond,
 - (2) a poly (ester urethane urea) wherein at least one diol and at least one amino acid are linked together through an ester bond, a urethane bond, and a urea bond,
 - (3) a poly (ester amide urethane urea) wherein at least one diol, at least one diacid, and at least one amino acid are linked together through an ester bond, an amide bond, a urethane bond, and a urea bond,
 - (4) a poly (ester amide urethane) wherein at least one diol, at least one diacid, and at least one amino acid are linked together through an ester bond, an amide bond, and a urethane bond,
 - (5) a poly (ester urea) wherein at least one diol and at least one amino acid are linked together through an ester bond and a urea bond, and
 - (6) a poly (ester urethane) wherein at least one diol and at least one amino acid are linked together through an ester bond and a urethane bond,
- further wherein

the at least one diol is a compound of formula:

$\text{HO-R}_1\text{-OH}$, R_1 is chosen from $\text{C}_2\text{-C}_{12}$ alkylene optionally interrupted by at least one

oxygen, $\text{C}_3\text{-C}_8$ cycloalkylene, $\text{C}_3\text{-C}_{10}$ cycloalkylalkylene,

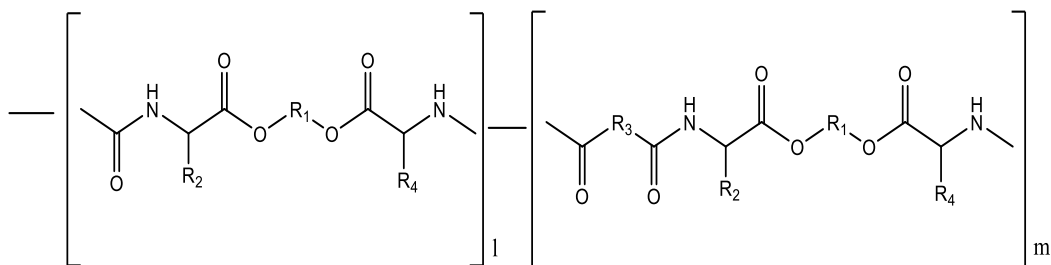


the at least one diacid is a compound of formula:

$\text{HO-(CO)-R}_3\text{-(CO)-OH}$, R_3 is $\text{C}_2\text{-C}_{12}$ alkylene,

the at least one amino acid is chosen from naturally occurring amino acids and non-naturally occurring amino acid.

7. The composition as defined in claim 6, wherein the polymer is a poly (ester amide urea) (PEAU) comprising the following two blocks with random distribution thereof:

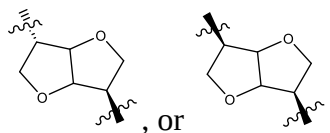


wherein

the ratio of l:m ranges from 0.05:0.95 to 0.95:0.05, $l+m=1$,

R_1 is chosen from C_2 - C_{12} alkylenes optionally interrupted by at least one oxygen, C_3 - C_8

cycloalkylenes, C_3 - C_{10} cycloalkylalkylenes,



R_3 is C_2 - C_{12} alkylene,

R_2 and R_4 are independently chosen from the side chains of L- and D - amino acids so that the carbon to which R_2 or R_4 is attached has L or D chirality.

8. The composition as defined in claim 7, wherein R_1 is $-(CH_2)_6-$, R_3 is $-(CH_2)_8-$, and both R_2 and R_4 are the side chain of L-leucine.
9. The composition as defined in claim 6, further comprising a permeation enhancer.
10. The composition as defined in claim 6, further comprising one or more compounds selected from the group consisting of polyvinyl alcohol(for example Mowiol 8-88, M_w 67 000), dichloromethane, distilled water, hydrocarbons, including alkanes, alkenes, squalene, mineral oil, halogens, alcohols, including glycerols, glycols, polyglycols, ethanol, caprylic alcohol, laury alcohol, organic acids, including oleic acid, undecanoic acid, amines, amides, including pyrrolidone(N-methyl-2-pyrrolidone 2-pyrrolidon)azones, (1-dodecylazacycloheptan-2- one))urea, isopropyl myristate, sodium lauryl sulfate, cetyltrimethyl ammonium bromide, sorbitan monolaurate, polysorbate 80, dodecyl

dimethyl ammoniopropene sulfate, dimethyl sulfoxide, dodecyl methyl sulfoxide, phospholipids, water (for example 70:30, v/v), and carbopol .

- 11.** The composition as defined in claim 6, wherein the composition is for administration across at least one of dermal and epidermal barriers, and wherein the nanospheres are configured so as to not enter systemic circulation.
- 12.** The composition as defined in claim 6, wherein the polymer is degraded in-vivo over a period of from about 12 hours to about 48 hours, for example 24 hours.
- 13.** The composition as defined in claim 6, wherein the nanospheres are between 100 nm and 500 nm in diameter
- 14.** The composition as defined in claim 6, wherein the nanospheres have a mean diameter of about 200nm.
- 15.** The composition as defined in claim 6, further comprising an emulsifier, for example Kolliphor P188.
- 16.** The composition as defined in claim 6, further comprising Tween 80.
- 17.** The composition as defined in claim 6, wherein the NSAID forms between 5% and 10% w/w of the composition.

Complementary Figures:

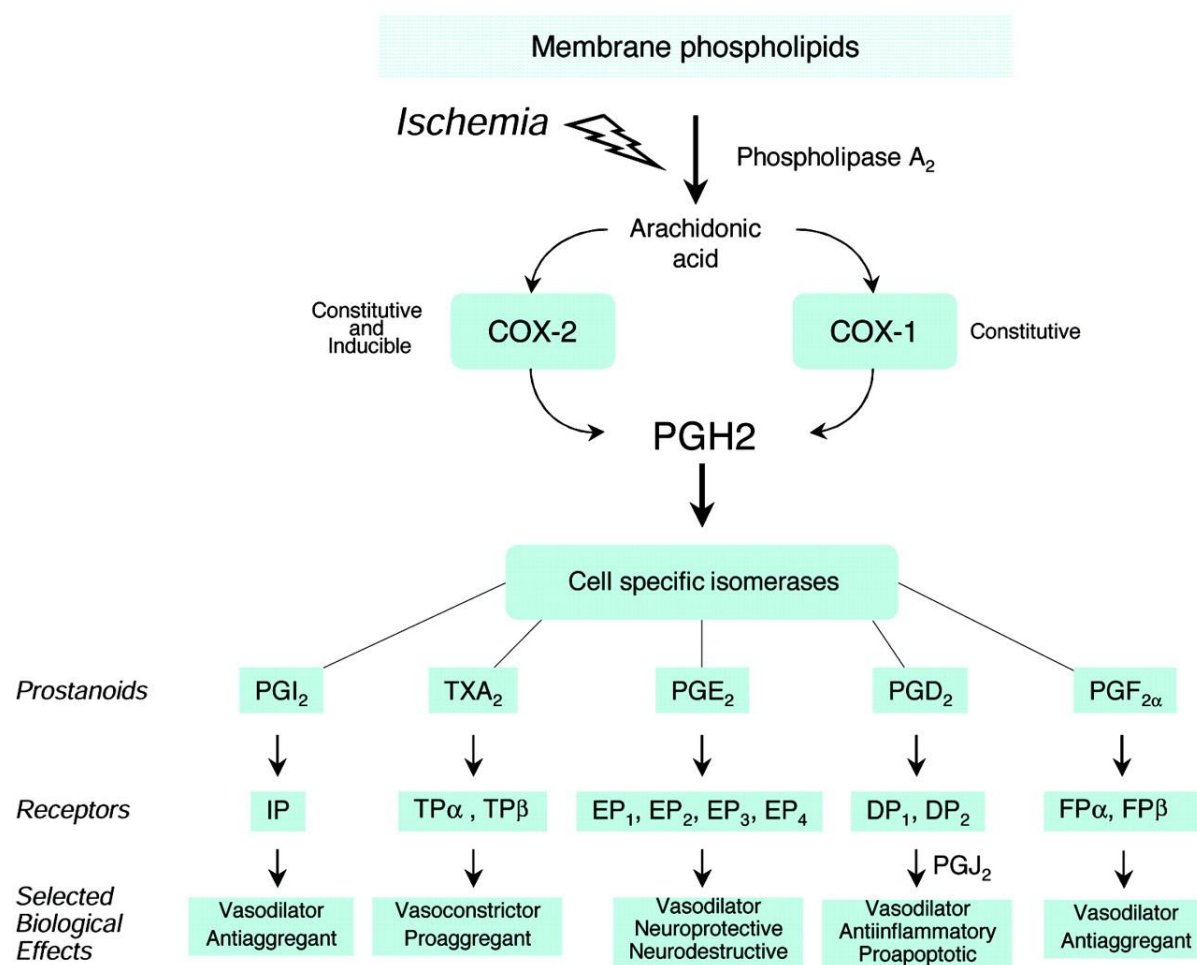


Figure 0-1 Voie de l'acide arachidonique suivant des dommages ischémiques

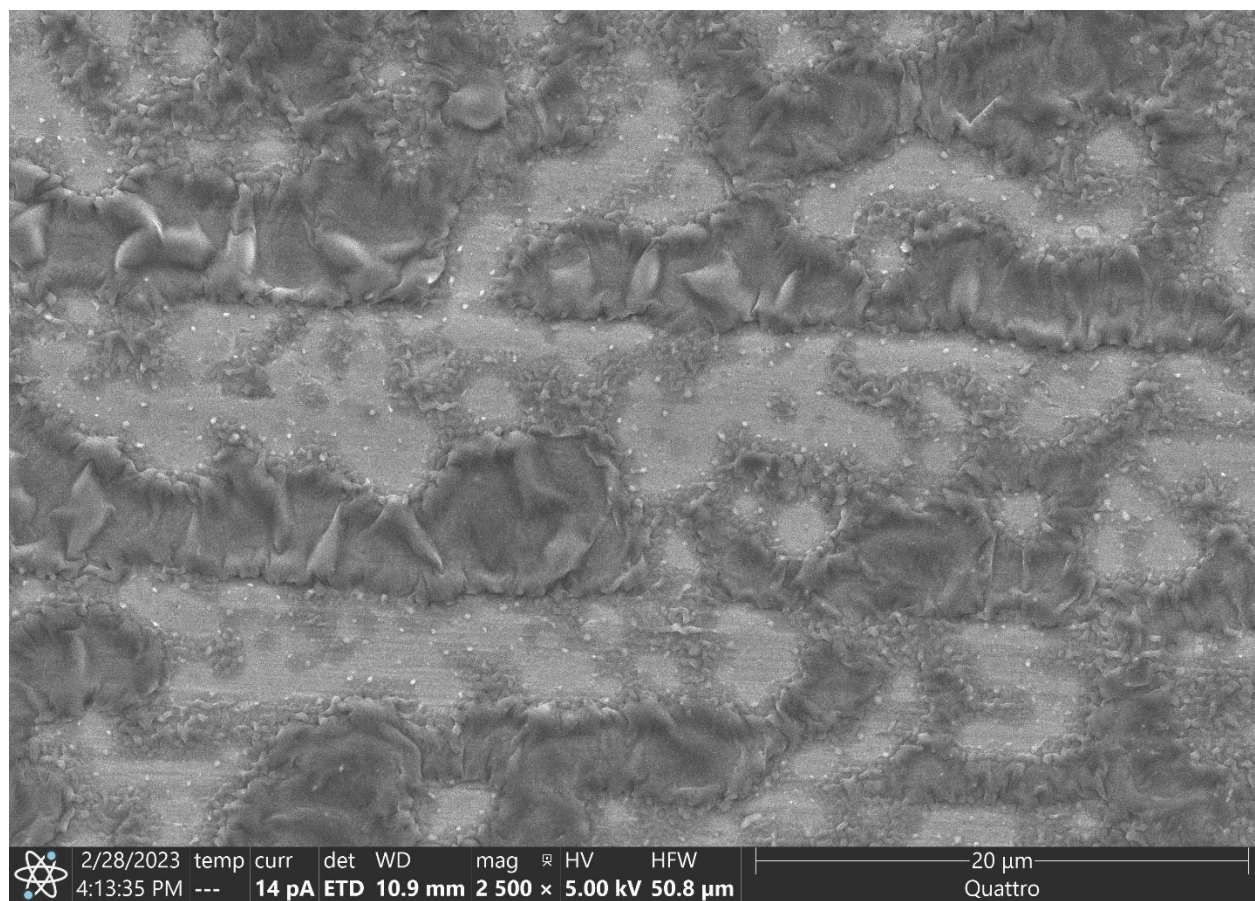


Figure 0-2 Nanosphères(blanc) et PVA (gris foncé) sur une feuille d'aluminium (gris pale) vu au microscope à balayage électronique (SEM)

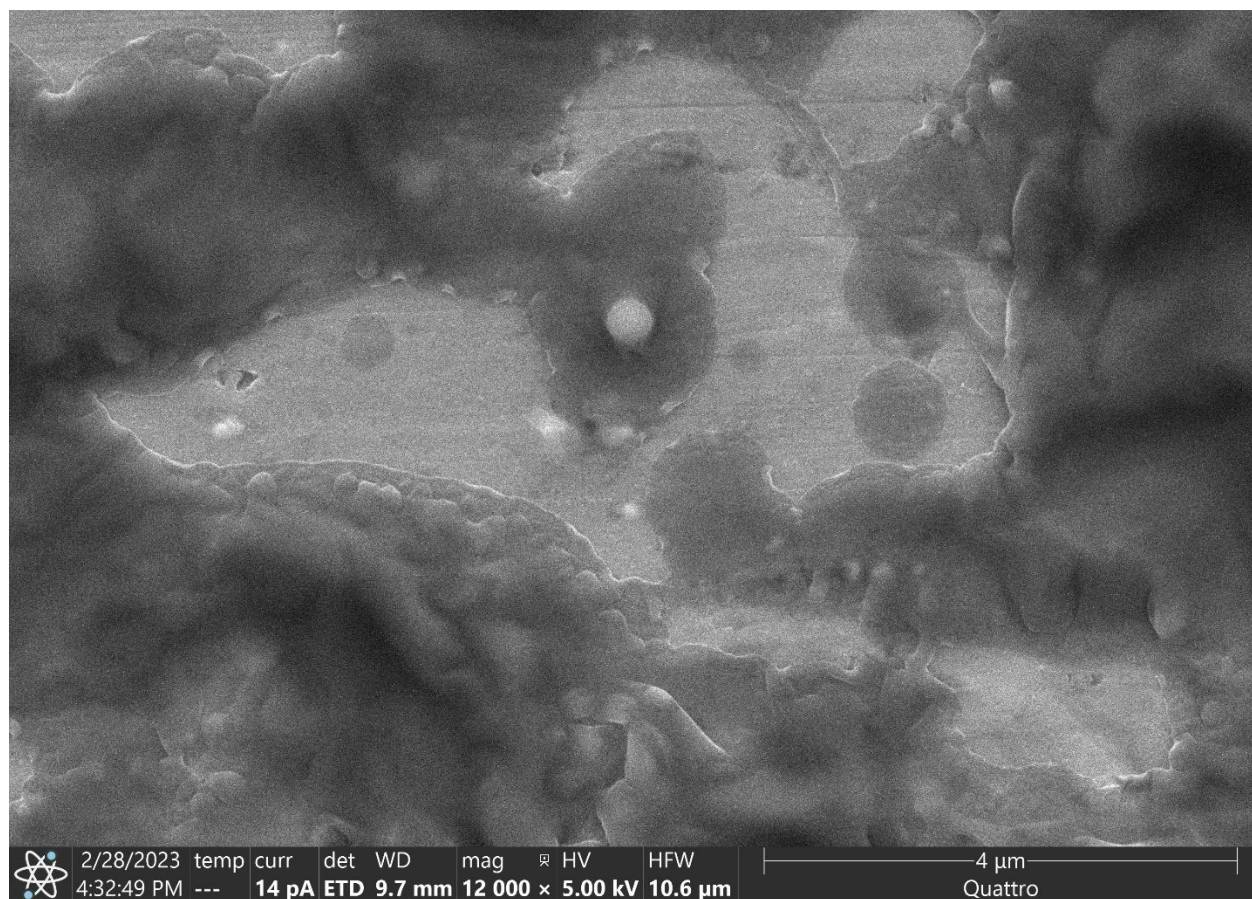


Figure 0-3 Nanosphère engommée dans du PVA résiduel vu au SEM

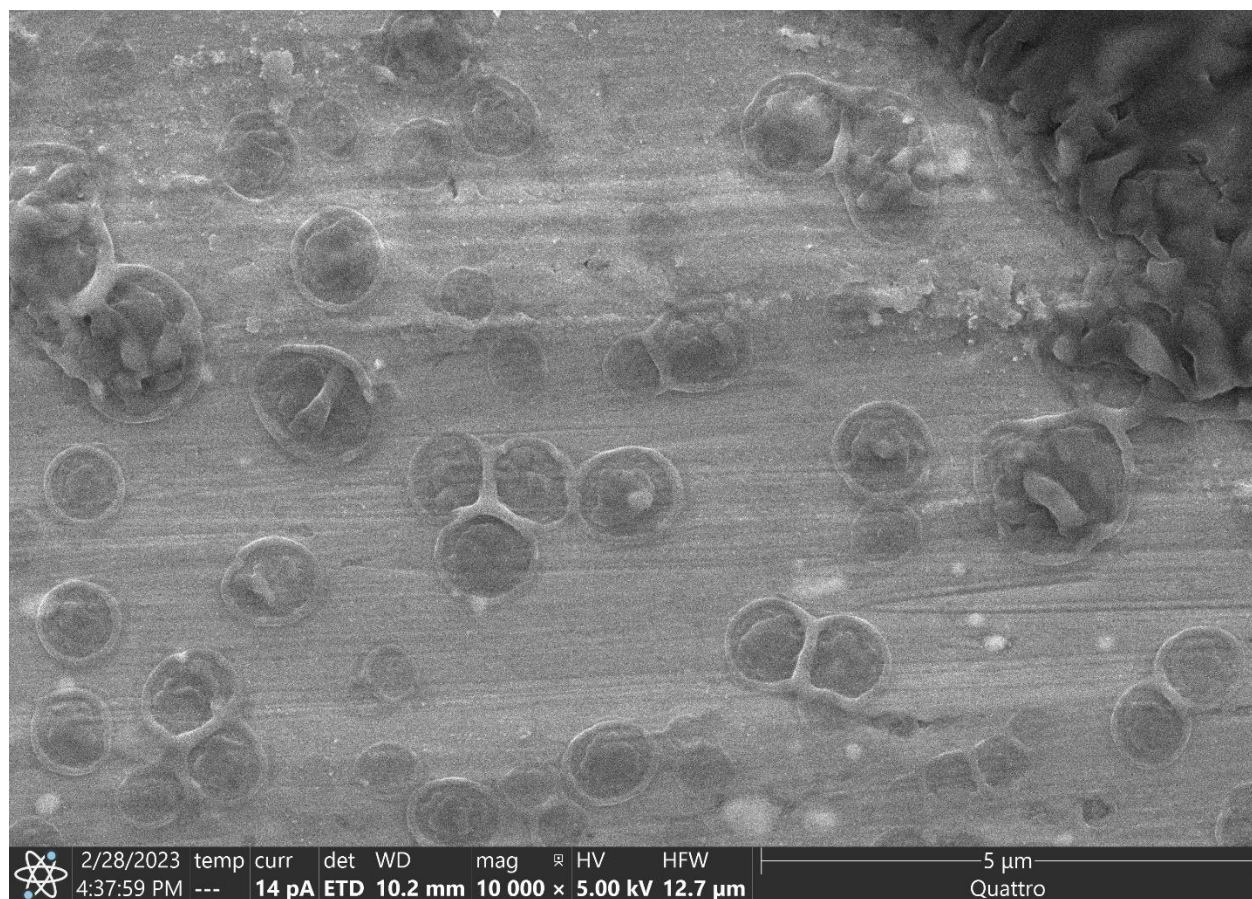


Figure 0-4 Nanocapsules vues au SEM

ABSTRACT OF THE DISCLOSURE

A method of delivering at least one NSAID to a subject, the method comprising applying on a skin of the subject a composition including biodegradable nanospheres, wherein the biodegradable nanospheres include the NSAID dispersed in a biodegradable polymer.

CHAPITRE 4 RÉSULTATS ADDITIONNELS

4.1 Formulations inconcluantes

Les objectifs ont été réalisés un à la fois, de sorte que la distribution unimodale de la taille, la taille elle-même et enfin l'encapsulation ont été atteintes dans cet ordre. Pour cette raison, si une formulation présentait de mauvais résultats pour un critère, les tests n'étaient pas continués pour la même formulation, ce qui explique l'absence de certains résultats dans le Tableau 4-1. Ces formulations mettent tout de même en évidence le rôle des différentes composantes et ratios pour une formulation. Ces formulations précèdent aussi l'utilisation du Polysorbate 80 qui a montré un impact significatif sur les paramètres des systèmes nanocolloïdaux où le Tableau 4-1 présente des versions ultérieures de F1 et F9 présentées dans le brevet.

Tableau 4-1 Effet de différents paramètres sur la taille, sa distribution et l'encapsulation

Formulation	Vitesse mélangeur (rpm)	PEAU %	PVA %	E1 (min)	E2 (min)	IBU mass (g)	Distribution normale (Y/N)?	Taille moyenne (nm)	[IBU] (mg/ml)
F1	30 000	12.5	10	1	10	0.5	Y	421	10.9
F2	30 000	12.5	10	1	10	1	N		
F3	30 000	12.5	5	1	10	0.5	Y	464	
F4	30 000	12.5	5	1	10	1	N		
F5	30 000	12.5	10	5	10	0.5	Y	427	13.1
F6	30 000	12.5	10	5	20	0.5	Y	396	11.2
F7	30 000	20.0	10	1	10	1	Y	595	26.4
F8	30 000	25.0	10	1	10	1	Y	607	29.7
F9	30 000	30.0	10	1	10	1	Y	645	25.9

4.2 Effet du Tween80 sur la taille, PDI et le potentiel zeta

Pour stabiliser les formulations d'intérêt ainsi que pour aider à diminuer la taille des nanosphères, le surfactant Tween80, aussi nommé Polysorbate 80, a été ajouté aux formulations suivant l'étape d'évaporation de solvant. Pour établir l'impact du Polysorbate 80 sur la formulation, les paramètres comme la taille, indice de polydispersité ainsi que le potentiel zeta ont été quantifiés. Les observations ont été réalisées avec des nanosphères contenant de l'IBU, ce qui a permis d'observer l'influence de sa présence et de celle du surfactant sur divers paramètres intrinsèques aux nanosystèmes, ainsi qu'un contrôle sans IBU. Les mesures de taille et de PDI sont le résultat de la moyenne de 10 résultats d'une formulation en triplicata préparée simultanément. Les mesures de potentiel zeta ont été obtenues des mêmes formulations, mais 20 mesures ont été prises plutôt que 10. Les résultats sont présentés dans les Figures 4-1 à 4-6.

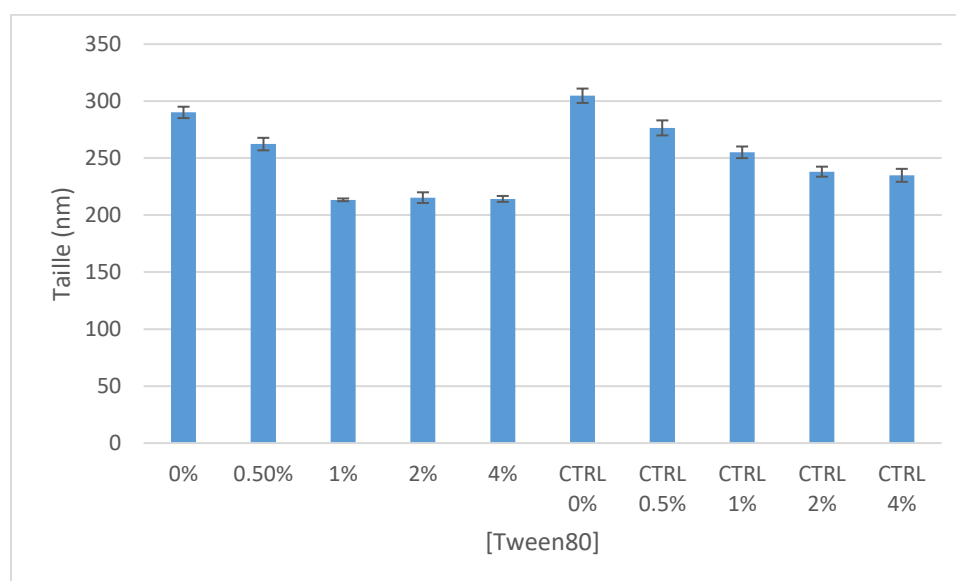


Figure 4-1 Taille des nanosphères F1, avec et sans (CTRL) ibuprofène en fonction de la concentration de Tween80

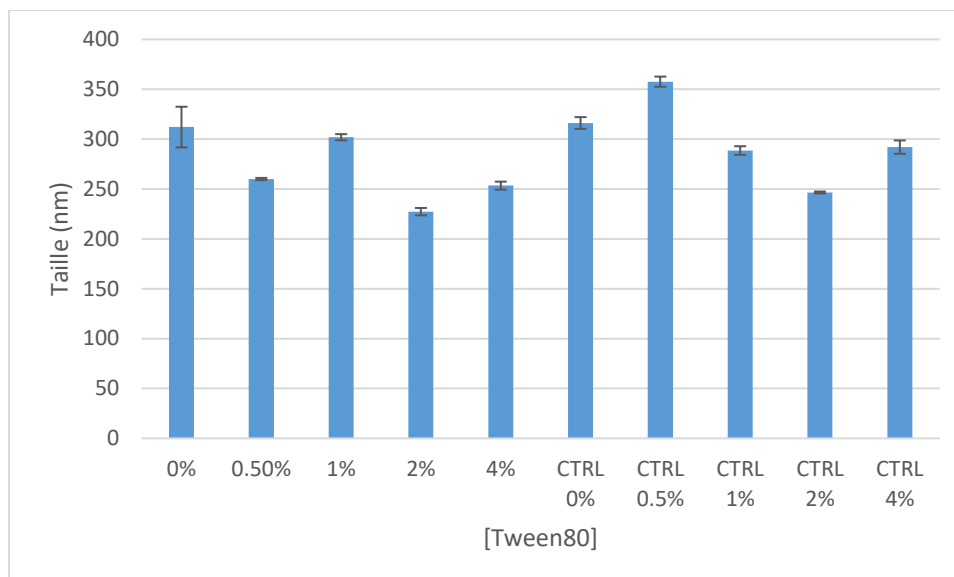


Figure 4-2 Taille des nanosphères F9, avec et sans (CTRL) ibuprofène en fonction de la concentration de Tween80

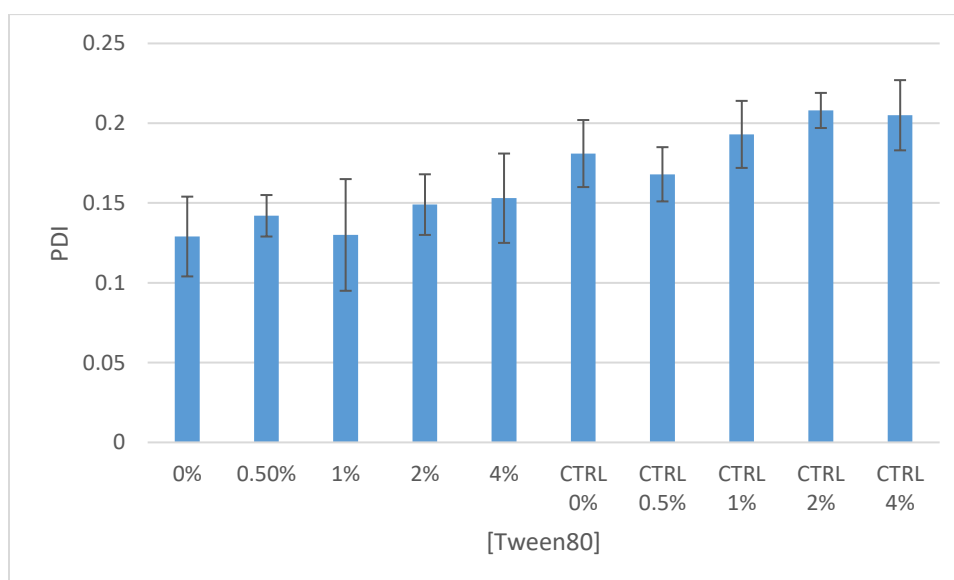


Figure 4-3 Indice de polydispersité (PDI) de F1, avec et sans (CTRL) ibuprofène en fonction de la concentration de Tween80

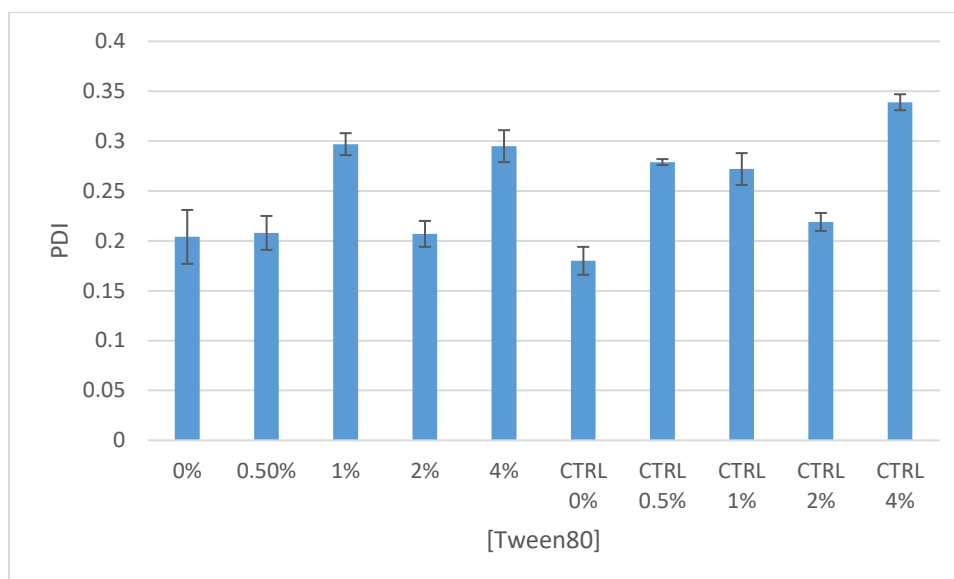


Figure 4-4 Indice de polydispersité (PDI) de F9, avec et sans (CTRL) ibuprofène en fonction de la concentration de Tween80

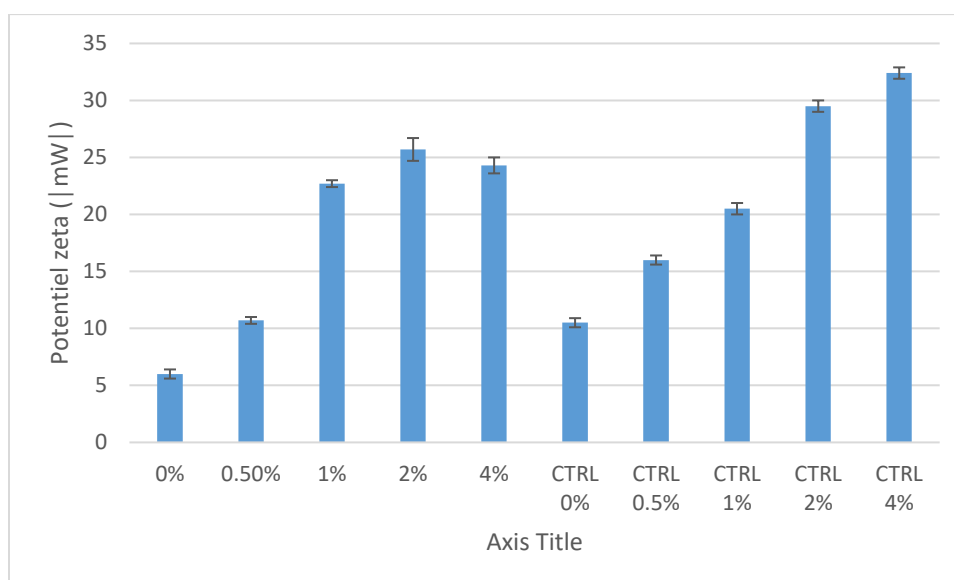


Figure 4-5 Potentiel zeta des nanosphères de F1, avec et sans (CTRL) ibuprofène en fonction de la concentration de Tween80

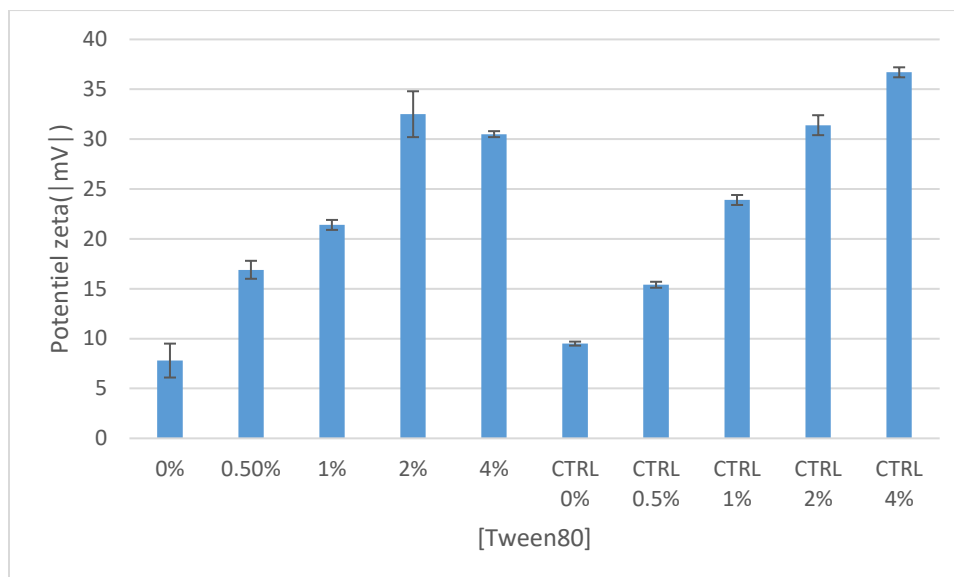


Figure 4-6 Potentiel zeta des nanosphères de F1, avec et sans (CTRL) ibuprofène en fonction de la concentration de Tween80

4.3 Efficacité d'encapsulation

Afin de calculer l'efficacité d'encapsulation (EE), les formulations furent diluées, centrifugées et lavées à répétitions, permettant ainsi de séparer les nanosphères de la solution aqueuse de PVA. Les nanosphères sont ensuite dissoutes à l'aide du DCM et centrifugées. Les nanosphères sont resuspendues avant d'être analysées au HPLC. La formule utilisée pour le calcul de l'efficacité d'encapsulation est la suivante :

$$EE(\%) = \frac{\text{Valeur d'analyse} \left(\frac{mg}{mL} \right)}{\text{Valeur théorique contrôle} \left(\frac{mg}{mL} \right)} \times 100$$

La valeur théorique de contrôle représente la valeur théorique d'ibuprofène dans la solution en présumant que la totalité de la masse d'ibuprofène utilisée, ce qui est ensuite ajustée avec l'aide d'un contrôle suspendu dans la même phase mobile que l'échantillon. La valeur d'analyse est la valeur offerte par le HPLC. La tendance est qu'une plus grande concentration de polymère augmente l'efficacité d'encapsulation, alors que l'ajout du Tween80 semble la réduire considérablement. Les autres paramètres ne semblent pas affecter significativement l'efficacité d'encapsulation.

4.4 Morphologie

Comme mentionné dans les objectifs, la morphologie des nanosphères est un paramètre important à identifier vu son impact sur de nombreuses caractéristiques, notamment le temps de circulation et la capacité d'interaction avec les cellules[65]. Dans ces photos, prises au SEM ou cryo-SEM, il a été possible d'observer la morphologie. Les formulations étaient diluées 1:100 avant d'être séchées sur un morceau de papier d'aluminium jusqu'à leur dessiccation complète et recouverte d'une fine couche de chrome. On peut observer, sur les photos, que les nanosphères ont tendance à se retrouver à l'endroit où le PVA et le papier d'aluminium font leur contact, mais sont aussi présentes dans le PVA (Figure 4-8 et 4-9). Il est aussi possible de remarquer que les contrôles sans IBU ne présentent pas de nanosphères visibles.

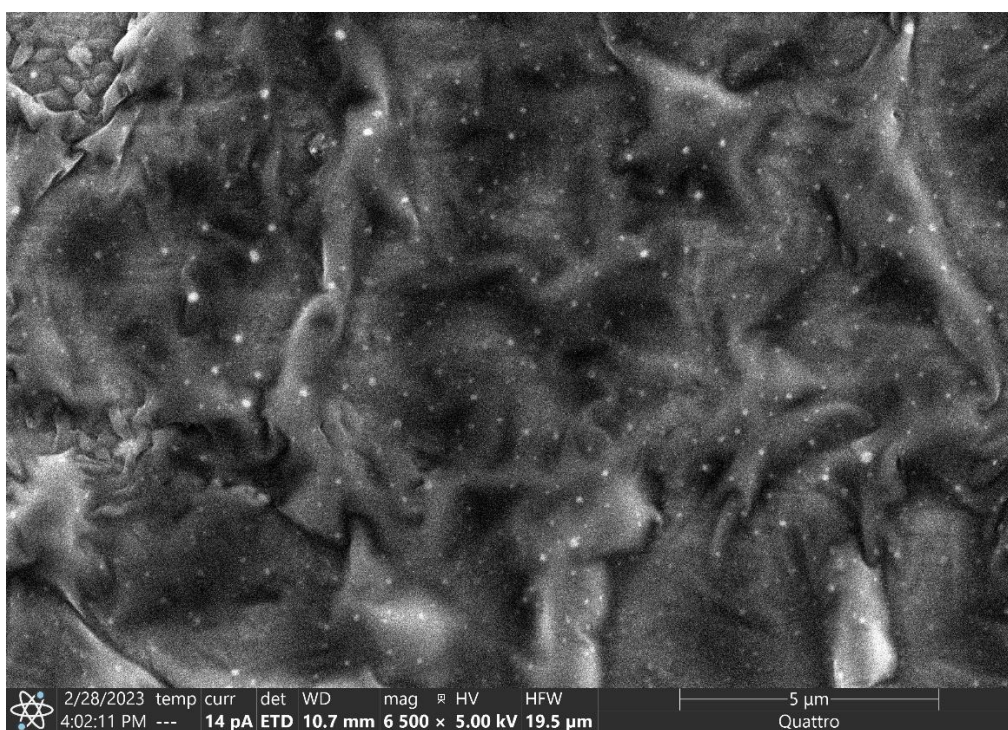


Figure 4-7 Nanosphères (points blancs) de la F1 engommés dans du PVA résiduel (gris foncé avec des replis). Photo prise au SEM

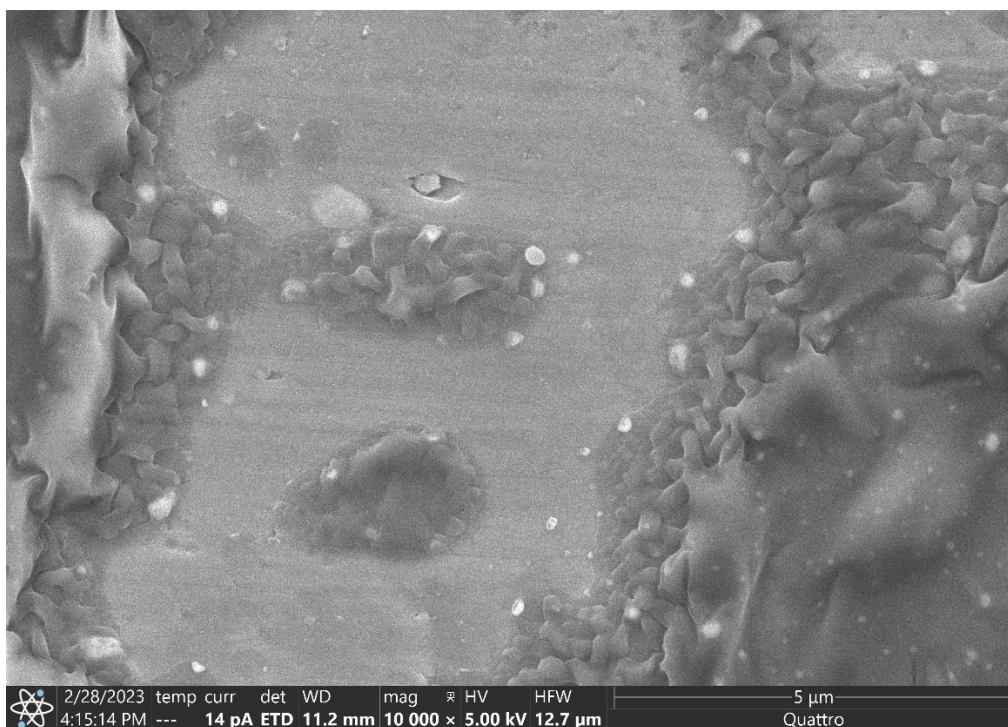


Figure 4-8 Nanosphères (structure circulaire blanches) de F1 en bordure et dans le PVA (gris foncé) sur le papier d'aluminium (gris pale). Photo prise au SEM

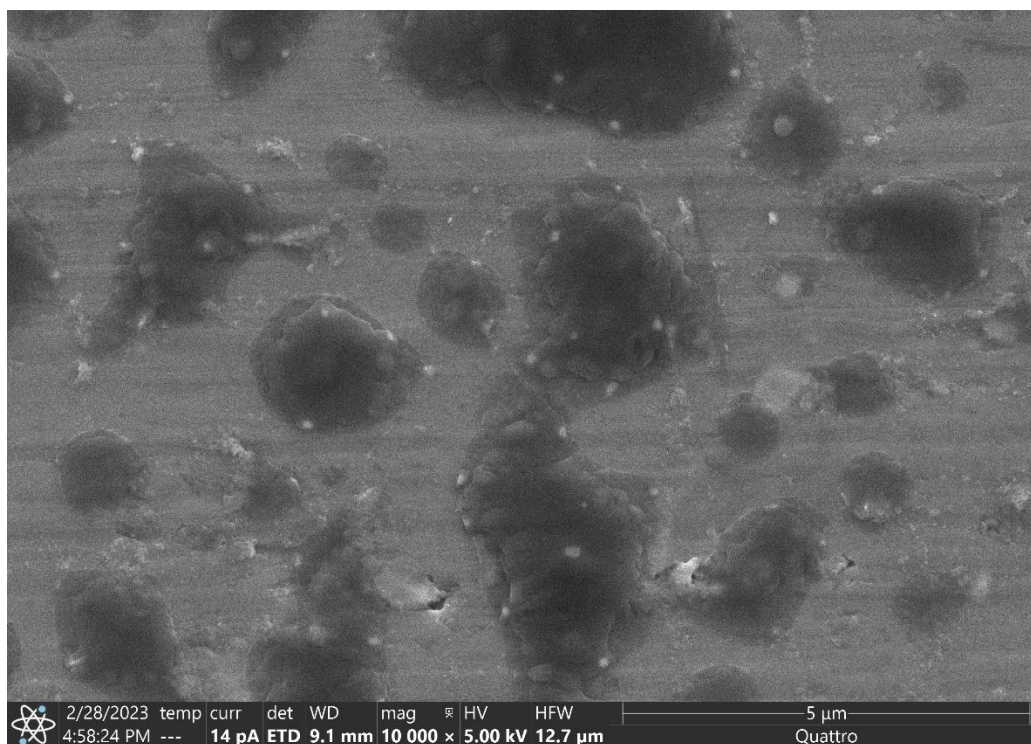


Figure 4-9 Nanosphères (structure circulaire blanches) de F9 en bordure et dans le PVA (gris foncé) sur le papier d'aluminium (gris pale). Photo prise au SEM

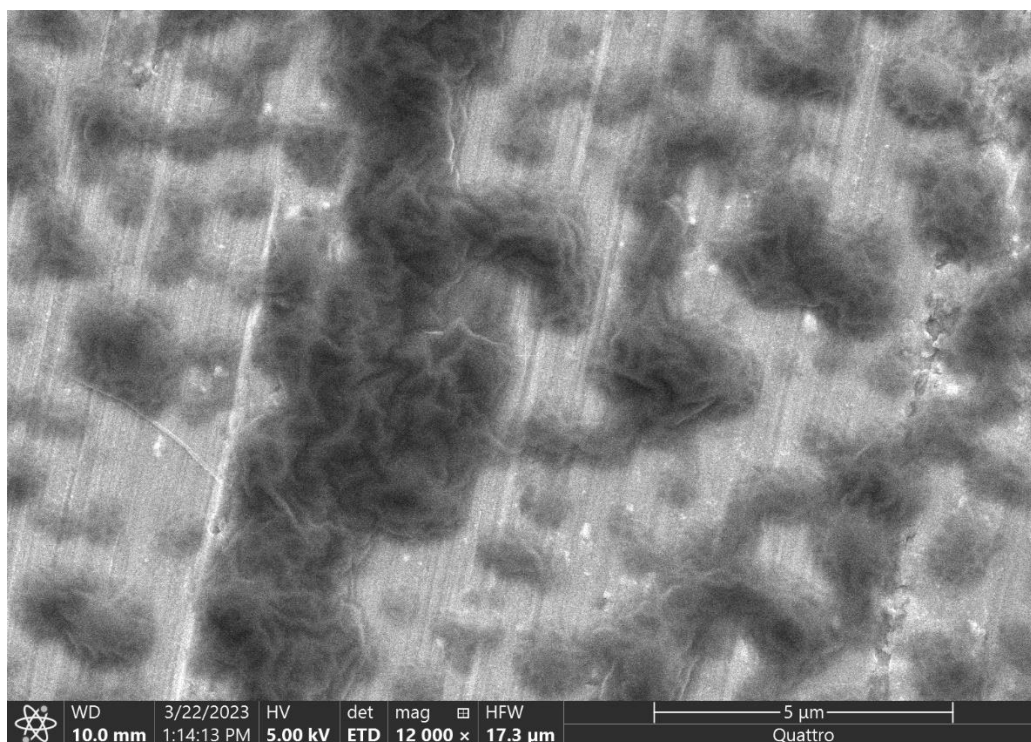


Figure 4-10 PVA sur papier d'aluminium du contrôle F9

CHAPITRE 5 DISCUSSION GÉNÉRALE

Les maladies inflammatoires chroniques sont une réalité qui affecte une proportion croissante de la population. Elles sont souvent traitées de manière efficace avec une combinaison de traitements anti-inflammatoires et de prise de NSAIDs, comme mentionné au Chapitre 2. Cependant, le dosage, la méthode d'administration, la fréquence et la durée de la prise des NSAIDs sont des facteurs qui favorisent l'apparition d'effets secondaires, notamment au niveau du système digestif, des reins et de la voie de coagulation. L'administration orale est en partie responsable de ces effets. La voie topique est donc proposée pour diminuer l'exposition de l'organisme au médicament. Pour permettre la distribution de l'ingrédient actif à travers la barrière complexe qu'est la peau, un nanosystème à base de nanosphères polymériques contenant l'agent actif a été développé. Les ingrédients qui composent la formulation (PEAU, PVA et Tween80) sont tous approuvés pour leur application prévue par les autorités compétentes (FDA, Santé Canada). Dans le cas du PVA, plusieurs rapports de la FDA ont été publiés, le dernier datant de février 2022 et tous reconnaissent le PVA comme étant généralement sans danger (GRAS 1058). Dans le cas du Tween80, celui-ci fait partie de la liste d'ingrédients inactifs de la FDA et est considéré comme généralement sans danger pour l'ingestion dans un rapport en cours (CFR Title 21). Les structures colloïdales créées sont ensuite caractérisées.

Le premier paramètre, qui n'est pas présenté dans les résultats, correspond au type de nanoparticule polymérique choisi. En effet, dans la première itération, le véhicule d'administration choisi était la nanocapsule plutôt que la nanosphère, où l'ibuprofène était suspendu en phase liquide à l'intérieur d'une nanocapsule de PEAU. La nature de ces phases internes est variable et celles des travaux préliminaires de Phagelux Canada Inc, desquels ce projet est inspiré, sont de nature aqueuse afin de permettre la solubilisation de phages thérapeutiques. Toutefois, cela apporte une problématique dans le cas où il s'agit du lieu prévu de localisation de l'IBU, composé qui est hautement hydrophobe (solubilité dans l'eau de 21 mg/L). Les premiers essais consistaient à intégrer un solvant organique à la phase interne pour permettre la solubilisation. Cette avenue a été abandonnée lorsqu'il a été constaté que la présence interne de solvants organiques empêche la formation de nanocapsules, probablement puisque le polymère est soluble dans les solvants organiques, causant l'instabilité de la membrane polymérique. La deuxième itération faisait ensuite l'utilisation de l'acide oléique (OA), un acide gras, pour la composition de la phase interne, puisque l'ibuprofène

possède une certaine lipophilicité (solubilité dans OA= 300mg/ml) et que l'acide oléique agit comme un agent perméabilisant bien connu et utilisé pour le transport transdermal de médicaments. Il s'agit aussi d'un composé retrouvé couramment dans les produits cosmétiques.[66] Dans ces conditions, des nanocapsules étaient créées, mais, en raison de la nature aqueuse de la phase de dispersion et à l'hydrophobicité extrême de l'huile, il était impossible, lors du lavage, de récupérer séparément les nanocapsules, le surnageant et l'huile non encapsulée afin de quantifier l'IBU dans chacune des composantes de la suspension. Pour ces raisons, la troisième itération, l'objet du présent brevet et mémoire, fait usage de la partie de la méthode où le polymère est solubilisé dans le DCM afin de produire des nanosphères plus adaptées au transport du composé actif hautement hydrophobe sans avoir à modifier la nature de la phase de dispersion, qui reste aqueuse. En mélangeant directement le médicament hautement soluble dans le DCM au polymère, il a été possible de créer des nanosphères de polyester amide urée qui piègent dans leur matrice l'IBU, comme le montre la figure 2-3e. Cette composition est avantageuse comparativement aux liposomes et aux émulsions. Selon des études, ces derniers ont du mal à pénétrer en profondeur dans la couche supérieure de la peau en raison de leurs interactions avec certaines composantes cutanées.[67]

Après avoir défini le type de nanoparticule polymérique et afin d'observer leur effet sur la taille des nanoparticules, les différents paramètres (quantité de polymère ou d'agent stabilisant (PVA), temps d'homogénéisation, masse d'agent actif) furent testés à différentes valeurs. Ces valeurs, étant donné l'originalité du polymère PEAU, sont inspirées de plusieurs articles qui tentent également de produire des nanoparticules polymériques pour le transport de médicaments. Le premier critère à observer était la distribution de taille des nanosphères. Ce critère a été ajouté a posteriori, suite à la réalisation qu'en absence d'une quantité suffisante de polymère pour capturer l'ibuprofène (Tableau 4-1, F2 et F4), il était possible d'observer une population vers les 10-100 microns (vs la population attendue environnant 400 nm). Cette population a plus tard été identifiée comme étant des cristaux d'ibuprofènes qui n'ont pas été englobés (Voir annexe A-1). Afin de pallier cette perte et de tout de même présenter une option de la formulation avec une relativement haute quantité d'agent actif (F1= ~1.5% w/v), des formulations additionnelles ont été créées avec de plus hautes concentrations de polymère. Les taux d'augmentation sont arbitraires, quoiqu'inspirés des concentrations observées dans plusieurs articles avec un but similaire, tout en prenant en compte que l'ibuprofène nécessite davantage de polymère dans lequel il peut se disperser. La quantité de

polymère augmentait légèrement la taille des nanoparticules, un phénomène qui est également observable dans la littérature.[68] La formulation F8 du Tableau 4-1 a ensuite été sélectionnée pour les tests de stabilité avant de devenir la formulation F9 présentée dans le brevet. Comme il est possible d'observer dans le Tableau 4-1 ainsi que dans la littérature, la taille des nanosphères est inversement proportionnelle à la concentration de PVA utilisée.[69] Dans le cas présent, le PVA agit probablement comme surfactant en s'associant avec les parois des nanosphères, empêchant l'agglomération des particules par encombrement stérique.[70] Par contre, il y a aussi évidence que lorsque le PVA est utilisé en haute concentration dans la phase de dispersion, il augmente la viscosité de la solution, inhibant et défavorisant les interactions interparticulaires, ce qui stabilise davantage la suspension colloïdale.[71] Les temps d'homogénéisation sont aussi des paramètres couramment associés à la taille des nanoparticules qui ont été testées. Afin de faire des observations marquées, les temps d'émulsion étaient significativement différents entre eux. Les temps E1 de 1 ou 5 minutes n'ont pas présenté d'effets sur taille des nanosphères alors que le temps E2 de 20 minutes plutôt que 10 minutes montrait une légère réduction de la taille des nanoparticules.

Pour réduire davantage la taille des nanoparticules vers une valeur médiane d'environ 200 nm, du Tween 80, utilisé à titre de co-surfactant, fut ajouté aux 2 formulations les plus prometteuses, F1 et F8. D'après les résultats de la Figure 4-1, l'ajout du Tween80 fait diminuer la taille des nanosphères proportionnellement à sa concentration jusqu'à l'atteinte d'un plateau à 1%. Le contrôle se comporte de manière similaire, mais présente des valeurs légèrement plus élevées, particulièrement pour les formulations contenant 1% et plus, montrant que l'ibuprofène semble donc interagir avec le Tween80 et qu'ils contribuent ensemble à diminuer la taille. Toutefois, il est aussi possible qu'en augmentant la concentration de Tween80, on obtienne un nombre plus important de micelles de Tween80 et que cette diminution de taille soit réellement un effet de perception du zêta sizer, qui offre une valeur moyenne(Z-average) basée sur la quantité d'observation faite pour une taille X. Dans la Figure 4-2, la concentration de 2% de Tween80 présente la taille la plus petite.

Le prochain paramètre d'observation est l'indice de polydispersité. Le PDI est utilisé pour représenter l'homogénéité des nanoparticules en fonction de leur taille. Plus cette valeur s'approche de zéro, plus les nanoparticules sont similaires entre elles. Dans le cas de F1, il est difficile d'en tirer des conclusions puisque les barres d'erreurs nous montrent que les différentes concentrations présentent toutes des valeurs de PDI similaires, avec une tendance vers des valeurs de PDI plus

élevée chez le contrôle (Figure 4-3). Pour F9, les PDIs entre les échantillons contenant de l'ibuprofène et le contrôle sont similaires entre eux, où la concentration de 2% montre encore le plus bas PDI.

Le Tween80 agit également en stabilisant la suspension colloïdale via son interaction avec l'interface polymère-eau, où il recouvre les nanosphères et limite les interactions entre les nanoparticules, inhibant l'agglomération. Avant cet ajout, il était possible d'observer un précipité dans les formulations après 1 semaine, possiblement un agglomérat des nanosphères. La stabilité des formulations a ensuite été quantifiée via la valeur du potentiel zêta. À titre de référence, une suspension colloïdale qui ne fait pas l'utilisation du principe d'encombrement stérique(ex : PEGylation) est stable pour une durée d'un an si elle présente un potentiel avoisinant les 30 mV, en valeur absolue. Pour les 2 formulations, la tendance observée montre une augmentation du potentiel zêta en fonction de la concentration de Tween80. Étant donné que les concentrations de 2 et 4% présentent des résultats similaires, la concentration de 2% a été choisie pour le brevet, et ce, pour les 2 formulations.

Les photos prises au microscope à balayage électronique permettent de valider la présence de nanoparticules, d'observer leur morphologie ainsi que de confirmer l'absence de cristaux d'ibuprofène (voir annexe A-1).

Finalement, en ce qui a trait à l'efficacité d'encapsulation, on remarque, en comparant le Tableau 4-1 et les Tableaux 3-2 et 3-4, qu'une concentration plus élevée de polymère semble permettre une meilleure efficacité d'encapsulation. Ce phénomène est expliqué dans la littérature par Lee et coll., qui montrent que dans les conditions où le rapport polymère/médicament est plus bas, l'ingrédient actif tend à se regrouper parce que la faible quantité de polymère ne permet pas une stabilité adéquate.[72] Cela expliquerait les cristaux qu'il était possible d'observer dans les formulations contenant 12.5% de PEAU avec une masse d'IBU de 1000mg. Une autre observation intéressante à faire est l'impact de Tween80 sur l'efficacité d'encapsulation. En effet, la même formulation, F1, avec et sans Tween80, présente des EE différentes de 78% et 42%, respectivement. La tendance est similaire avec F8 du Tableau 4-1 et F9 du Tableau 3-4, présentant des valeurs de 95% et 71%, respectivement. Dans une étude similaire par Sharma et al., où des nanoparticules de PLGA sont chargées de paclitaxel, les effets rapportés sur l'efficacité d'encapsulation sont qu'une concentration croissante de Tween80 diminuait l'efficacité d'encapsulation.[73] Ces observations

ont été faites avec des concentrations croissantes de Tween80, où, dû à la concentration micellaire critique très basse du Tween80 (0.0014%), les monomères de Tween80, qui sont normalement utilisés pour leur capacité à adhérer sur la surface des nanoparticules, forment des micelles, laissant moins de monomères disponibles pour empêcher la diffusion de l'agent actif en dehors des nanoparticules.[73] Dans le cas présent, il est possible que l'efficacité d'encapsulation supérieure obtenue en présence d'une concentration plus élevée de Tween80 puisse indiquer que les micelles formées sont capables de capter une partie de l'ibuprofène libre en solution. L'hypothèse serait donc que la solution serait composée de 2 types de nanoparticules : des nanosphères de PEAU ainsi que des micelles de Tween 80, les deux contenant de l'ibuprofène. La capacité des micelles de Tween80 à encapsuler des composés lipophiles est un phénomène qui a été observé dans la littérature.[74] Pour valider cette hypothèse, le Tween80 devrait être alors utilisé à des concentrations inférieures à sa concentration micellaire critique. Une autre observation intéressante de l'expérience de Sharma et ses collègues est qu'en utilisant la vitamine E TPGS, un co-surfactant qui présente une concentration micellaire critique de 0.025% (vs 0.0014% avec le Tween80), ils observaient une augmentation de l'efficacité d'encapsulation avant d'observer une diminution si la concentration continuait d'être augmentée. Une alternative intéressante serait donc de remplacer le Tween80 par un co-surfactant possédant une concentration micellaire critique supérieure.

CHAPITRE 6 CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

Les maladies chroniques inflammatoires sont un enjeu important dans la société d'aujourd'hui. Elles sont débilantes et, avec un mode de vie plus sédentaire que jamais, la prévalence de ces conditions ne risque que d'augmenter d'année en année. Leur traitement actuel, quoiqu'efficace, présente des risques réels et non négligeables associés à la prise constante de NSAIDs, le traitement de première ligne. Afin de diminuer le risque d'apparition de ces symptômes, il est proposé de faire l'utilisation des nanotechnologies, particulièrement les nanoparticules polymériques, pour un traitement topique local des patients atteints d'arthrite, la manifestation clinique la plus commune des maladies chroniques inflammatoires articulaires. Les nanosphères créées protégeront l'ingrédient actif en plus de livrer de façon locale l'ibuprofène, diminuant ainsi l'exposition systémique problématique associée avec la prise orale. Les formulations se distingueront du marché actuel de traitement topique à ibuprofène par leur utilisation de composés ne nécessitant pas l'assistance d'agents perméabilisants irritants pour faire effet.

Les objectifs ont donc été partiellement atteints, soit par la conception de nanoparticules de poly(ester) amide urée chargées d'ibuprofène ainsi que par leur caractérisation. Les concentrations de polymère et de surfactants/co-surfactants semblent avoir le plus d'influence sur les paramètres propres aux systèmes nanocolloïdaux de livraison de médicaments tels que la taille, l'indice de polydispersité, la stabilité et l'efficacité d'encapsulation. Il serait pertinent pour des essais futurs de passer d'une approche rationnelle vers une approche plutôt combinatoire afin de réduire les tâtonnements et augmenter le nombre de résultats. Une autre alternative possible serait de tester l'impact du Tween80 sur l'EE, en utilisant d'autres surfactants ou co-surfactants, comme la vitamine E TPGS, pour conserver une efficacité d'encapsulation acceptable tout en conférant la stabilité et la taille apportées par le Tween80. Une expérience subséquente vitale pour ce projet ferait aussi l'étude de la diffusion à travers une membrane, synthétique ou naturelle, pour identifier la cinétique de diffusion des nanosphères. Les paramètres de diffusion sont le coefficient de diffusion, la concentration de l'agent actif encapsulé, et le coefficient de partition du médicament. Ces paramètres sont influencés par la nature de l'ingrédient actif, l'affinité médicament-véhicule de livraison, l'épaisseur de la membrane, etc. Une étude de relâche en conditions physiologiques serait aussi une étape importante afin d'étudier la vitesse de relâche du composé actif.

RÉFÉRENCES

- [1] I. B. McInnes and G. Schett, “The pathogenesis of rheumatoid arthritis,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 365, no. 23, pp. 2205–2219, Dec. 2011, doi: 10.1056/NEJMra1004965.
- [2] CDC, “Arthritis,” Centers for Disease Control and Prevention. Accessed: Sep. 15, 2022. [Online]. Available: <https://www.cdc.gov/chronicdisease/resources/publications/factsheets/arthritis.htm>
- [3] L. B. Murphy, M. G. Cisternas, D. J. Pasta, C. G. Helmick, and E. H. Yelin, “Medical Expenditures and Earnings Losses Among US Adults With Arthritis in 2013,” *Arthritis Care Res.*, vol. 70, no. 6, pp. 869–876, Jun. 2018, doi: 10.1002/acr.23425.
- [4] “Arthritis Facts, Figures and Statistics.” Accessed: Sep. 27, 2022. [Online]. Available: <https://arthritis.ca/about-arthritis/what-is-arthritis/arthritis-facts-and-figures>
- [5] P. H. A. of Canada, “Chapter 6: Life with arthritis in Canada: a personal and public health challenge – Economic burden of arthritis.” Accessed: Sep. 27, 2022. [Online]. Available: <https://www.canada.ca/en/public-health/services/chronic-diseases/arthritis/life-arthritis-canada-a-personal-public-health-challenge/chapter-six-economic-burden-of-arthritis.html>
- [6] “Arthritis Community Research Evaluation Unit (ACREU).” Accessed: Jun. 05, 2023. [Online]. Available: <http://www.acreu.ca/>
- [7] K. D. Rainsford, “Ibuprofen: from invention to an OTC therapeutic mainstay,” *Int. J. Clin. Pract.*, vol. 67, no. s178, pp. 9–20, 2013, doi: 10.1111/ijcp.12055.
- [8] D. C. Baranowski, B. Buchanan, H. C. Dwyer, J. P. Gabriele, S. Kelly, and J. A. Araujo, “Penetration and efficacy of transdermal NSAIDs in a model of acute joint inflammation,” *J. Pain Res.*, vol. 11, pp. 2809–2819, Nov. 2018, doi: 10.2147/JPR.S177967.
- [9] Z. A. Marcum and J. T. Hanlon, “Recognizing the Risks of Chronic Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drug Use in Older Adults,” *Ann. Long-Term Care Off. J. Am. Med. Dir. Assoc.*, vol. 18, no. 9, pp. 24–27, 2010.
- [10] F. Bariguian Revel, M. Fayet, and M. Hagen, “Topical Diclofenac, an Efficacious Treatment for Osteoarthritis: A Narrative Review,” *Rheumatol. Ther.*, vol. 7, no. 2, pp. 217–236, Jun. 2020, doi: 10.1007/s40744-020-00196-6.
- [11] M. N. V. Ravi Kumar and N. Kumar\$, “Polymeric Controlled Drug-Delivery Systems: Perspective Issues and Opportunities,” *Drug Dev. Ind. Pharm.*, vol. 27, no. 1, pp. 1–30, Jan. 2001, doi: 10.1081/DDC-100000124.
- [12] “Osteoarthritis (OA) | Arthritis | CDC.” Accessed: Feb. 22, 2023. [Online]. Available: <https://www.cdc.gov/arthritis/basics/osteoarthritis.htm>
- [13] G. Man and G. Mologhianu, “Osteoarthritis pathogenesis – a complex process that involves the entire joint,” *J. Med. Life*, vol. 7, no. 1, pp. 37–41, Mar. 2014.
- [14] Y.-J. Lin, M. Anzaghe, and S. Schülke, “Update on the Pathomechanism, Diagnosis, and Treatment Options for Rheumatoid Arthritis,” *Cells*, vol. 9, no. 4, p. E880, Apr. 2020, doi: 10.3390/cells9040880.

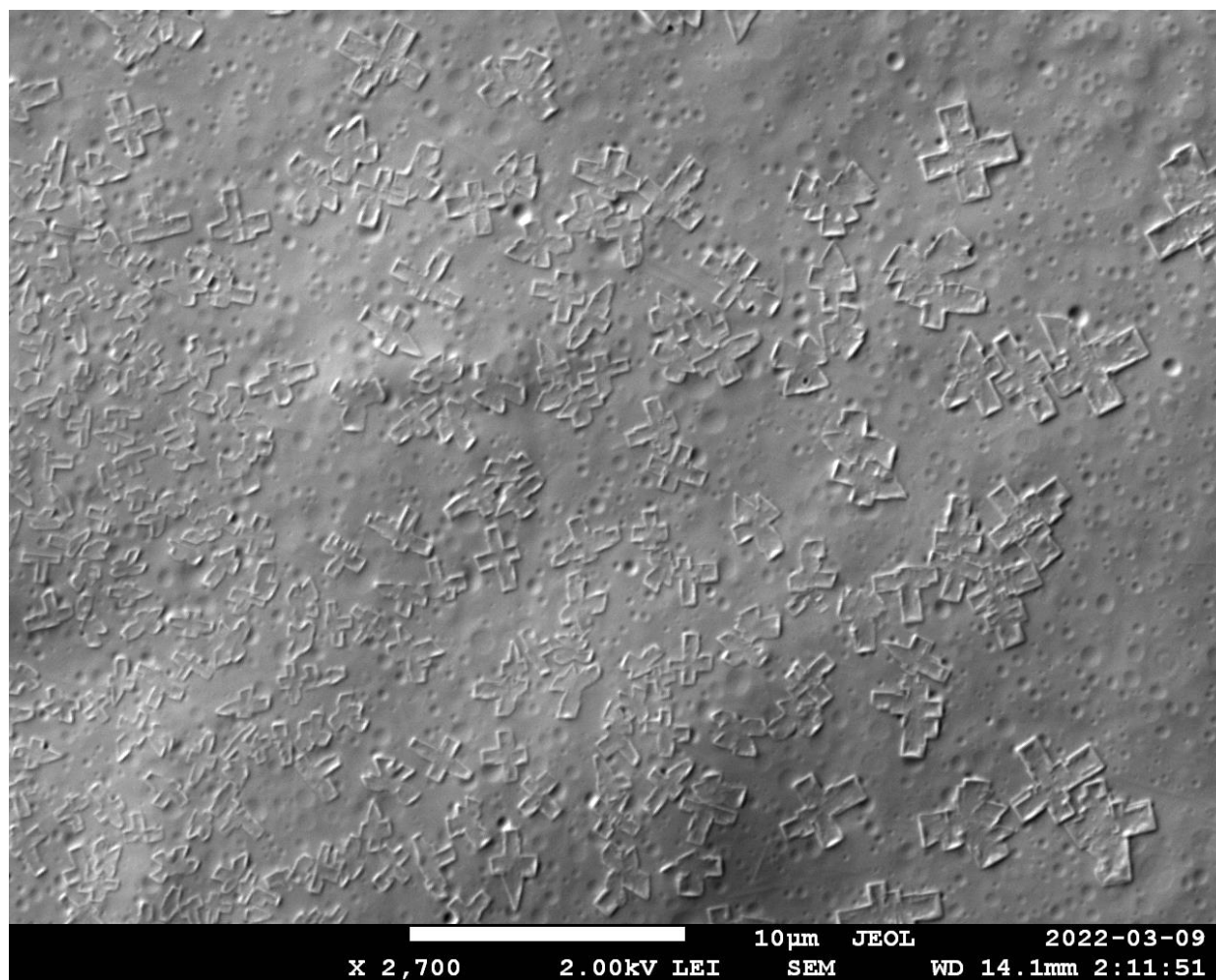
- [15] M. Cojocaru, I. M. Cojocaru, I. Silosi, C. D. Vrabie, and R. Tanasescu, "Extra-articular Manifestations in Rheumatoid Arthritis," *Mædica*, vol. 5, no. 4, pp. 286–291, Dec. 2010.
- [16] C. Alvarez, I. Núñez, J. J. Torrado, J. Gordon, H. Potthast, and A. García-Arieta, "Investigation on the possibility of biowaivers for ibuprofen," *J. Pharm. Sci.*, vol. 100, no. 6, pp. 2343–2349, Jun. 2011, doi: 10.1002/jps.22472.
- [17] N. M. Davies, "Clinical Pharmacokinetics of Ibuprofen," *Clin. Pharmacokinet.*, vol. 34, no. 2, pp. 101–154, Feb. 1998, doi: 10.2165/00003088-199834020-00002.
- [18] N. M. Davies, "Clinical pharmacokinetics of ibuprofen. The first 30 years," *Clin. Pharmacokinet.*, vol. 34, no. 2, pp. 101–154, Feb. 1998, doi: 10.2165/00003088-199834020-00002.
- [19] "Chiral separations - ProQuest." Accessed: Nov. 03, 2022. [Online]. Available: <https://www.proquest.com/openview/7327e0c2d7bbd609c9557102213c3c60/1?pq-origsite=gscholar&cbl=7879>
- [20] T. S. Tracy, D. P. Wirthwein, and S. D. Hall, "Metabolic inversion of (R)-ibuprofen. Formation of ibuprofenyl-coenzyme A," *Drug Metab. Dispos. Biol. Fate Chem.*, vol. 21, no. 1, pp. 114–120, Feb. 1993.
- [21] L. L. Mazaleuskaya *et al.*, "PharmGKB summary: ibuprofen pathways," *Pharmacogenet. Genomics*, vol. 25, no. 2, pp. 96–106, Feb. 2015, doi: 10.1097/FPC.0000000000000113.
- [22] K. D. Rainsford, *Ibuprofen: Pharmacology, Therapeutics and Side Effects*. Basel: Springer, 2012. doi: 10.1007/978-3-0348-0496-7.
- [23] K. D. Rainsford, "Ibuprofen: pharmacology, efficacy and safety," *Inflammopharmacology*, vol. 17, no. 6, pp. 275–342, Dec. 2009, doi: 10.1007/s10787-009-0016-x.
- [24] Q. Che *et al.*, "Enantioselective skin permeation of ibuprofen enantiomers: mechanistic insights from ATR-FTIR and CLSM studies based on synthetic enantiomers as naphthalimide fluorescent probes," *Expert Opin. Drug Deliv.*, vol. 11, no. 10, pp. 1513–1523, Oct. 2014, doi: 10.1517/17425247.2014.929661.
- [25] K. Brune, "Persistence of NSAIDs at effect sites and rapid disappearance from side-effect compartments contributes to tolerability," *Curr. Med. Res. Opin.*, vol. 23, no. 12, pp. 2985–2995, Dec. 2007, doi: 10.1185/030079907X242584.
- [26] E. Ricciotti and G. A. FitzGerald, "Prostaglandins and Inflammation," *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, vol. 31, no. 5, pp. 986–1000, May 2011, doi: 10.1161/ATVBAHA.110.207449.
- [27] L. S. Simon, "Role and regulation of cyclooxygenase-2 during inflammation," *Am. J. Med.*, vol. 106, no. 5, Supplement 2, pp. 37S–42S, May 1999, doi: 10.1016/S0002-9343(99)00115-1.
- [28] B. Wang *et al.*, "Metabolism pathways of arachidonic acids: mechanisms and potential therapeutic targets," *Signal Transduct. Target. Ther.*, vol. 6, no. 1, Art. no. 1, Feb. 2021, doi: 10.1038/s41392-020-00443-w.
- [29] J. Prabhakaran, A. Molotkov, A. Mintz, and J. J. Mann, "Progress in PET Imaging of Neuroinflammation Targeting COX-2 Enzyme," *Molecules*, vol. 26, no. 11, Art. no. 11, Jan. 2021, doi: 10.3390/molecules26113208.

- [30] D. M. Southall, L. R. Michael, and R. M. Vasko, "Intrathecal NSAIDs attenuate inflammation-induced neuropeptide release from rat spinal cord slices," *Pain*, vol. 78, no. 1, pp. 39–48, Oct. 1998, doi: 10.1016/S0304-3959(98)00113-4.
- [31] H. Zj, H. E, L. Hc, R. Al, R. Rl, and S. Xj, "Topical application of compound Ibuprofen suppresses pain by inhibiting sensory neuron hyperexcitability and neuroinflammation in a rat model of intervertebral foramen inflammation," *J. Pain*, vol. 12, no. 1, Jan. 2011, doi: 10.1016/j.jpain.2010.06.008.
- [32] A. M. Evans, "Pharmacodynamics and pharmacokinetics of the profens: enantioselectivity, clinical implications, and special reference to S(+)-ibuprofen," *J. Clin. Pharmacol.*, vol. 36, no. 12 Suppl, pp. 7S-15S, Dec. 1996.
- [33] C. Iadecola and P. B. Gorelick, "The Janus Face of Cyclooxygenase-2 in Ischemic Stroke," *Stroke*, vol. 36, no. 2, pp. 182–185, Feb. 2005, doi: 10.1161/01.STR.0000153797.33611.d8.
- [34] S. Tong-Ngork, "Oral Versus Topical Ibuprofen for Chronic KneePain: A Prospective Randomized Pilot Study," *Pain Physician*, vol. 5;13, no. 5;9, pp. 457–467, Sep. 2010, doi: 10.36076/ppj.2010/13/457.
- [35] M. Leeman, J. Choi, S. Hansson, M. U. Storm, and L. Nilsson, "Proteins and antibodies in serum, plasma, and whole blood—size characterization using asymmetrical flow field-flow fractionation (AF4)," *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 410, no. 20, pp. 4867–4873, 2018, doi: 10.1007/s00216-018-1127-2.
- [36] "A Normative Study of the Synovial Fluid Proteome from Healthy Porcine Knee Joints - PMC." Accessed: Jan. 12, 2023. [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4184458/>
- [37] A. L. Mäkelä, M. Lempiäinen, and H. Ylijoki, "Ibuprofen levels in serum and synovial fluid," *Scand. J. Rheumatol. Suppl.*, vol. 39, pp. 15–17, 1981, doi: 10.3109/03009748109095329.
- [38] R. Bushra and N. Aslam, "An Overview of Clinical Pharmacology of Ibuprofen," *Oman Med. J.*, vol. 25, no. 3, p. 155, Jul. 2010, doi: 10.5001/omj.2010.49.
- [39] M. Yasir, A. Goyal, and S. Sonthalia, "Corticosteroid Adverse Effects," in *StatPearls*, Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2022. Accessed: Feb. 28, 2023. [Online]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK531462/>
- [40] O. Benjamin, A. Goyal, and S. L. Lappin, "Disease Modifying Anti-Rheumatic Drugs (DMARD)," in *StatPearls*, Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2022. Accessed: Feb. 28, 2023. [Online]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507863/>
- [41] M. Rabiei, S. Kashanian, S. S. Samavati, H. Derakhshankhah, S. Jamasb, and S. J. P. McInnes, "Nanotechnology application in drug delivery to osteoarthritis (OA), rheumatoid arthritis (RA), and osteoporosis (OSP)," *J. Drug Deliv. Sci. Technol.*, vol. 61, p. 102011, Feb. 2021, doi: 10.1016/j.jddst.2020.102011.
- [42] M. S. Shive *et al.*, "BST-CarGel® Treatment Maintains Cartilage Repair Superiority over Microfracture at 5 Years in a Multicenter Randomized Controlled Trial," *Cartilage*, vol. 6, no. 2, pp. 62–72, Apr. 2015, doi: 10.1177/1947603514562064.
- [43] J. J. Hwang, Y. A. Rim, Y. Nam, and J. H. Ju, "Recent Developments in Clinical Applications of Mesenchymal Stem Cells in the Treatment of Rheumatoid Arthritis and Osteoarthritis,"

- Front. Immunol.*, vol. 12, 2021, Accessed: Jun. 30, 2023. [Online]. Available: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2021.631291>
- [44] “Introduction to Polymer Nanoparticles for Drug Delivery | Ascension Sciences.” Accessed: Apr. 05, 2023. [Online]. Available: <https://ascensionsciences.com/newsroom/technical-articles/introduction-polymer-nanoparticles-drug-delivery/>
- [45] R. Tenchov, R. Bird, A. E. Curtze, and Q. Zhou, “Lipid Nanoparticles—From Liposomes to mRNA Vaccine Delivery, a Landscape of Research Diversity and Advancement,” *ACS Nano*, vol. 15, no. 11, pp. 16982–17015, Nov. 2021, doi: 10.1021/acsnano.1c04996.
- [46] J. K. Patra *et al.*, “Nano based drug delivery systems: recent developments and future prospects,” *J. Nanobiotechnology*, vol. 16, no. 1, p. 71, Sep. 2018, doi: 10.1186/s12951-018-0392-8.
- [47] M. Ashtikar, K. Nagarsekar, and A. Fahr, “Transdermal delivery from liposomal formulations - Evolution of the technology over the last three decades,” *J. Control. Release Off. J. Control. Release Soc.*, vol. 242, pp. 126–140, Nov. 2016, doi: 10.1016/j.jconrel.2016.09.008.
- [48] I. Chauhan, M. Yasir, M. Verma, and A. P. Singh, “Nanostructured Lipid Carriers: A Groundbreaking Approach for Transdermal Drug Delivery,” *Adv. Pharm. Bull.*, vol. 10, no. 2, pp. 150–165, Jun. 2020, doi: 10.34172/apb.2020.021.
- [49] S. Cui *et al.*, “Correlation of the cytotoxic effects of cationic lipids with their headgroups,” *Toxicol. Res.*, vol. 7, no. 3, pp. 473–479, Mar. 2018, doi: 10.1039/c8tx00005k.
- [50] E. B. Souto, A. Cano, C. Martins-Gomes, T. E. Coutinho, A. Zielińska, and A. M. Silva, “Microemulsions and Nanoemulsions in Skin Drug Delivery,” *Bioengineering*, vol. 9, no. 4, Art. no. 4, Apr. 2022, doi: 10.3390/bioengineering9040158.
- [51] J. Zhang, A. Froelich, and B. Michniak-Kohn, “Topical Delivery of Meloxicam using Liposome and Microemulsion Formulation Approaches,” *Pharmaceutics*, vol. 12, no. 3, p. 282, Mar. 2020, doi: 10.3390/pharmaceutics12030282.
- [52] G. Li, Z. Zhang, H. Liu, and L. Hu, “Nanoemulsion-based delivery approaches for nutraceuticals: fabrication, application, characterization, biological fate, potential toxicity and future trends,” *Food Funct.*, vol. 12, no. 5, pp. 1933–1953, Mar. 2021, doi: 10.1039/D0FO02686G.
- [53] S. Sur, A. Rathore, V. Dave, K. R. Reddy, R. S. Chouhan, and V. Sadhu, “Recent developments in functionalized polymer nanoparticles for efficient drug delivery system,” *Nano-Struct. Nano-Objects*, vol. 20, p. 100397, Oct. 2019, doi: 10.1016/j.nanoso.2019.100397.
- [54] B. Begines *et al.*, “Polymeric Nanoparticles for Drug Delivery: Recent Developments and Future Prospects,” *Nanomaterials*, vol. 10, no. 7, p. 1403, Jul. 2020, doi: 10.3390/nano10071403.
- [55] E. Joseph and R. N. Saha, “Investigations on pharmacokinetics and biodistribution of polymeric and solid lipid nanoparticulate systems of atypical antipsychotic drug: effect of material used and surface modification,” *Drug Dev. Ind. Pharm.*, vol. 43, no. 4, pp. 678–686, Apr. 2017, doi: 10.1080/03639045.2016.1278014.

- [56] W. Gao, Y. Chen, D. H. Thompson, K. Park, and T. Li, "Impact of surfactant treatment of paclitaxel nanocrystals on biodistribution and tumor accumulation in tumor-bearing mice," *J. Control. Release Off. J. Control. Release Soc.*, vol. 237, pp. 168–176, Sep. 2016, doi: 10.1016/j.jconrel.2016.07.015.
- [57] J. P. Rao and K. E. Geckeler, "Polymer nanoparticles: Preparation techniques and size-control parameters," *Prog. Polym. Sci.*, vol. 36, no. 7, pp. 887–913, Jul. 2011, doi: 10.1016/j.progpolymsci.2011.01.001.
- [58] Q. Cai, T. Bai, H. Zhang, X. Yao, J. Ling, and W. Zhu, "Catalyst-free synthesis of polyesters via conventional melt polycondensation," *Mater. Today*, vol. 51, pp. 155–164, Dec. 2021, doi: 10.1016/j.mattod.2021.07.024.
- [59] M. Winnacker and B. Rieger, "Poly(ester amide)s: recent insights into synthesis, stability and biomedical applications," *Polym. Chem.*, vol. 7, no. 46, pp. 7039–7046, Nov. 2016, doi: 10.1039/C6PY01783E.
- [60] L. N. Woodard and M. A. Grunlan, "Hydrolytic Degradation and Erosion of Polyester Biomaterials," *ACS Macro Lett.*, vol. 7, no. 8, pp. 976–982, Aug. 2018, doi: 10.1021/acsmacrolett.8b00424.
- [61] P. Ossowicz *et al.*, "The effect of alcohols as vehicles on the percutaneous absorption and skin retention of ibuprofen modified with l -valine alkyl esters," *RSC Adv.*, vol. 10, no. 68, pp. 41727–41740, 2020, doi: 10.1039/D0RA06567F.
- [62] "Hazardous Substance Fact Sheet: Isopropyl alcohol." New Jersey Department of Health, Feb. 2016. [Online]. Available: <https://nj.gov/health/eoh/rtkweb/documents/fs/1076.pdf>
- [63] G. Honvo *et al.*, "Safety of Topical Non-steroidal Anti-Inflammatory Drugs in Osteoarthritis: Outcomes of a Systematic Review and Meta-Analysis," *Drugs Aging*, vol. 36, no. 1, pp. 45–64, Apr. 2019, doi: 10.1007/s40266-019-00661-0.
- [64] J.-K. Lee, A. A. Abbas, T.-E. Cheah, R. N. Simanjuntak, S. Sockalingam, and S. Roohi, "Topical nonsteroidal anti-inflammatory drugs for management of osteoarthritis pain: A consensus recommendation," *J. Orthop. Res.*, vol. 41, no. 9, pp. 1916–1924, 2023, doi: 10.1002/jor.25549.
- [65] R. Ridolfo, S. Tavakoli, V. Junnuthula, D. S. Williams, A. Urtti, and J. C. M. van Hest, "Exploring the Impact of Morphology on the Properties of Biodegradable Nanoparticles and Their Diffusion in Complex Biological Medium," *Biomacromolecules*, vol. 22, no. 1, pp. 126–133, Jan. 2021, doi: 10.1021/acs.biomac.0c00726.
- [66] B. Atef, R. A. H. Ishak, S. S. Badawy, and R. Osman, "Exploring the potential of oleic acid in nanotechnology-mediated dermal drug delivery: An up-to-date review," *J. Drug Deliv. Sci. Technol.*, vol. 67, p. 103032, Jan. 2022, doi: 10.1016/j.jddst.2021.103032.
- [67] H. Schreier and J. Bouwstra, "Liposomes and niosomes as topical drug carriers: dermal and transdermal drug delivery," *J. Controlled Release*, vol. 30, no. 1, pp. 1–15, Apr. 1994, doi: 10.1016/0168-3659(94)90039-6.
- [68] A. M. de Oliveira, E. Jäger, A. Jäger, P. Stepánek, and F. C. Giacomelli, "Physicochemical aspects behind the size of biodegradable polymeric nanoparticles: A step forward," *Colloids*

- Surf. Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 436, pp. 1092–1102, Sep. 2013, doi: 10.1016/j.colsurfa.2013.08.056.
- [69] M. F. Zambaux *et al.*, “Influence of experimental parameters on the characteristics of poly(lactic acid) nanoparticles prepared by a double emulsion method,” *J. Controlled Release*, vol. 50, no. 1, pp. 31–40, Jan. 1998, doi: 10.1016/S0168-3659(97)00106-5.
- [70] S. M. I. Morsy, “Role of Surfactants in Nanotechnology and Their Applications,” 2014.
- [71] T. Feczko, J. Tóth, and J. Gyenis, “Comparison of the preparation of PLGA–BSA nano- and microparticles by PVA, poloxamer and PVP,” *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 319, no. 1, pp. 188–195, Apr. 2008, doi: 10.1016/j.colsurfa.2007.07.011.
- [72] K. H. Lee, F. N. Khan, L. Cosby, G. Yang, and J. O. Winter, “Polymer Concentration Maximizes Encapsulation Efficiency in Electrohydrodynamic Mixing Nanoprecipitation,” *Front. Nanotechnol.*, vol. 3, 2021, Accessed: May 01, 2023. [Online]. Available: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnano.2021.719710>
- [73] J. U. Menon, S. Kona, A. S. Wadajkar, F. Desai, A. Vadla, and K. T. Nguyen, “Effects of surfactants on the properties of PLGA nanoparticles,” *J. Biomed. Mater. Res. A*, vol. 100, no. 8, pp. 1998–2005, Aug. 2012, doi: 10.1002/jbm.a.34040.
- [74] L.-L. Deng, M. Taxipalati, F. Que, and H. Zhang, “Physical characterization and antioxidant activity of thymol solubilized Tween 80 micelles,” *Sci. Rep.*, vol. 6, no. 1, Art. no. 1, Dec. 2016, doi: 10.1038/srep38160.

ANNEXE A FIGURES COMPLÉMENTAIRES

A-1 Cristaux d'ibuprofène dans du PVA, photo prise au SEM