

## **Préparation de liposomes fonctionnels pour l'encapsulation de composés bioactifs ou de sondes moléculaires fluorescentes pour l'imagerie cellulaire**

Richard Decréau (ICMUB) ; Elodie Gigot; Yann Bernhard; Victor Goncalves; Mathieu Moreau, ICMUB, UMR CNRS 6302, Bd Alain Savary, 21000 Dijon, e-mail: Richard.Decreau@u-bourgogne.fr

Nicolas Sok (AgroSup), UMR PAM, Univ. Bourgogne Franche-Comté – AgroSup Dijon  
1 Esplanade Erasme – 21000 Dijon, e-mail: nicolas.sok@agrosupdijon.fr

Mots clés : liposome, encapsulation, bioconjugaison de liposomes, liposomes fonctionnalisés, fluorophores, molécules bioactives, peptides

À l'Institut ICMUB, les liposomes SUV ont été utilisés pour l'encapsulation de fluorophores (subphthalocyanine) pour l'imagerie cellulaire,<sup>1</sup> et bioconjugués à un *peptide* (bombésine) en vue d'atteindre sélectivement une cible biologique.<sup>2</sup> Ceci est réalisé grâce à la modification structurale d'un constituant du liposome, le cholestérol, par introduction d'une fonction d'accroche. Les liposomes ainsi fonctionnalisés sur leur face externe peuvent alors réagir avec la fonction terminale du peptide. Après purification du liposome en FPLC un taux d'encapsulation de 15% est mesuré par UV/Vis et estimé par ICP, et le diamètre ( $d_{DLS}$  et  $d_{MET}$ ) est estimé entre 20 et 60 nm selon le type de fonction ou de groupement situé sur la face externe du liposome. Un suivi dans le temps a été effectué pour examiner la taille et la stabilité des liposomes. La même approche est en cours pour la conjugaison des liposomes à des *protéines*<sup>3</sup> ( $\beta$ -lactoglobuline) et *polysaccharide*<sup>4,5</sup> (chitosan et pectine) au sein de l'équipe PAPC (UMR PAM, AgroSup Dijon). L'objectif à terme sera d'obtenir des liposomes fonctionnels et stables dans les différents milieux d'études. Ces nano-objets seront soumis à différents stress physico-chimiques (pH, température, oxydation...) et leurs résistances seront analysées. Le glutathion sera encapsulé dans les liposomes et servira de capteur embarqué pour déterminer l'état d'oxydation du milieu. Ces systèmes constitueront également des modèles d'étude de choix pour mimer le comportement des membranes cellulaires.

1. Bernhard, Y.; Winckler, P.; Chassagnon, R.; Richard, P.; Gigot, E.; Perrier-Cornet, J.-M.; Decréau, R. A. *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 13975-13978; Subphthalocyanines: addressing water-solubility, nano-encapsulation, and activation for optical imaging of B16 melanoma cells.

2. Bernhard, Y; Gigot, E.; Moreau, M.; Winckler, P.; Perrier-Cornet, J.-M.; Goncalves, V; Decreau, R. A. manuscript in preparation, **2015**.
3. S. Biwas *et al.*, *Bioconjugate Chemistry*, 22, 2011, 2005–201
4. C. E. Smith *et al.*, *ACS Nanotation*, 7, 2013, 9599-9610
5. E. Calce *et al.*, *International Journal of Biological Macromolecules*, 68, 2014 28–32

### **Synthesis of functional liposomes for encapsulation of bioactive compounds**

**Keywords:** liposome, encapsulation, bioconjugation of liposomes, fonctionnalized liposomes, fluorophores, bioactive molecules, peptides

At ICMUB Institute, SUV liposomes have been used to achieve fluorophore encapsulation (subphthalocyanine) for cellular imaging,<sup>1</sup> and have been bioconjugated to a *peptide* (bombesin) to achieve site-specificity, thanks to the structural modification of cholesterol, a component of the liposome, upon introduction of a reactive function. Hence, such liposomes fonctionnalised on the outer face may react with the terminal function of the peptide. Upon purification of the liposome by FPLC a 15% encapsulation rate was measured by UV/Vis and attempted by ICP. The (outer) diameter of the liposomes ( $d_{DLS}$  and  $d_{MET}$ ) ranged between 20 and 60 nm depending on the type of function or substituents on the outer face of the liposome.<sup>2</sup> Monitoring of the size and stability of the liposomes was achieved over time. This overall approach is also carried out at PAPC team (UMR PAM, AgroSup Dijon) to achieve the the conjugation of the liposome to *proteins*<sup>3</sup> ( $\beta$ -lactoglobuline) or *polysaccharides*<sup>4,5</sup> (chitosan and pectin). The final aim will get functional and stable liposomes in different media. These nano-objects will be submitted to several physical and chemical stress (pH, temperature, oxidation...) and their strength will be analysed. Glutathione will be encapsulated inside the liposomes and used like molecular sensor for the determination of oxidized state medium. These systems will be also choice models for the study of behaviour of cell's membrane.

1. Bernhard, Y.; Winckler, P.; Chassagnon, R.; Richard, P.; Gigot, E.; Perrier-Cornet, J.-M.; Decréau, R. A. *Chem. Commun.* **2014**, 50, 13975-13978; Subphthalocyanines: addressing water-solubility, nano-encapsulation, and activation for optical imaging of B16 melanoma cells.
2. Bernhard, Y; Gigot, E.; Moreau, M.; Winckler, P.; Perrier-Cornet, J.-M.; Goncalves, V; Decreau, R. A. manuscript in preparation, **2015**.
3. S. Biwas *et al.*, *Bioconjugate Chemistry*, 22, 2011, 2005–201
4. C. E. Smith *et al.*, *ACS Nanotation*, 7, 2013, 9599-9610
5. E. Calce *et al.*, *International Journal of Biological Macromolecules*, 68, 2014 28–32