
Titre du Sujet : Évaluation de l'effet de formulations anti-leishmaniennes à base de solvants eutectiques profonds sur un modèle *ex vivo* de peau.

Informations indispensables

Laboratoires d'accueil :

Institut Galien Paris-Saclay (UMR CNRS 8612) – Equipe Physico-Chimie des Systèmes Polyphasés

Unité Universitaire Interdisciplinaire Lip(Sys)² Lipides , Systèmes analytiques et biologiques (EA 7357) – Equipe Chimie Analytique Pharmaceutique

Adresse complète du lieu du stage :

Université Paris-Saclay – Faculté de Pharmacie
5 rue Jean-Baptiste Clément
92290 Châtenay-Malabry

Noms des personnes responsables :

François-Xavier LEGRAND (Maître de Conférences des Universités)

Sana TFALI (Maître de Conférences des Universités)

Ali TFAYLI (Professeur des Universités)

Numéros de téléphone :

01 46 83 56 82

01 46 83 59 04

Adresses e-mails :

francois-xavier.legrand@universite-paris-saclay.fr

sana.tfali@universite-paris-saclay.fr

ali.tfayli@universite-paris-saclay.fr

1. Contexte de la problématique du sujet.

Les leishmanioses sont des infections parasitaires causées par un protozoaire intracellulaire du genre *Leishmania*, transmis par un insecte-vecteur : le phlébotome. La leishmaniose cutanée est la forme la plus répandue, endémique dans de nombreuses régions du monde. Une centaine de cas importés ont été recensés en France en 2015. Bien que cette forme cutanée ne soit pas mortelle, les cicatrices, principalement au niveau du visage, représentent un handicap esthétique pour les personnes atteintes. De plus, selon la souche, elle peut évoluer vers une leishmaniose muco-cutanée qui provoque des lésions mutilantes du visage. Le traitement actuel de la leishmaniose cutanée est principalement basé sur les sels d'antimoine, qui sont hautement toxiques et nécessitent une administration intra-lésionnelle locale pour la maladie à un stade précoce ou une administration intramusculaire générale

dans les cas les plus graves. Cependant, une résistance aux sels d'antimoine a été largement rapportée en Iran, conduisant à l'arrêt progressif de l'utilisation des dérivés de l'antimoine. Certaines molécules organiques peuvent également être utilisées, par exemple l'iséthionate de pentamidine (voie IM/IV), l'amphotéricine B liposomale (perfusion), la miltefosine (voie orale) ou la paromomycine (application topique). Il est à noter qu'une toxicité importante ainsi que des réactions allergiques sont observées dans le cas de l'iséthionate de pentamidine. De plus, de sérieuses contraintes d'administration de l'iséthionate de pentamidine (injection à jeun), le coût élevé de l'amphotéricine B liposomale, ainsi que la tératogénicité dans le cas de la miltefosine et l'activité limitée de la paromomycine limitent leurs utilisations. Ainsi, il existe un besoin de développer un traitement efficace, peu coûteux et facile à utiliser sur le terrain.

Un traitement topique serait souhaitable, mais parmi les molécules actives contre la leishmaniose cutanée, seule la paromomycine, un aminoside, peut être utilisée de cette manière. Cette molécule n'est cependant pas très efficace en raison de sa grande solubilité dans l'eau. Il est donc nécessaire de développer de nouvelles formulations capables de favoriser leur diffusion dans la peau tout en réduisant les effets secondaires systémiques. L'hypothèse initiale est que les solvants eutectiques profonds (DES) seraient un moyen simple et peu coûteux de formuler des médicaments antiparasitaires destinés à l'administration cutanée.

Les DES ont récemment suscité un intérêt dans le domaine pharmaceutique. La plupart d'entre eux sont des mélanges de donneurs de liaisons hydrogène et de sels d'ammonium quaternaire solides, liquides à température ambiante. Ils sont obtenus par chauffage doux des deux composés pendant 1 à 2 heures. Ils peuvent remplacer les solvants conventionnels et, en outre, certaines molécules d'intérêt pharmaceutique, comme la tétracycline et la ranitidine, sont capables de former des DES avec des partenaires tels que le glycérol, l'urée ou l'aspirine. Les DES sont particulièrement adaptés à la voie cutanée car ils seraient moins irritants que les solvants et véhicules couramment utilisés et présentent des viscosités comparables à celles des gels topiques conventionnels. Ainsi, un mélange de bicarbonate de choline et d'acide géranique, formant un DES, a montré une activité antiseptique sur la peau sans toxicité et a pu favoriser la pénétration de protéines dans les couches profondes de la peau.

2. Objectifs du stage.

Afin d'évaluer les effets du DES et des formulations (DES solubilisant une molécule active) sur des échantillons de peau *ex vivo*, des études par spectroscopies vibrationnelles infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) et Raman seront réalisées. Les spectroscopies vibrationnelles nous permettront de suivre les excipients et les molécules actives dans la

peau, de déterminer la composition moléculaire des couches cutanées, mais aussi de suivre sans marqueurs extrinsèques les changements moléculaires induits sur les constituants cutanés par les molécules composant la formulation. De plus, le suivi dynamique de la perméation de molécules exogènes à travers la peau sera réalisé par microspectroscopie confocale Raman.

3. Programme de travail.

Les signatures spectrales FTIR et Raman seront enregistrées après application des formulations sur la peau afin d'obtenir la cinétique de distribution des molécules composant le DES et de la molécule active dans le cas des formulations. Le modèle retenu pour l'étude est la peau abdominale humaine obtenue de patients subissant une chirurgie esthétique.

Nous distinguerons deux types d'acquisition spectrale :

- 1- Suivi des effets de formulation en temps réel par enregistrement de coupes optiques Raman (imagerie X-Z).
- 2- Suivi de la formulation sur coupes de peau par imagerie FTIR et Raman.

Nous comparerons trois familles d'échantillons :

- 1- Échantillon de peau ou coupes de peau sans application de formulation.
- 2- Échantillon de peau ou coupes de peau après application de la formulation sans molécule active.
- 3- Échantillon de peau ou coupes de peau après application de la formulation avec molécule active.

Ainsi, l'organisation lipidique de la couche cornée et les profils de distribution de chaque molécule composant le DES seront étudiés. D'autres paramètres tels que le pH, la tension mécanique et la perte d'eau imperceptible seront également évalués.

La solubilisation de deux agents anti-leishmaniens, l'amphotéricine B et la paromomycine, sera étudiée au cours de ce stage afin d'obtenir des formulations avec molécule active qui seront étudiées comme précédemment.