

Stratégies de ciblage d'agents anti-infectieux appliquées au traitement des leishmanioses

Frédéric Frézard

Professeur invité

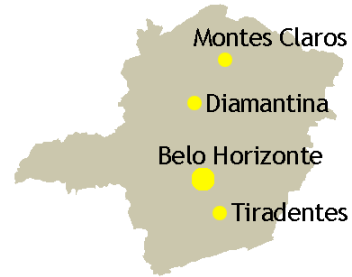
Chaire d'Excellence DIM1Health
BioCIS, Université Paris-Saclay, France

Professeur titulaire

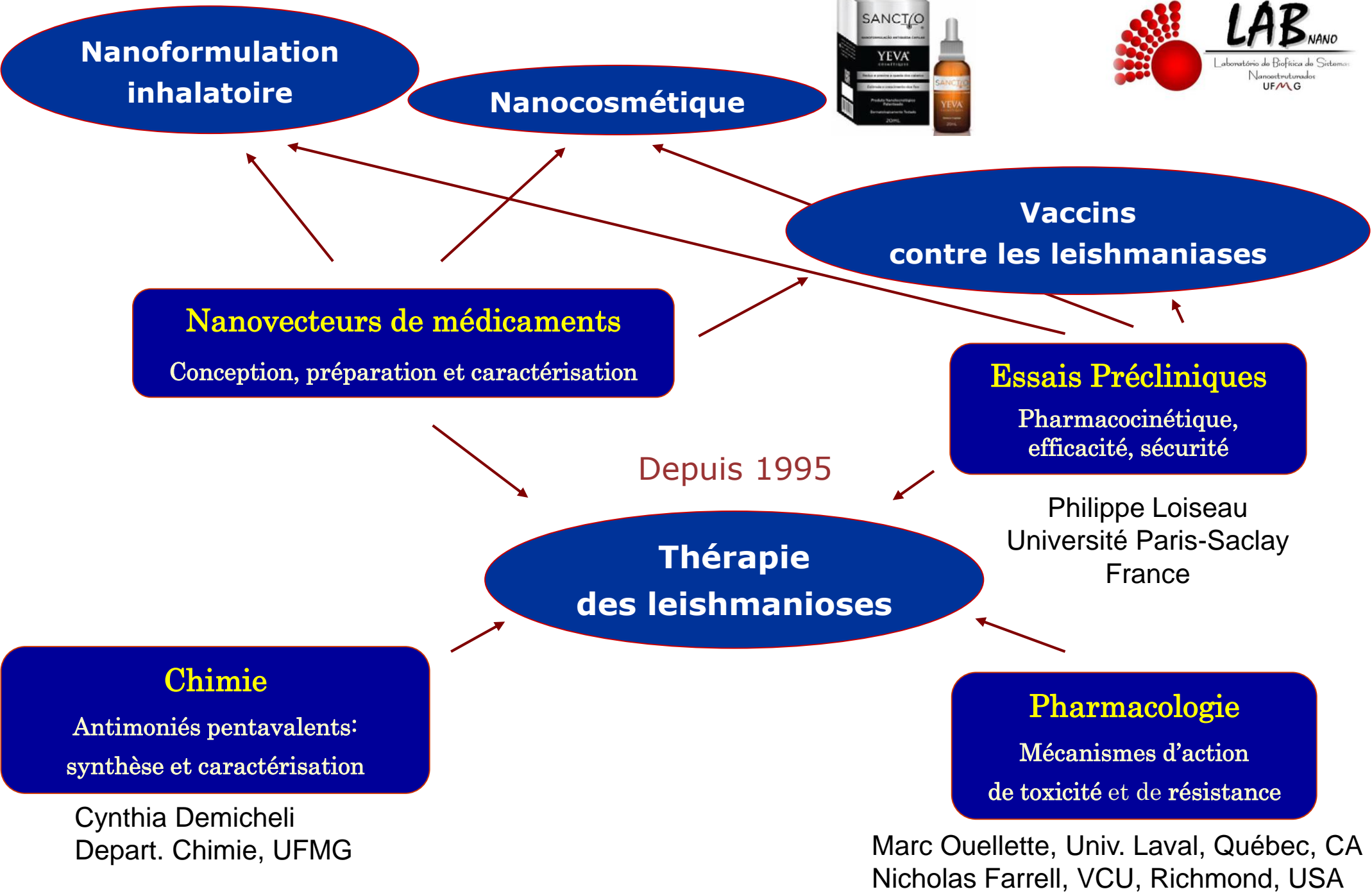
Dept. Physiologie et Biophysique
Institut de Sciences Biologiques
Université Fédérale de Minas Gerais (UFMG)
Belo Horizonte, Brésil



95^{ me} anniversaire (2022)



35,000 undergraduate students
15,000 graduate students



Nanoformulation inhalatoire

Nanocosmétique

Vaccins contre les leishmanioses

Nanovecteurs de médicaments
Conception, préparation et caractérisation

Essais Précliniques
Pharmacocinétique, efficacité, sécurité

Philippe Loiseau
Université Paris-Saclay
France

Thérapie des leishmanioses

Depuis 1995

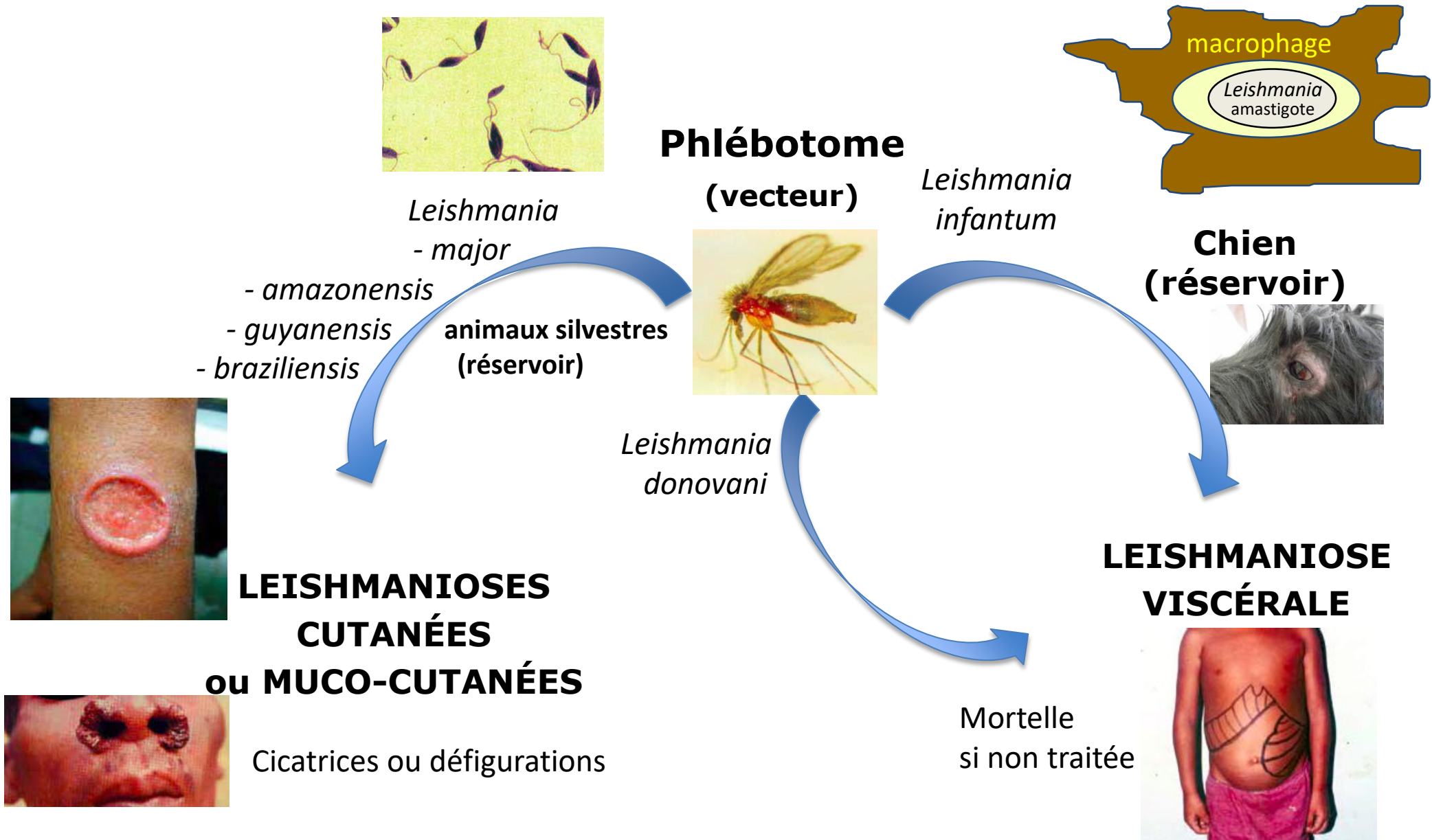
Chimie
Antimoniés pentavalents: synthèse et caractérisation

Cynthia Demicheli
Depart. Chimie, UFMG

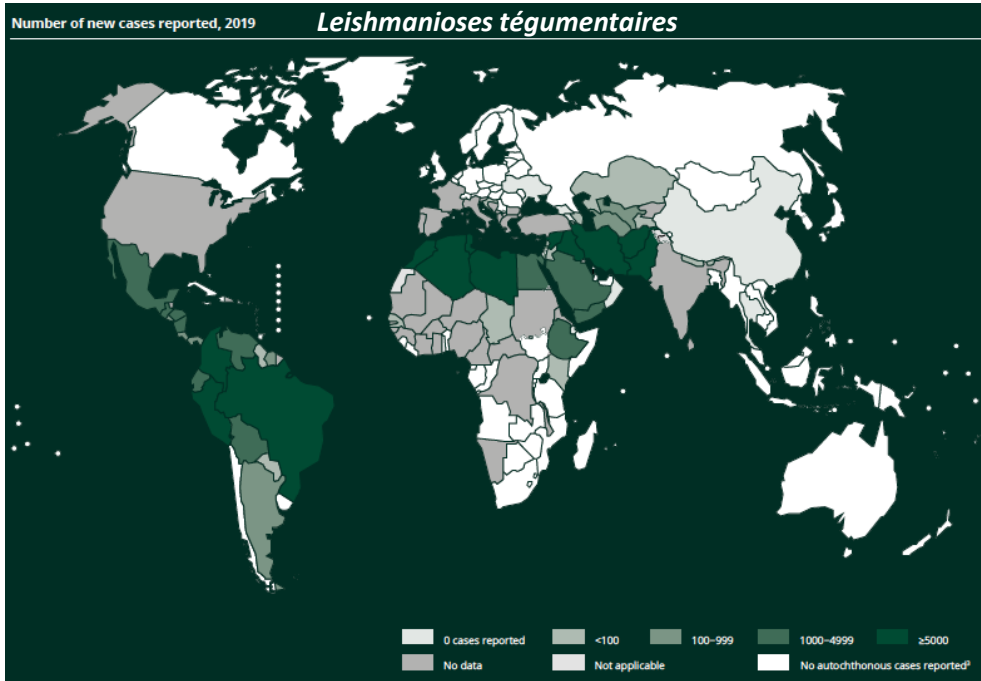
Pharmacologie
Mécanismes d'action de toxicité et de résistance

Marc Ouellette, Univ. Laval, Québec, CA
Nicholas Farrell, VCU, Richmond, USA

Les leishmanioses



Leishmanioses: endémicité en 2019

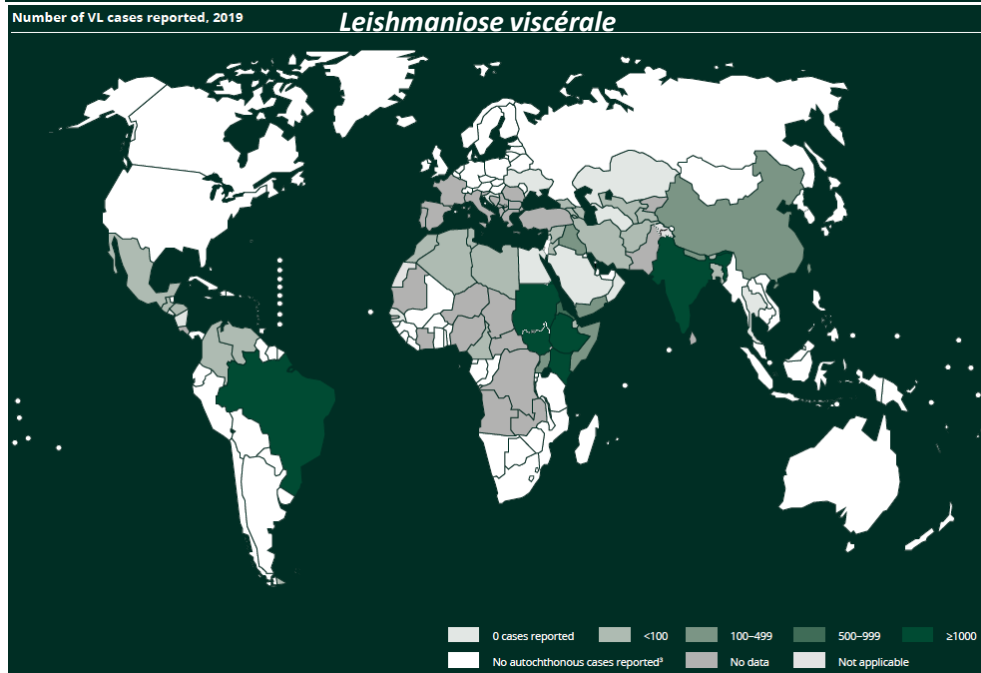


277.224 nouveaux cas

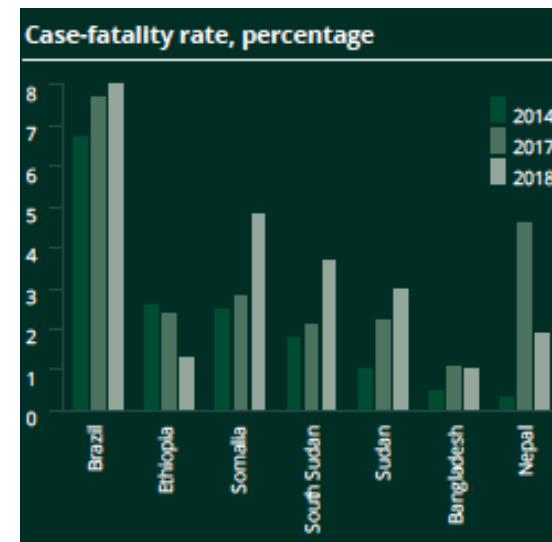
~ 1 milliard de personnes
à risque

Maladie Tropicale Négligée

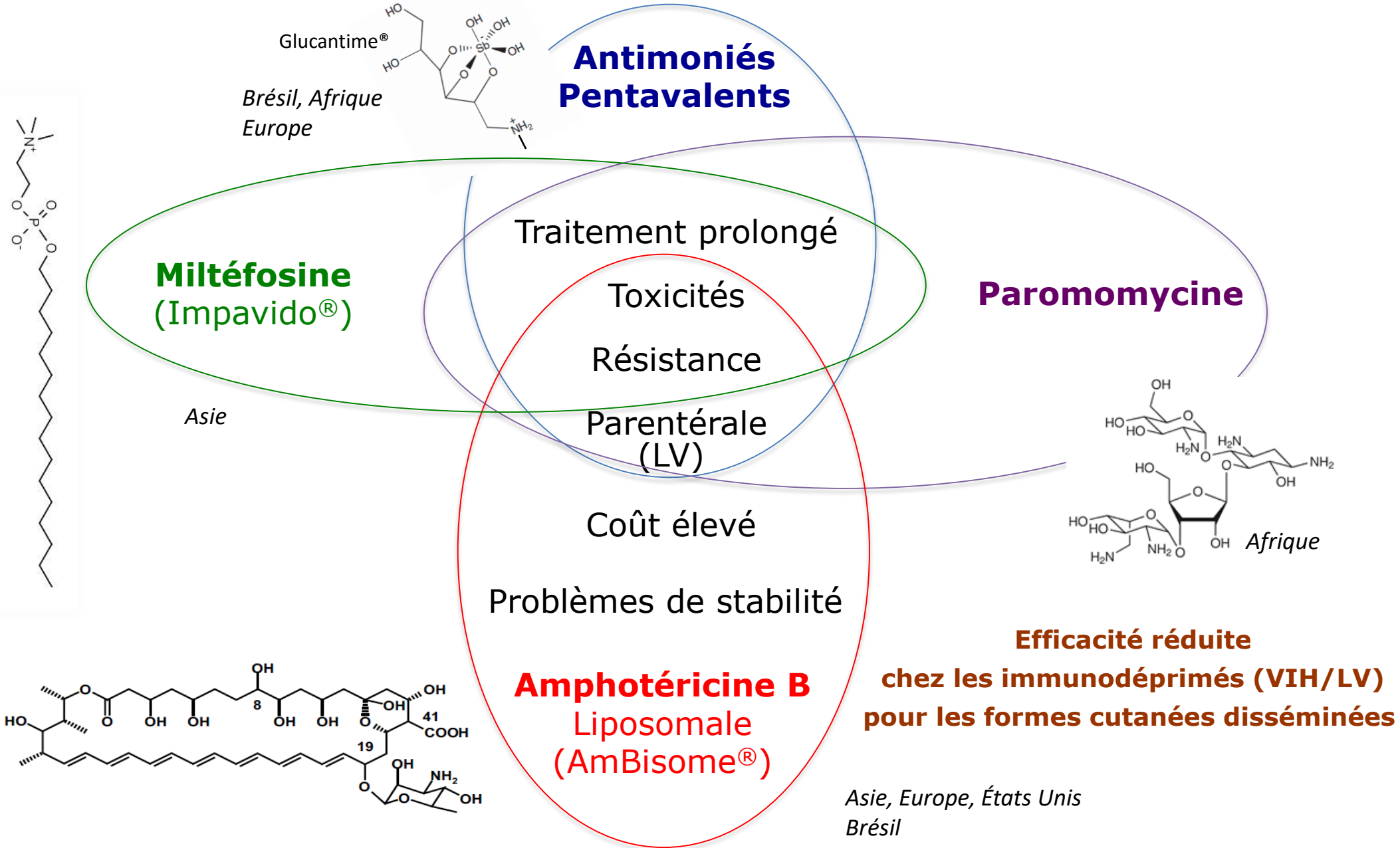
- Les plus pauvres des pays en développement
- Accès limité aux médicaments existants



13.814 nouveaux cas (dont 50-70% d'enfants)



Traitements disponibles pour les leishmanioses et limitations



Stratégies pour l'amélioration des traitements

des maladies négligées

et aussi des maladies infectieuses émergentes

Stratégies à court terme (médicaments existants)

Repositionnement de médicaments et thérapies d'association

Nouvelles stratégies de ciblage/délivrance

Efficacité augmentée et toxicité réduite

Application par voie non-invasive (orale, topique)

Stratégies à moyen et long termes

Nouveaux principes actifs

Traitement court par voie orale

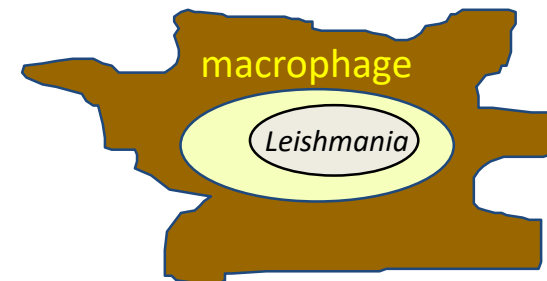
Quels sont les besoins des patients?

- Une **formulation parentérale plus efficace** que l'AmBisome®
pour le traitement des leishmanioses disséminées
(formes graves de leishmaniose cutanée et leishmanioses chez les immunodéprimés)
- Une **formulation orale plus efficace et moins toxique** que l'Impavido®
(formes cutanées simples et patients pédiatriques)

Les solutions dépendent de **stratégies de ciblage**
pour faciliter l'accès du principe actif au parasite.

→ Augmenter l'accumulation du principe actif dans les tissus/cellules infectées
au détriment des tissus sains

→ Augmenter le passage de la barrière intestinale

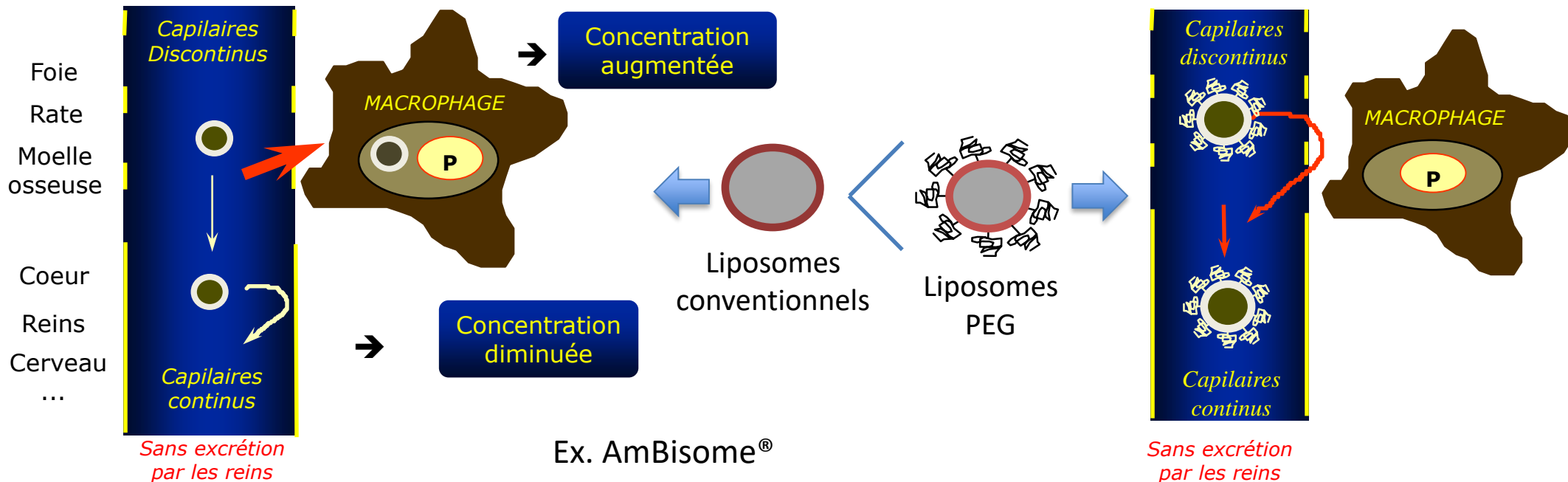


Une formulation parentérale plus efficace que l'AmBisome®

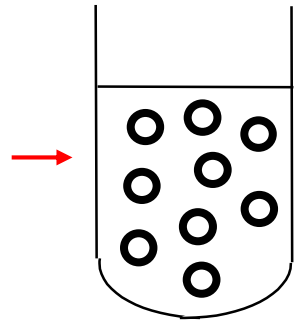
Proposition: Nouvelle formulation liposomale de l'amphotéricine B pour les leishmanioses disséminées

Défis: incorporer efficacement l'amphotéricine B dans les liposomes et échapper à la captation naturelle du nanovecteur par les macrophages du foie

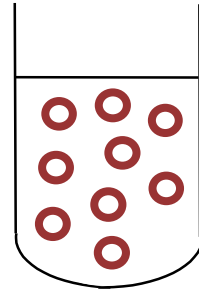
Stratégie de ciblage: préparer des liposomes de surface modifiée pour une circulation prolongée et un ciblage passif d'autres sites d'infection (cutanés)



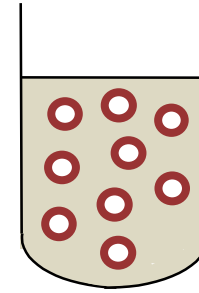
Nouveau procédé simple et efficace pour l'incorporation de l'amphotéricine B dans les liposomes



+
amphotéricine B
dans des conditions
de pH et température
contrôlées

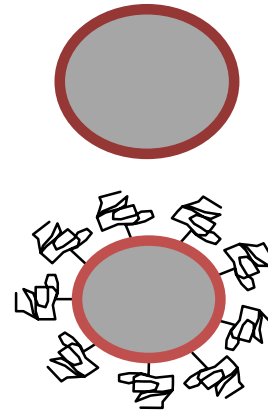
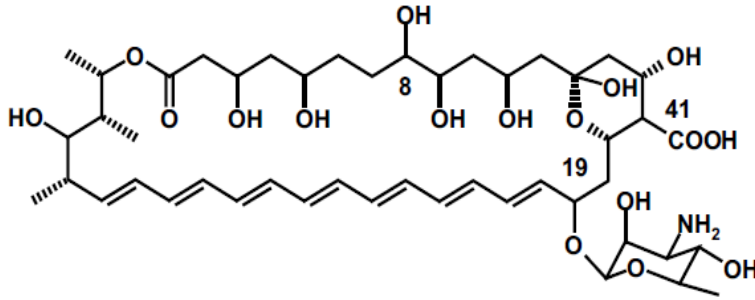


Lyophilisation
en présence de sucre
cryoprotecteur
et reconstitution
dans l'eau



Suspension aqueuse
de liposomes "vides",
pré-formés e de taille définie (100 nm)

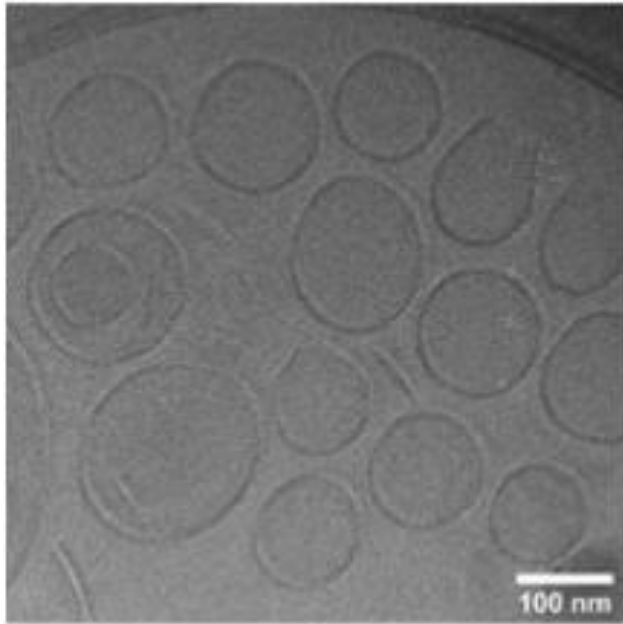
Suspension monodisperse de liposomes
avec taille réduite (<200 nm)
et taux d'encapsulation élevé



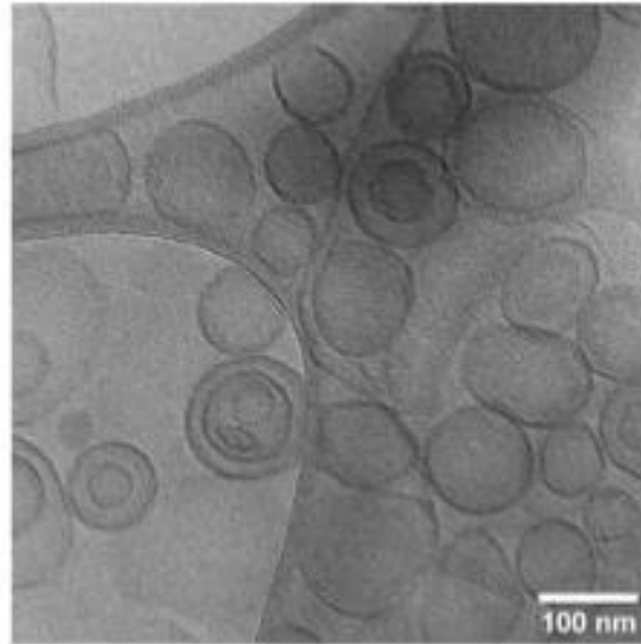
PC/CHOL/P
Liposomes conventionnels
(**CONV-LAmB**)

PC/CHOL/P
Liposomes PEG
(**PEG-LAmB**)

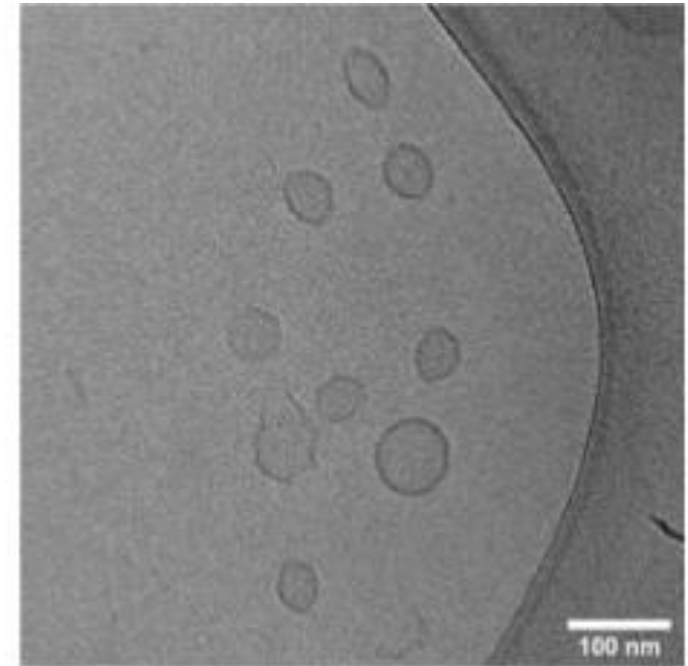
Morphologie des nouvelles formulations liposomales de l'amphotéricine B en comparaison avec l'AmBisome®



PEG-LAmB



CONV-LAmB

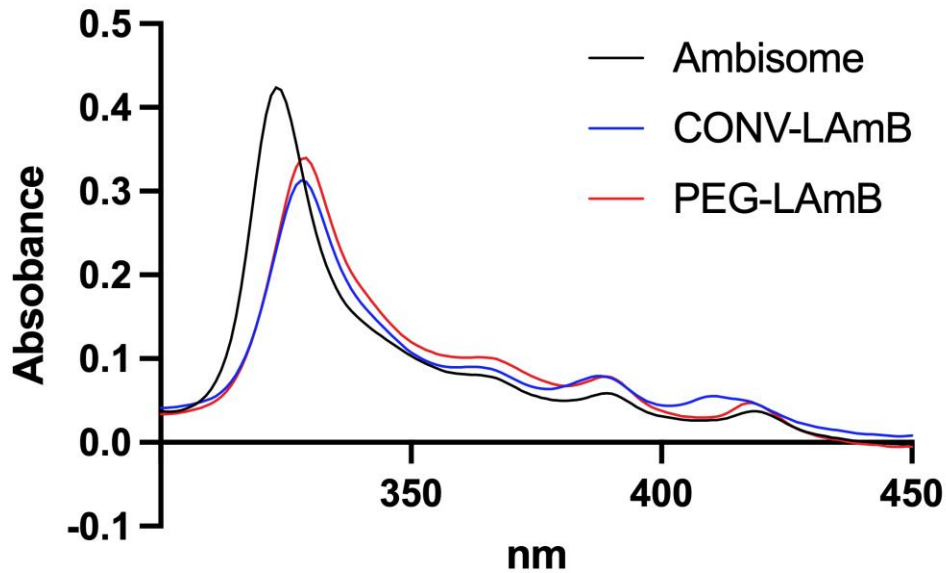


AmBisome®

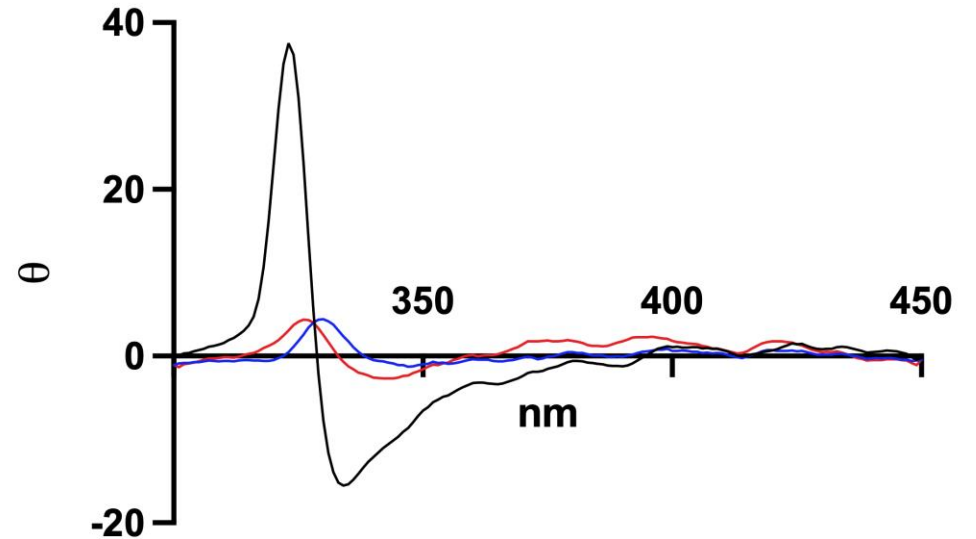
Formulation	Diamètre (nm)	Indice de polydispersité	Potentiel zeta (mV)	Taux d'encapsulation (%)
CONV-LAmB	113± 16	0,065± 0,033	-27±1	100±2
PEG-LAmB	114± 6	0,21±0,07	-3,4±0.3	98±1
AmBisome®	89± 6	0,15±0,02	-30±1	-

Caractérisation de l'état d'aggrégation de l'amphotéricine B dans les nouvelles formulations, en comparaison avec l'AmBisome®

Spectres d'absorption UV/Vis

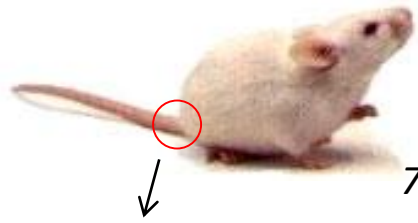


Spectres de dichroïsme circulaire



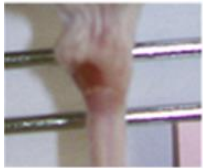
→ L'amphotéricine B est incorporée sous la forme monomérique

Efficacité des formulations liposomales en comparaison avec l'AmBisome® dans un modèle murin de leishmaniose cutanée

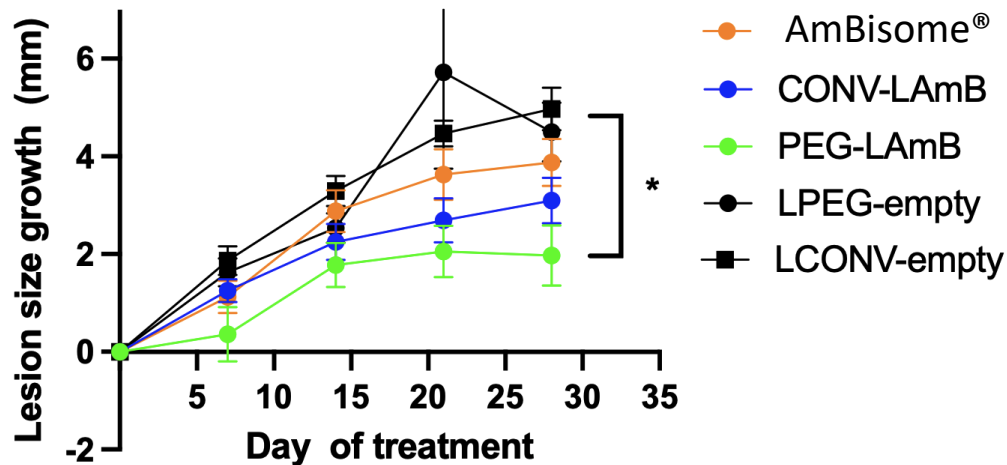


Souris BALB/c infectées par *Leishmania amazonensis*

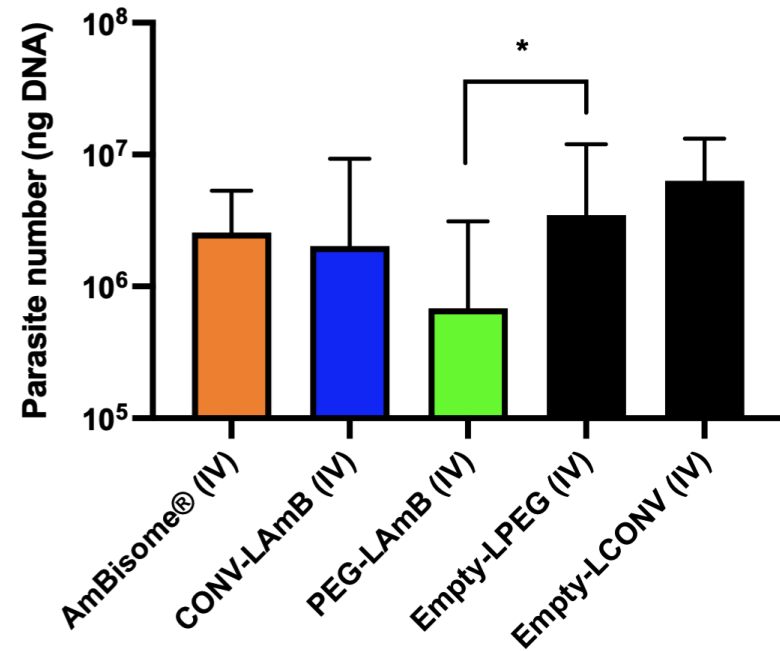
7 applications de 5 mg AmB/kg à chaque 4 jours par voie intraveineuse



Croissance de la taille des lésions



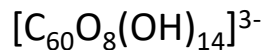
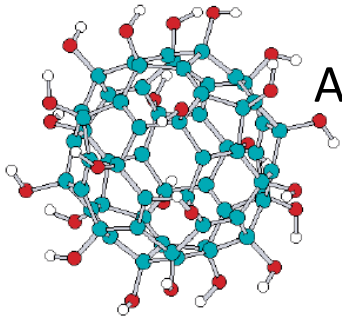
Charge parasitaire dans la lésion



Perspectives

- Comparaison de la **stabilité** et de la **toxicité** de nos formulations avec celles de l'AmBisome®
- **Mécanismes** responsables de l'efficacité plus élevée des liposomes PEG (pharmacocinétique, vitesse de libération du principe actif, interaction principe actif - lipide)
- **Co-incorporation** d'un autre principe actif, soit leishmanicide ou immunomodulateur, dans le même nanovecteur, afin d'obtenir une thérapie d'association plus efficace

Fullérol (immunomodulateur)



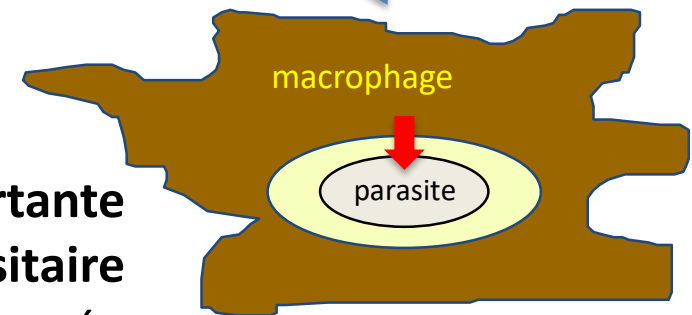
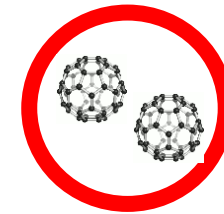
Activateur des macrophages dans le cancer
par induction de sécrétion de IL-1 β

Liu et al. (2009); Chen et al. (2014)

Ramos et al. (2021) Biomed. Pharmacother. 134:111120.

Brevet BR 102014032447-0

fullérol + liposome



**Réduction importante
de la charge parasitaire**

dans des modèles murins de leishmaniose viscérale et cutanée

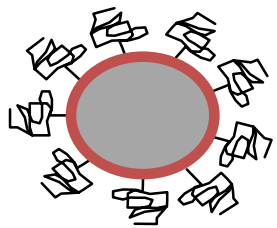
Une formulation orale plus efficace et moins toxique que l'Impavido®

Proposition: formulation orale de l'amphotéricine B

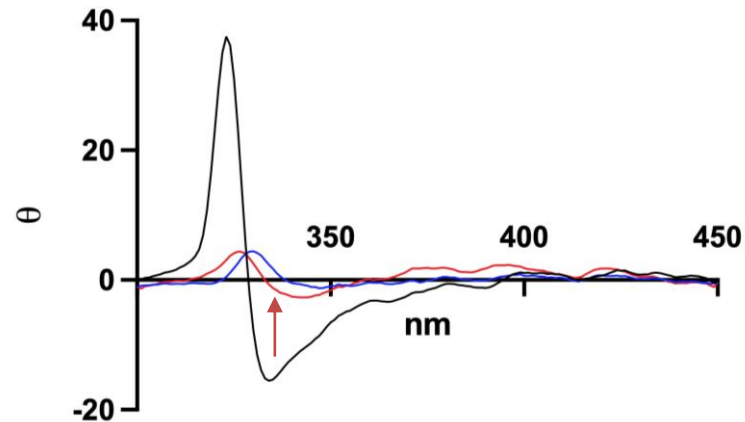
Défi: l'amphotéricine B est très lipophile et s'auto-associe en solution aqueuse, ce qui la rend peu perméable et peu biodisponible par voie orale

Stratégie de ciblage: utiliser une formulation où l'amphotéricine B est sous une forme non-aggrégée (monomérique)

Formulation liposomale PEGuillée de l'amphotéricine B



HSPC/CHOL/DSPG/DSPE-PEG
Liposomes PEG
(PEG-LAmB)

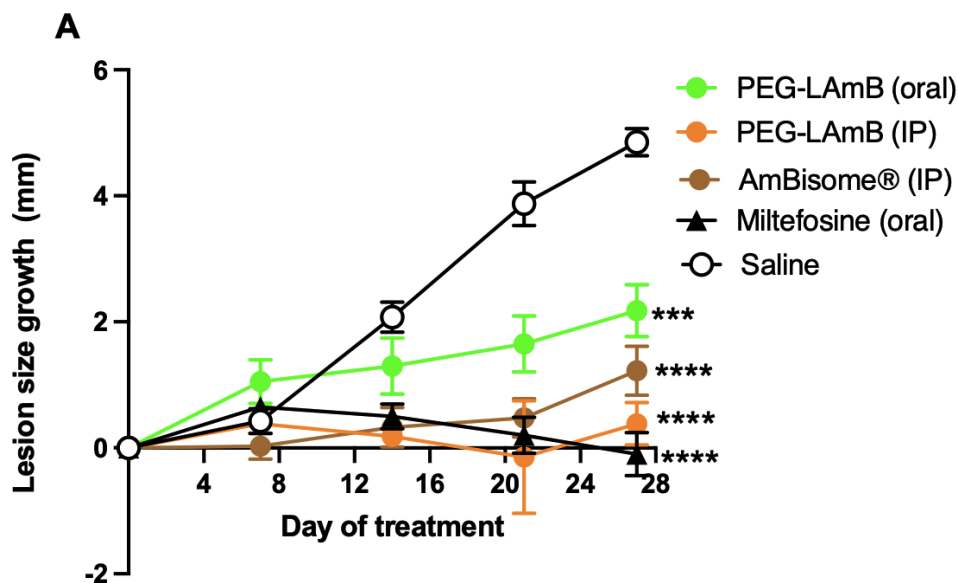


Effacité thérapeutique par voie orale de la formulation liposomale PEGuillée de l'amphotéricine B dans un modèle murin de leishmaniose cutanée

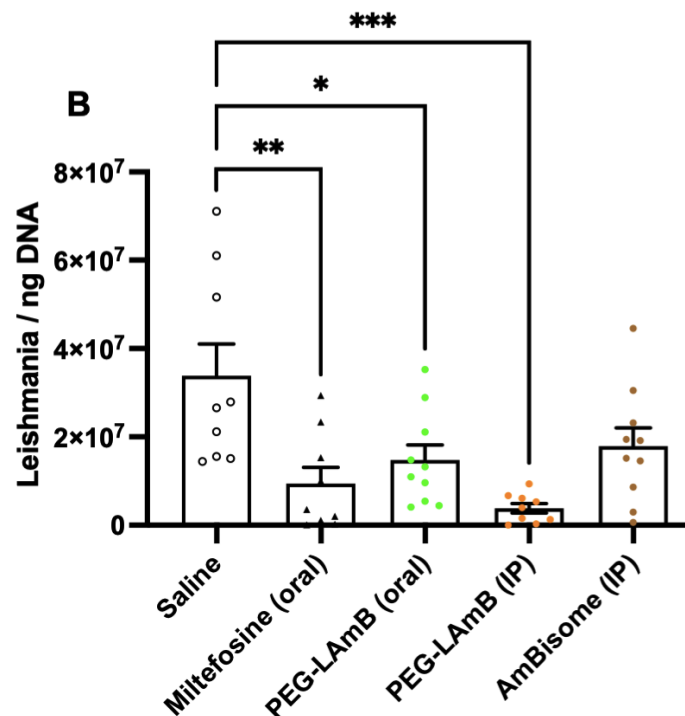
Souris BALB/c infectées par *Leishmania amazonensis*

10 applications de 5 mg AmB/kg à chaque 2 jours

Croissance de la taille des lésions



Charge parasitaire dans la lésion



→ La formulation PEGuillée est active par voie orale

Perspectives

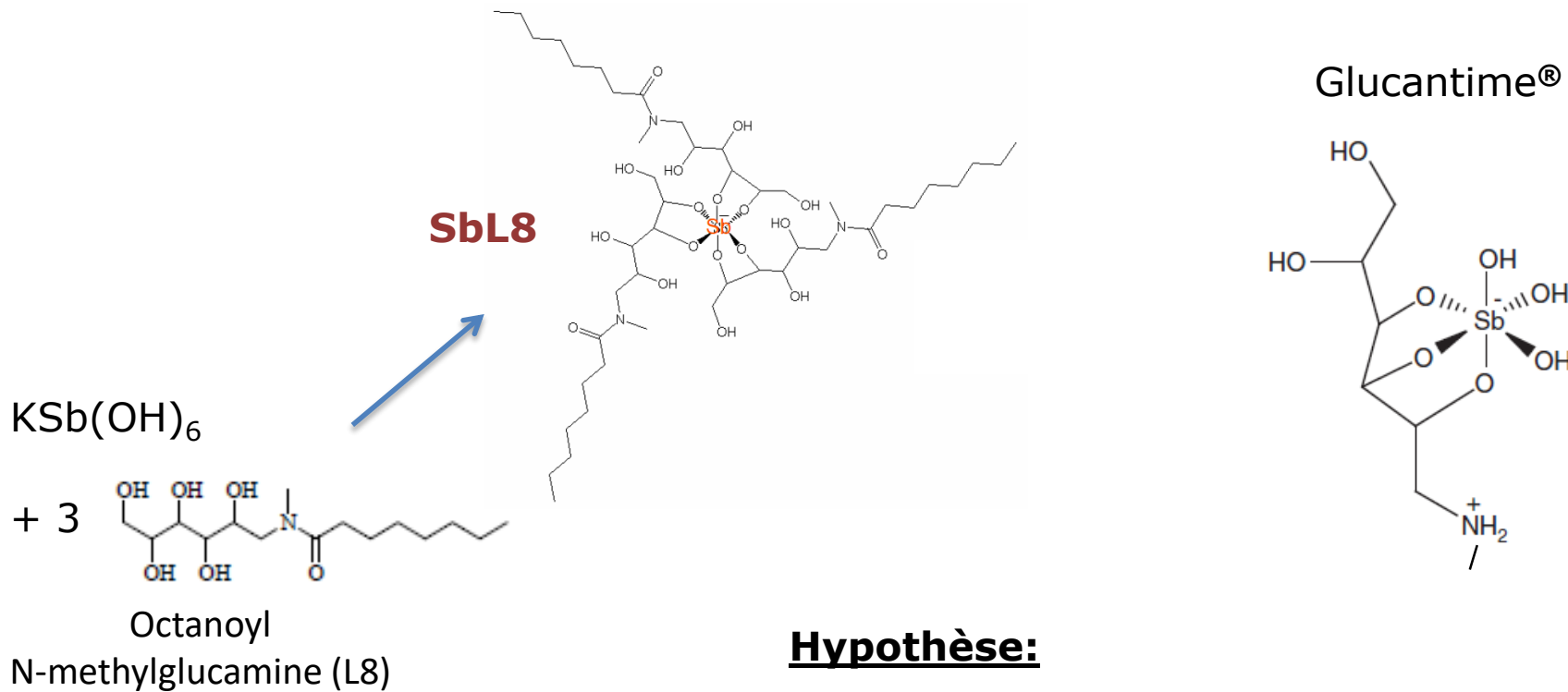
- Comparaison de **la toxicité** de la formulation orale à celles de l'AmBisome® (voie parentérale) et de l'Impavido® (voie orale)
- Efficacité thérapeutique de la formulation orale dans un modèle de **leishmaniose viscérale**
- **Co-incorporation** d'un autre principe actif, soit leishmanicide ou immunomodulateur, dans le même vecteur, pour une thérapie d'association plus efficace

Une formulation orale plus efficace et moins toxique que l'Impavido®

Proposition: formulation orale de l'antimoine(V)

Défi: les antimoniés pentavalents sont hydrophiles et peu perméants au travers des membranes

Stratégie de ciblage: développer des complexes d'antimoine amphiphiles

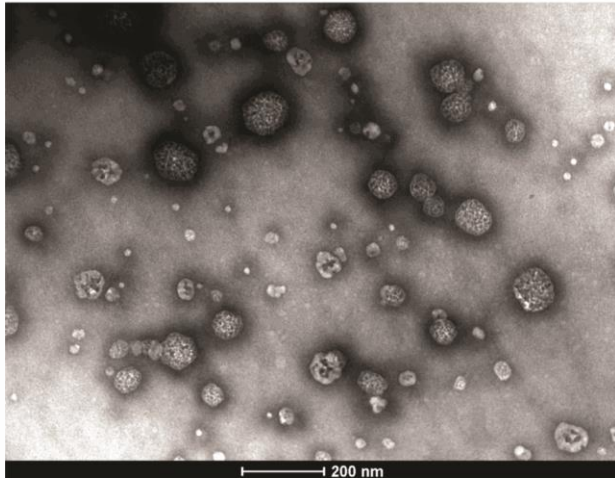
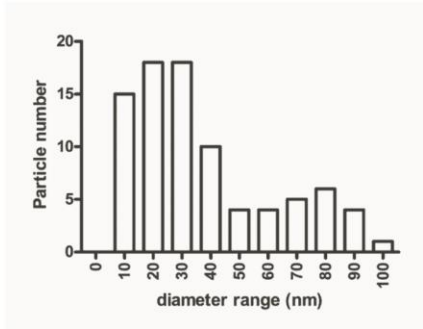


Hypothèse:

Augmentation de la perméation membranaire
et de l'absorption intestinale

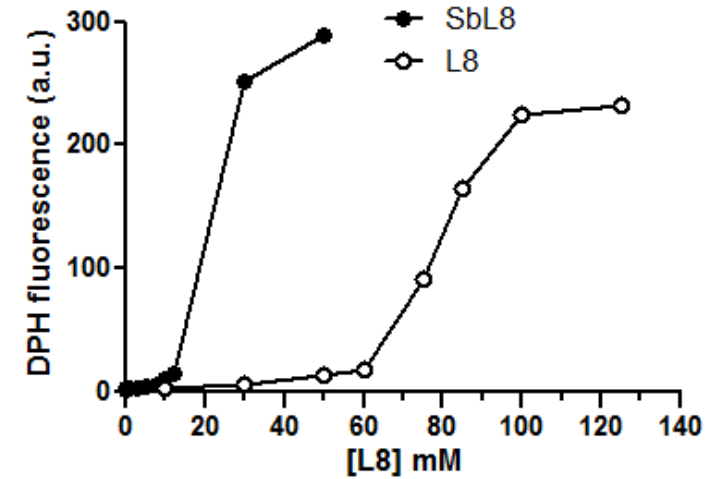
Caractérisation des nanoparticules formées par le SbL8 en solution aqueuse

TEM

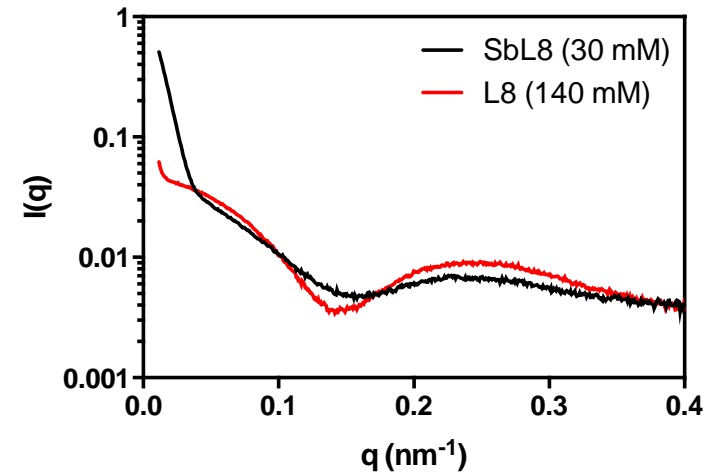


Formation de micelles
et d'aggrégats de micelles

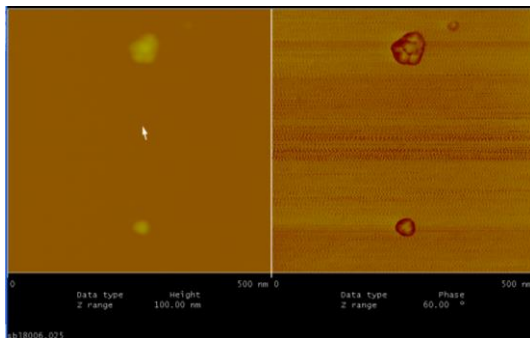
microenvironnements hydrophobes



SAXS

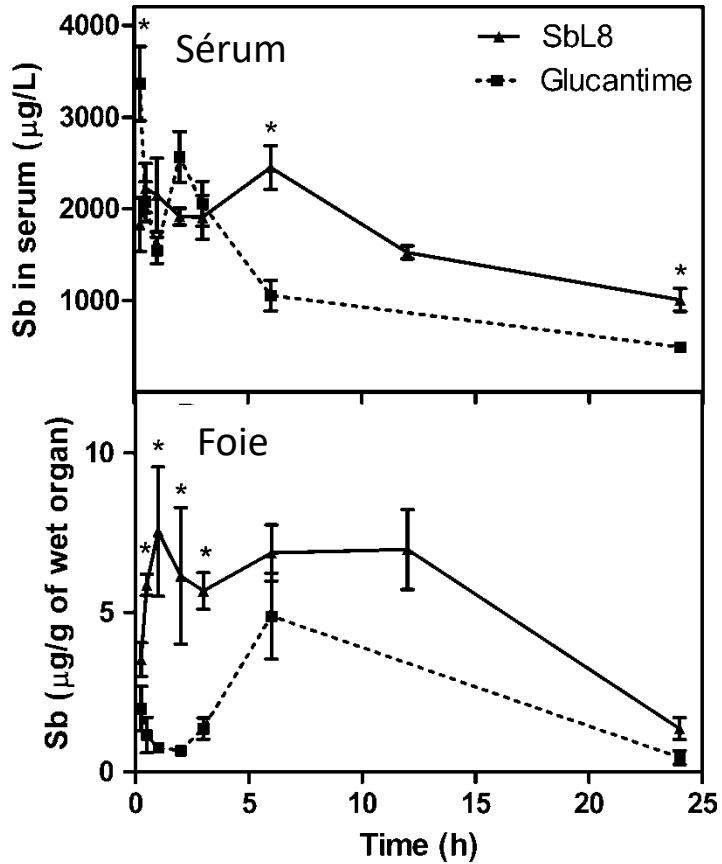


AFM



Étude pharmacocinétique de l'antimoine après administration orale

Comparaison du SbL8 au Glucantime® (200 mg Sb/Kg)



	SbL8	Glucantime
AUC (mg h/L)	39,6	10,3
C _{max.} (mg/L)	2,2	2,9
T _{max.} (h)	0,8	1,3
MRT (h)	10,8	2.6

➤ Niveaux plus élevés et prolongés de l'antimoine à partir du SbL8

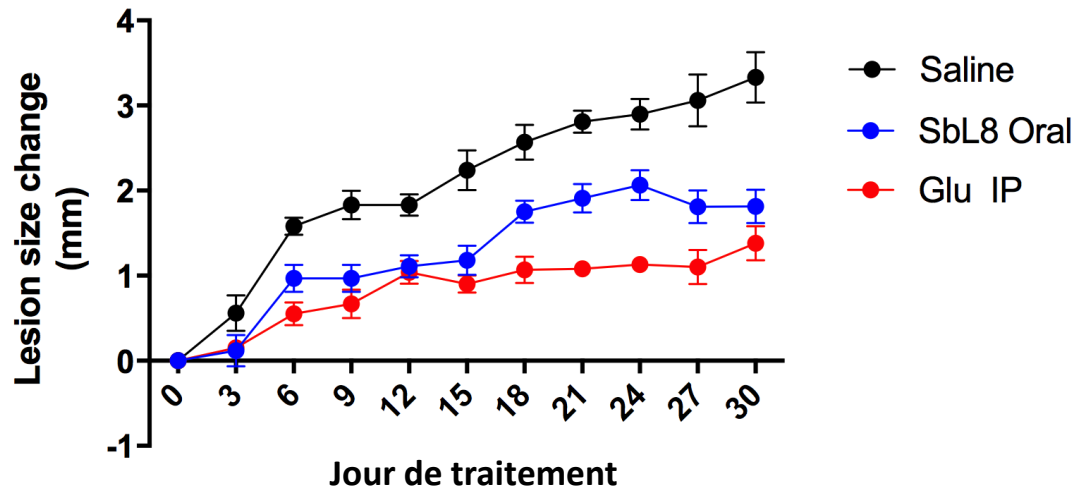
Activité antileishmanienne dans un modèle murin de leishmaniose cutanée

Souris BALB/c infectées par *Leishmania amazonensis*

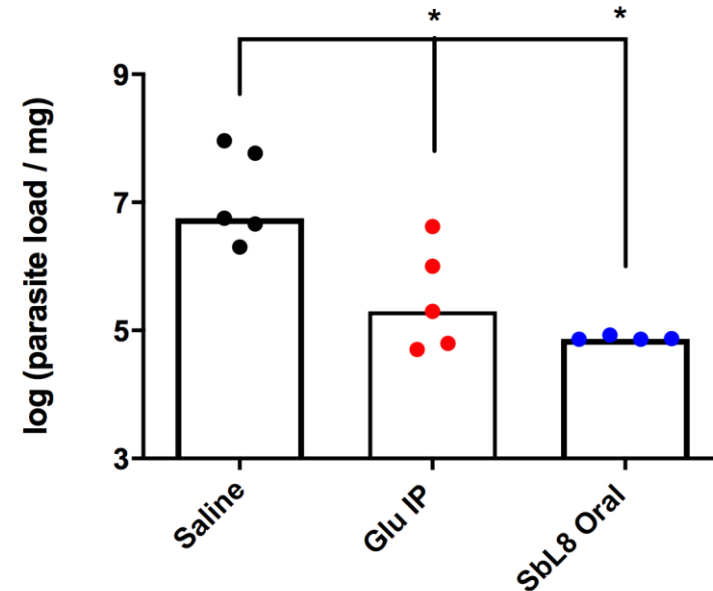
SbL8 par voie orale: 200 mg Sb/kg/j durant 30 jours

Glucantime® (Glu) par voie intraperitonéale: 200 mg Sb/kg/j durant 30 jours

Croissance de la taille de lésion



Charge parasitaire dans la lésion



Perspectives

- Comparaison de l'**efficacité** et de la **toxicité** du SbL8 à celles de l'Impavido®
- **Co-incorporation** d'un autre principe actif dans le système micellaire de SbL8, afin d'augmenter sa biodisponibilité par voie orale et d'obtenir une thérapie d'association plus efficace

Conclusion

Les stratégies de ciblage suivantes ont pu être validées

- ❖ Utiliser des liposomes de surface modifiée (PEG) pour le ciblage passif des sites d'infection cutanés
- ❖ Maintenir le principe actif sous une forme non-aggrégée pour augmenter son activité par voie orale
- ❖ Accroître la lipophilie du principe actif afin d'augmenter sa biodisponibilité par voie orale

Remerciements

Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, Brésil

Profa. Cynthia Demicheli (Depart. Chimie)

Prof. Ricardo T. Fujiwara, Profa. Maria N. Melo (Depart. Parasitologie)

Prof. Lucas A. M. Ferreira et Marta Gontijo (Faculté de Pharmacie)

UFMG



Université Paris-Saclay, France

BioCIS, UMR 8076 CNRS:

Prof. Philippe Loiseau et Dr. Sébastien Pomel



PhD students and Post-doc:

Virginia S. Mendes, Guilherme S. Ramos, Thais Tunes, Ana Carolina Borges, Juliane Lanza, Kelly Kato, Flaviana Fernandes, Weverson Ferreira

Merci !

