

**IRSN**

INSTITUT  
DE RADIOPROTECTION  
ET DE SÛRETÉ NUCLÉAIRE

*Faire avancer la sûreté nucléaire*

# Développement d'une forme pharmaceutique véhiculant un Calixarène destinée au traitement d'une peau saine ou lésée contaminée par de l'uranium

François Rebière

Service de Dosimétrie Interne

Laboratoire de Radiochimie



Guillaume Phan

Céline Bouvier-Capély

Aurélie Spagnol, Marc Adam

Géraldine Landon,

Alexandre Legrand

David Suhard

Christine Tessier, Naïma Sémili

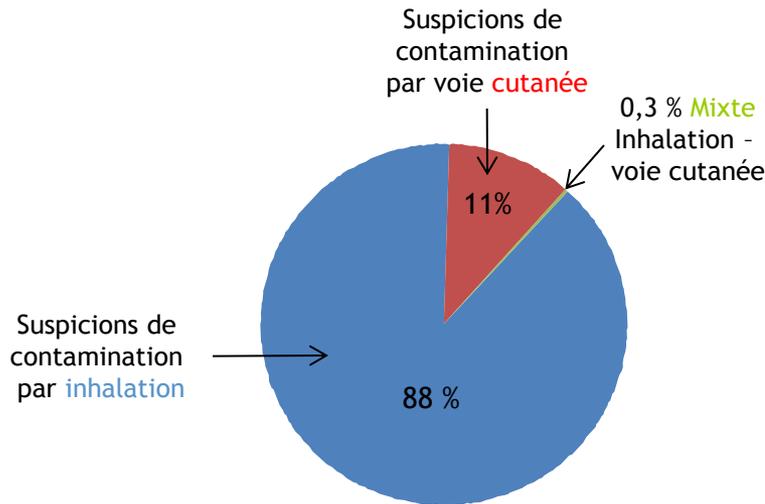
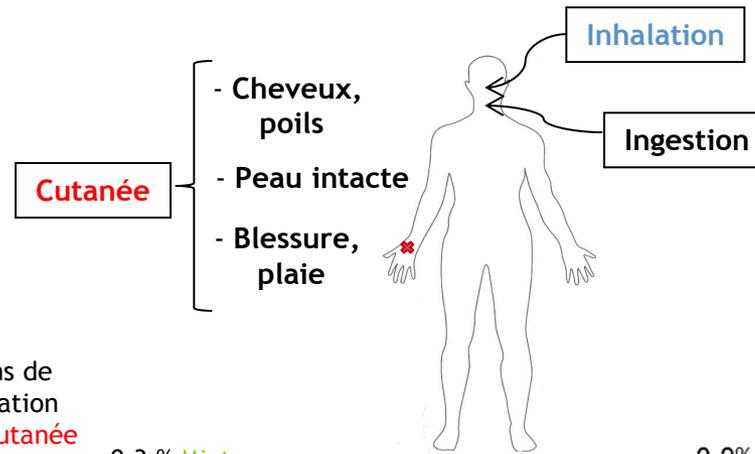
Corinne Belhomme-Henry

Sophie Grivès, Guillaume Morat

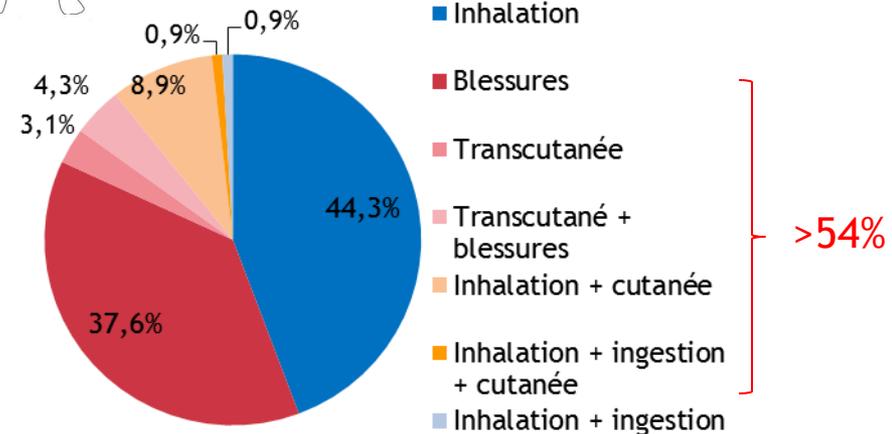
SFRP : Mercredi 07 Juin 2017

# Etat de l'art sur la décontamination externe (1/4)

## Les différents modes de contamination par les radionucléides



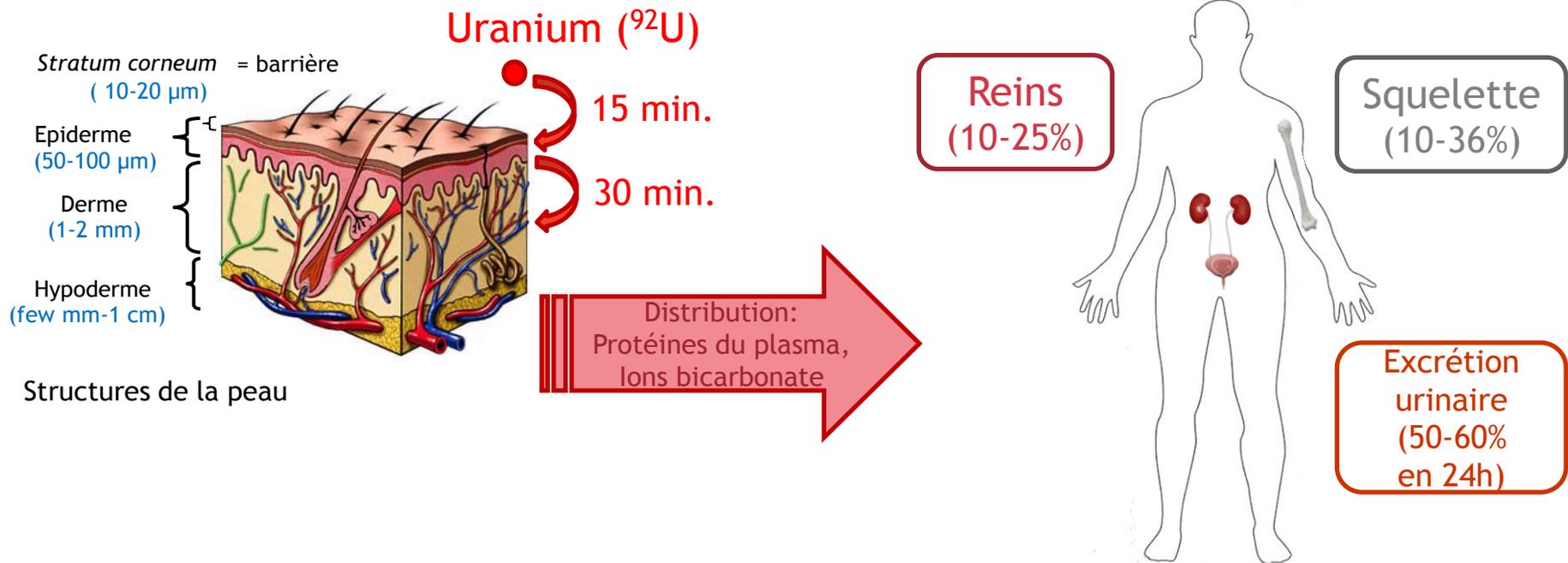
Service de santé du travail CEA/Cadarache 1996-2003  
1529 incidents d'exposition interne aux actinides (U, Pu, Am...)  
(Blanchin *et al*, Radioprotection 2004; 39(1): 59-75)



Services de santé du travail de sites AREVA 1970-2003  
548 incidents d'exposition interne aux actinides (U, Pu, Am...)  
(Grappin *et al*, Radioprotection 2007; 42(2): 163-196)

**La voie cutanée constitue un mode non négligeable de contamination**

## Contaminations cutanées - cas de l'uranium



*Diffusion rapide même à travers la peau intacte*

*Toxicité aux organes de rétention et peau*

De Rey *et al.*, Environ. Res., 1983; 30(2):440-91

Lopez *et al.*, Health Physics, 2000; 78(4):434-7

Petitot *et al.*, Can. J. Physiol. Pharmacol., 2004; 82(2):133-9

Kathren and Burklin, Health Physics, 2004; 94(2):170-9

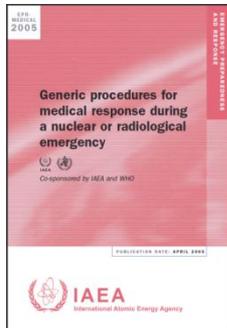
Brugge *et al.*, Rev. Environ. Health, 2005; 20(3):177-93

## Recommandations nationales

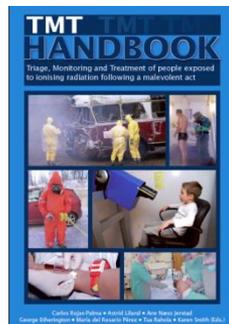


Guide ASN (2008)

## Recommandations internationales



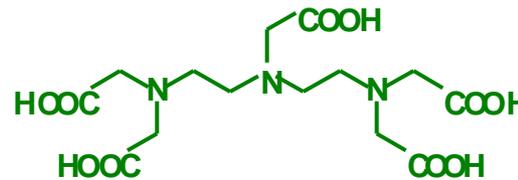
Procédures AIEA (2005)



TMT Handbook  
Union Européenne (2009)

## Prise en charge médicale pour tout radioélément

- **PEAU INTACTE :**
  1. Eau + détergents doux  
ou peroxyde d'hydrogène 3%  
ou hypochlorite de sodium 1%  
ou permanganate de potassium 5%
  2. Pommade antiphlogistique (si contaminations fixées)
- **BLESSURES :**
  1. Eau + détergents doux ou sérum physiologique ou **DTPA 25%**
  2. Excision chirurgicale (si fortes contaminations)



Acide  
Diéthylènetriamine  
Pentaacétique (**DTPA**)



**Inefficace**

**U, Np ...**

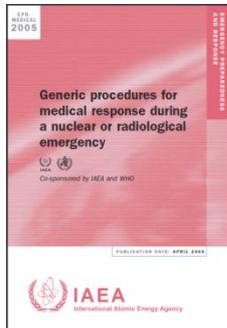
(problème d'affinité chimique...)

## Recommandations nationales

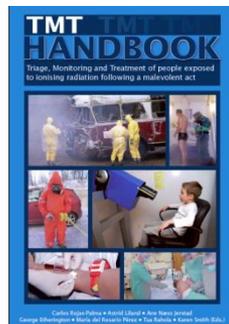


Guide ASN (2008)

## Recommandations internationales



Procédures AIEA (2005)



TMT Handbook Union Européenne (2009)

## Solutions spécifiques pour le lavage de la peau

- *PEAU INTACTE :*

Bicarbonate 1,4%	Uranium
Lugol	Iode
Acide acétique (pH 4-5)	Phosphore
EDTA 10%	Transuraniens, Terres rares, Métaux de transition
Ca-DTPA 1%	Transuraniens, Lanthanides ou métaux lourds

**Absence de traitement spécifique de U à l'exception du bicarbonate**

## Stratégies d'amélioration du traitement de la contamination cutanée due à U

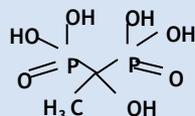
### Approche chimique



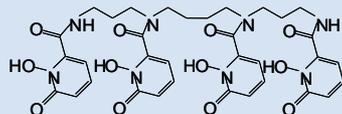
Synthèse de nouveaux agents chélatants

→ **affinité et sélectivité** ↗

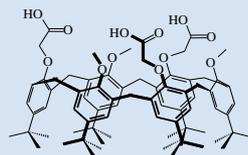
- Biphosphonates (EHBP, CAPBP)



- Dérivés phénoliques (Li-HOPO, Li-CAM)



- Calixarènes



Ansoborlo *et al.*, Comptes Rendus Chimie, 2007; 10(10):1010-9

Durbin *et al.*, Health Physics, 2008; 95(5):465-92

Archimbaud *et al.*, Radiat. Prot. Dosim., 1994; 53(1-4):327-30

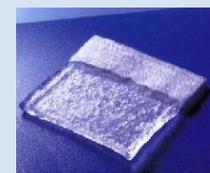
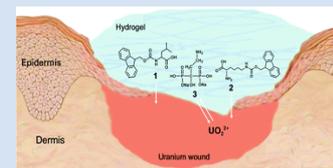
### Approche galénique



Développement de formes d'administrations

pour la peau → **disponibilité et spécificité** ↗

- Hydrogels et pansements contenant des biphosphonates



Houpert *et al.*, Can. J. Physiol. Pharmacol., 2004; 82(2):73-8

Yang *et al.*, Chemical Communications, 2005; 21(35):4414-6

Xu *et al.*, Int. J. Radiat. Biol., 2008; 84(5):353-62

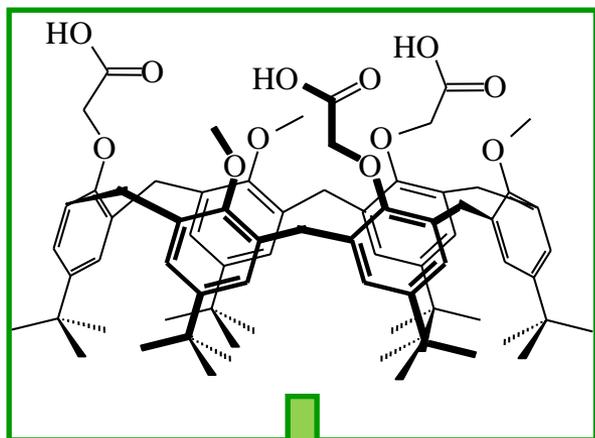


## Développement de formes galéniques\* du calixarène

### Molécule d'intérêt

#### Calixarène carboxylique

(1,3,5-OCH<sub>3</sub>-2,4,6-OCH<sub>2</sub>COOH-*p*-tertbutylcalix[6]arène)



Fortes affinité et sélectivité  
pour les actinides **U**, **Pu**, **Am**...

\*(Forme galénique ou pharmaceutique : forme sous laquelle sont associés principes actifs et excipients pour constituer un médicament)

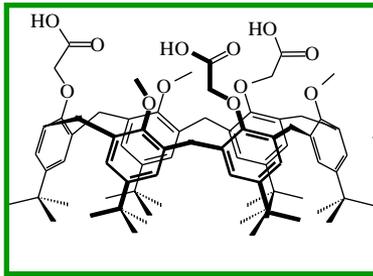
### Objectifs : « immobiliser » l'agent chélatant dans des formes d'administration topique

- 1) ↗ Décontamination de la peau par chélation spécifique du radionucléide
- 2) ↘ Diffusion du calixarène à travers la peau et éviter toute toxicité potentielle

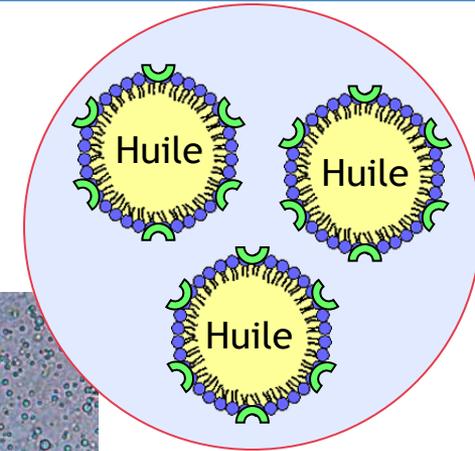
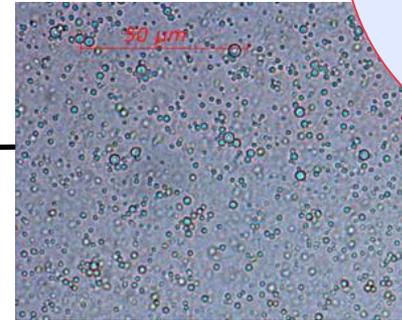
1

## Calixarène carboxylique

(1,3,5-OCH<sub>3</sub>-2,4,6-OCH<sub>2</sub>COOH-*p*-tertbutylcalix[6]arène)



Nanoémulsion



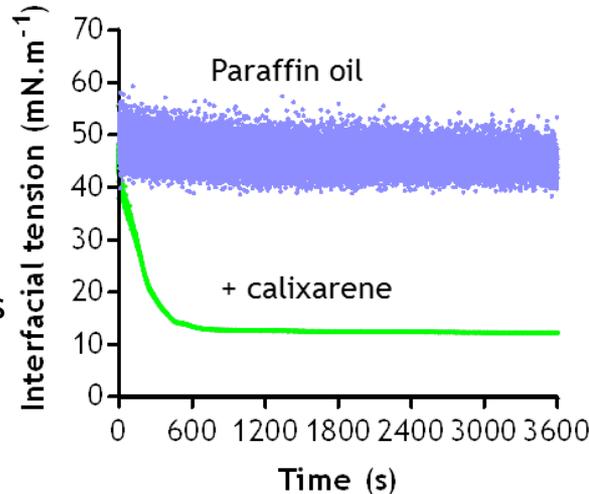
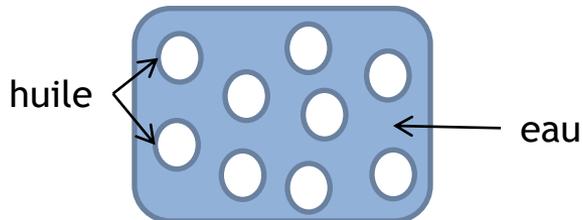
Molécule amphiphile



Propriétés interfaciales



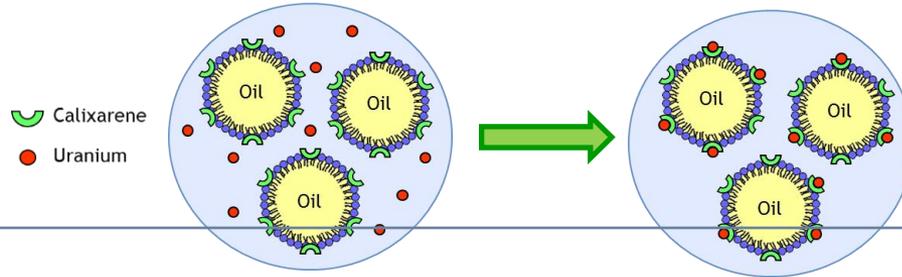
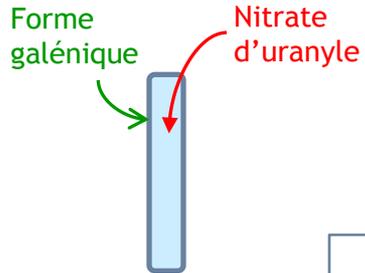
Formulation de systèmes biphasiques



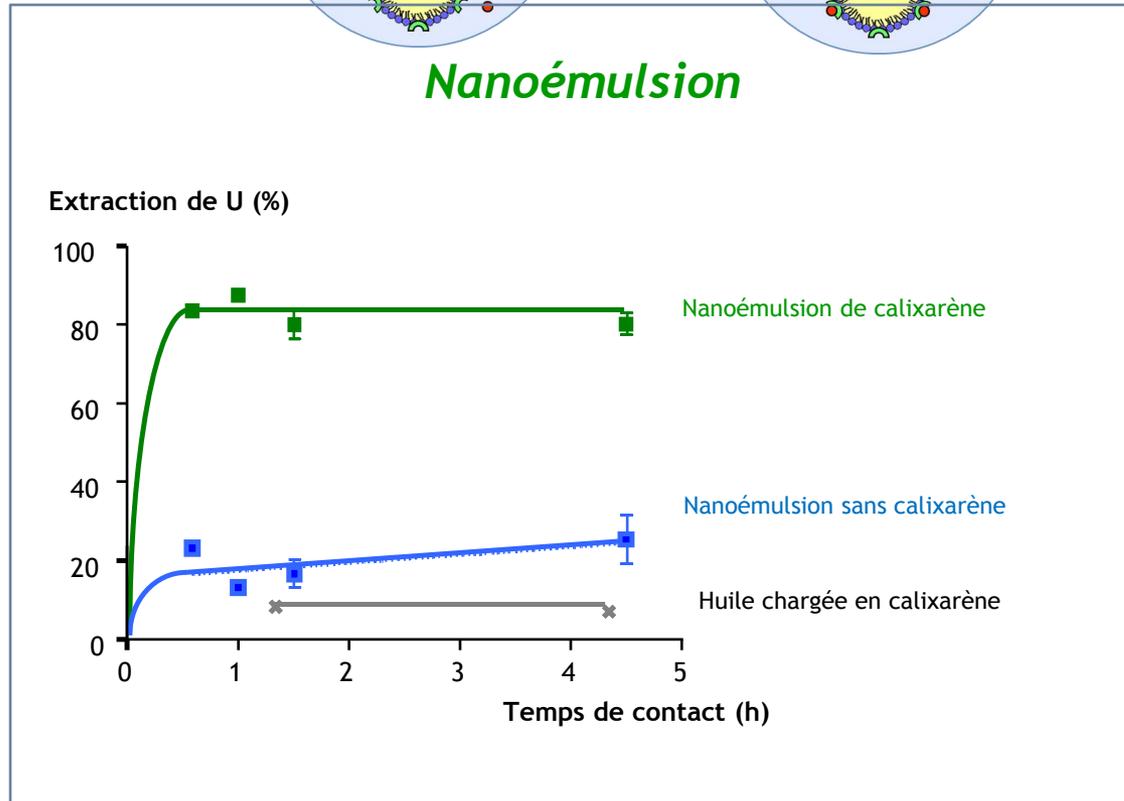
- Nanoémulsion (huile/eau) fluide
- Concentration en calixarène 4 mg/g
- Gouttelettes d'huile  $\varnothing \leq 150$  nm
- Potentiel zêta de surface  $\zeta \approx -50$  mV
- pH  $\approx 4,5$  (pH naturel de la peau  $< 5$ )
- Stabilité  $> 9$  mois à T° ambiante

# Décontamination *in vitro*

## Tests d'extraction liquide/liquide en tubes à retournement



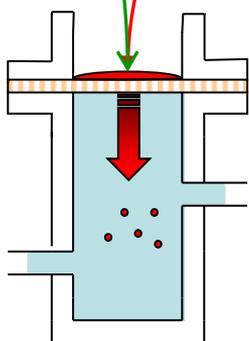
### Nanoémulsion



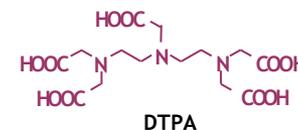
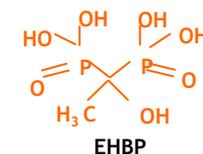
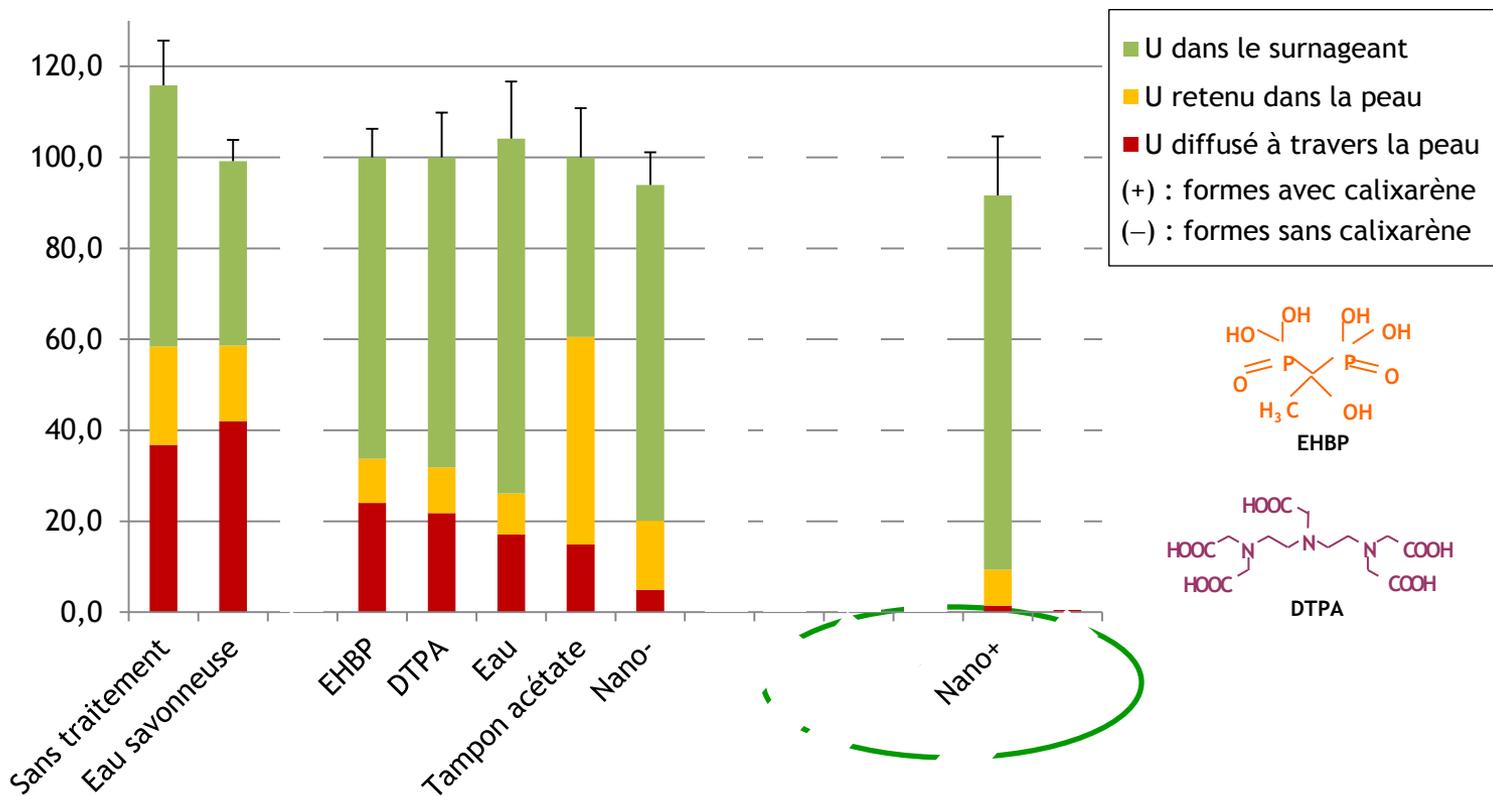
Extraction *in vitro* de U par la nanoémulsion :  
> 80-94%  
en moins de 5 min

# Décontamination ex vivo

Forme galénique  
Nitrate d'uranyle

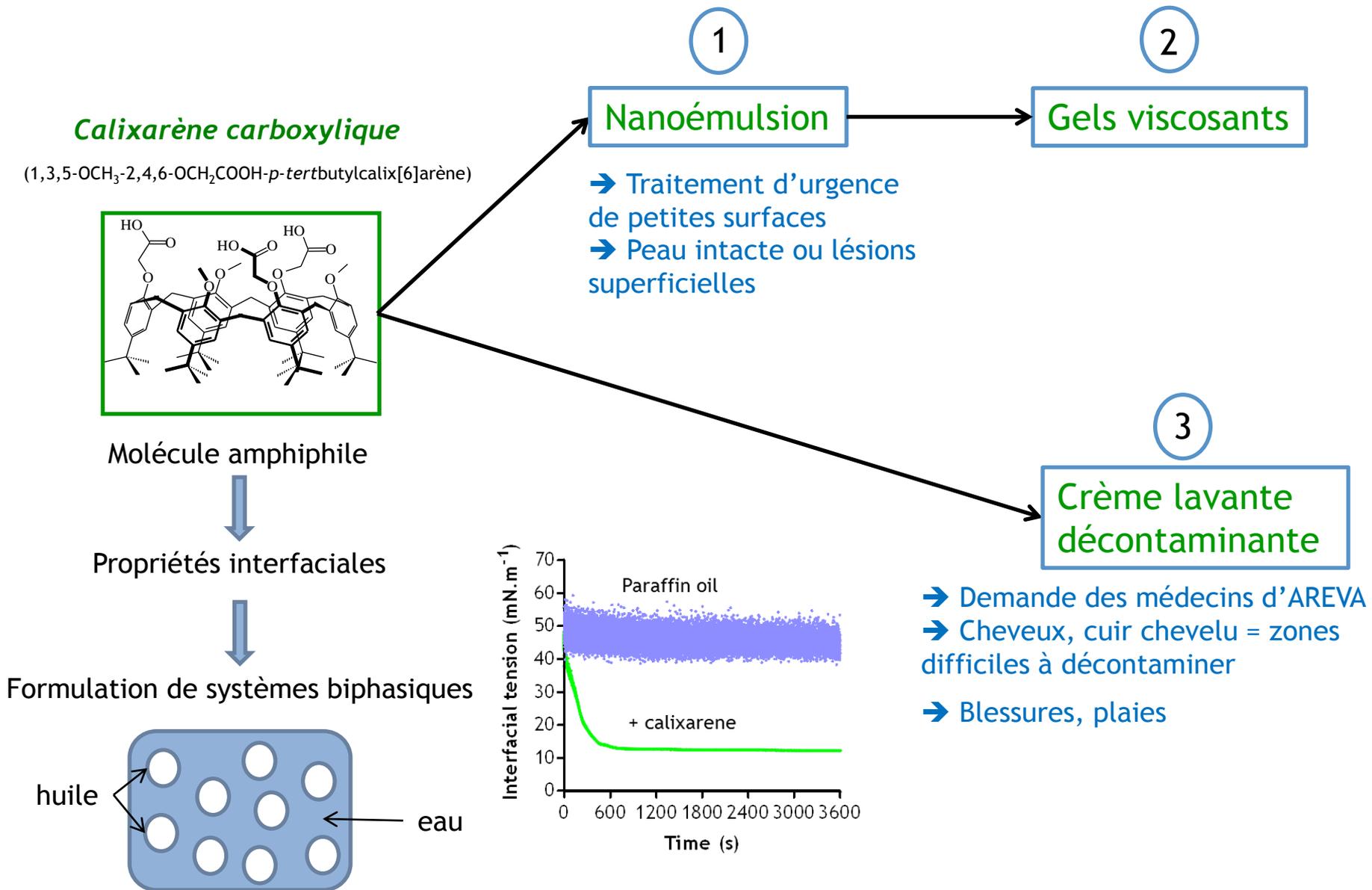


Bilan de matière à 24h (% U déposé sur peau de porc excoriée)



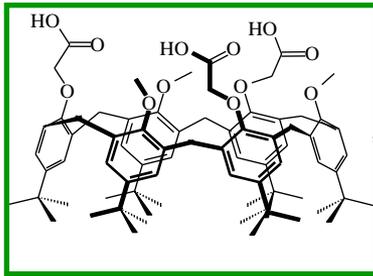
<ul style="list-style-type: none"> <li>U diffusé à travers la peau</li> <li>U retenu dans la peau</li> <li>U retenu au-dessus de la peau</li> </ul> <p>NB : absence de diffusion du calixarène à travers la peau (&lt;0,01%, dosage HPLC du milieu receveur)</p>	<p><b>Nanoémulsion</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>&lt;1%</li> <li>&lt;3%</li> <li>&gt;96%</li> </ul>
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

# Stratégies-formes galéniques développées



## Calixarène carboxylique

(1,3,5-OCH<sub>3</sub>-2,4,6-OCH<sub>2</sub>COOH-*p*-tertbutylcalix[6]arène)



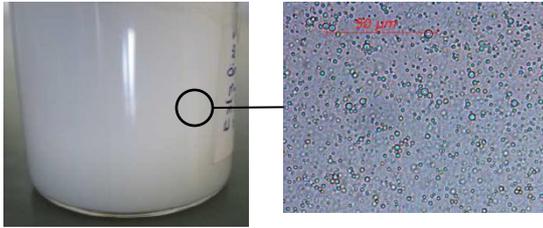
① Nanoémulsion

② Gels viscosants

③ Crème lavante

Composition des formules (% masse)		Calixarène	Huile de paraffine	Eau	Tensioactifs	Agents viscosants, additifs
①	Nanoémulsion	0,4	20	74,6	5	–
②	Gels viscosants	0,3	20	57,7	5	17
③	Crème lavante	1	20,5	45,9	22,3	10,3

## Nanoémulsion



- Nanoémulsion (huile/eau) fluide
- Concentration en calixarène 4 mg/g
- Gouttelettes d'huile  $\varnothing \leq 150$  nm
- Potentiel zêta de surface  $\zeta \approx -50$  mV
- pH  $\approx 4,5$  (pH naturel de la peau  $< 5$ )
- Stabilité  $> 9$  mois à T° ambiante

## Gels viscosants



NanoE + MethylCellulose (MC)

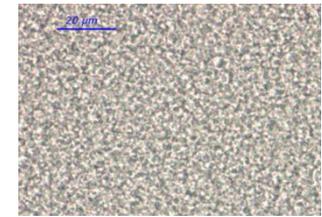
- Addition dans la nanoémulsion de polymères gélifiants thermosensibles : 16% poloxamer + 1% HPMC ou 1,5% MC
- Concentration en calixarène 3 mg/g
- Gouttelettes d'huile  $\varnothing \leq 200$  nm (inchangé)
- Potentiel zêta  $\zeta \approx -50$  mV (inchangé)
- Stabilité  $> 7$  mois à 4°C
- Rhéologie : formes fluides à 4°C, gels à 32°C (points de gel  $\approx 20^\circ\text{C}$ )

nanoE + MC

T = 4°C  
t = 28 s



## Crème lavante



- Tensioactifs détergents  $\times 4$  (22 % en masse)  
→ Effet lavant (mousse avec eau)
- Concentration en calixarène  $\times 2,5$  (10 mg/g)
- Gouttelettes d'huile  $\varnothing \approx 1\mu\text{m}$
- pH = 7

T = 32°C  
t = 8 min





## Tests sur cultures tissulaires d'épiderme humain reconstitué (RHE)

Nanoémulsion

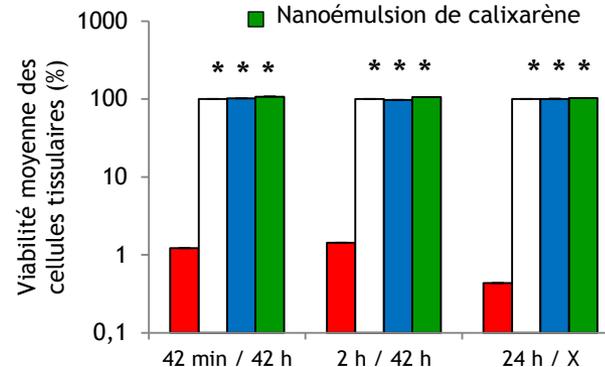


Épiderme humain reconstitué (RHE)

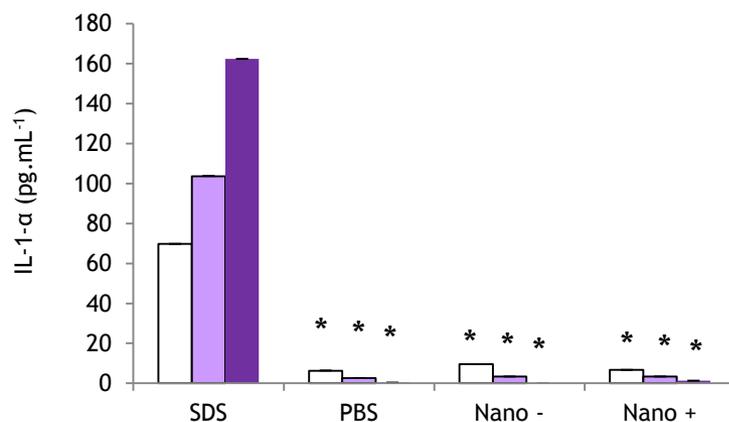
**Tests de toxicité utilisés :**  
**MTT** : viabilité cellulaire (mitochondriale)  
**IL-1- $\alpha$**  : cytokine pro-inflammatoire  
**LDH** : marqueur des lésions tissulaires

Test MTT

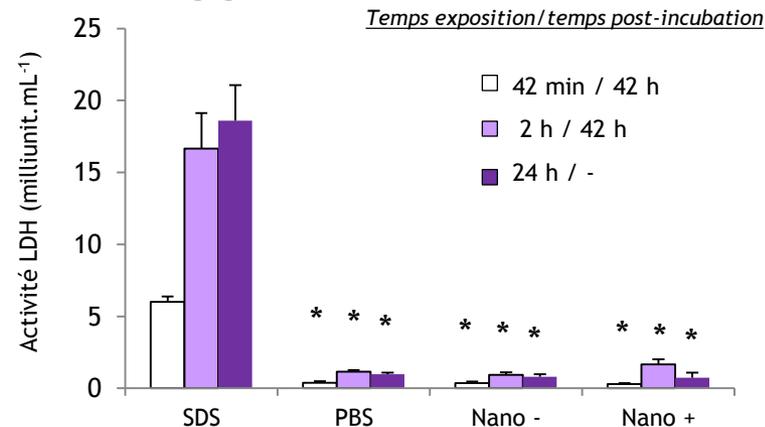
- Contrôle positif : SDS 5 %
- Contrôle négatif : PBS
- Nanoémulsion non chargée
- Nanoémulsion de calixarène



Relargage cytokine IL-1- $\alpha$



Relargage LDH



Aucune irritation ni toxicité cutanée induite par la nanoémulsion appliquée pure jusqu'à 24h

# Stratégie de caractérisation

Nanoémulsion,  
gels viscosants, crème décontaminante

## Caractérisation physicochimique

Solubilité

pH

Granulométrie

Potentiel Zêta

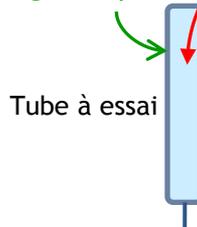
Tension interfaciale

Rhéologie

Stabilité

## Etudes de décontamination in vitro

Forme galénique  
Nitrate d'uranyle

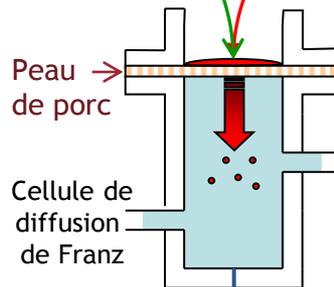


Ultrafiltration

Quantification de U  
par ICP-MS

## Etudes de décontamination ex vivo

Forme galénique  
Nitrate d'uranyle



Quantification de U  
par ICP-MS

## Etudes de toxicité cutanée in vitro

Forme galénique



Tests de viabilité cellulaire

## Etudes de décontamination in vivo

Forme galénique  
Nitrate d'uranyle



Urines, peau, reins,  
fémurs de rats à 48h  
Quantification de U  
par ICP-MS

## Problématique :

- Peu de traitements spécifiques pour U (savons classiques)
- Traitements disponibles peu efficaces (contaminations résiduelles)
- Besoin de traitements plus spécifiques pour certaines localisations (blessures, cheveux)

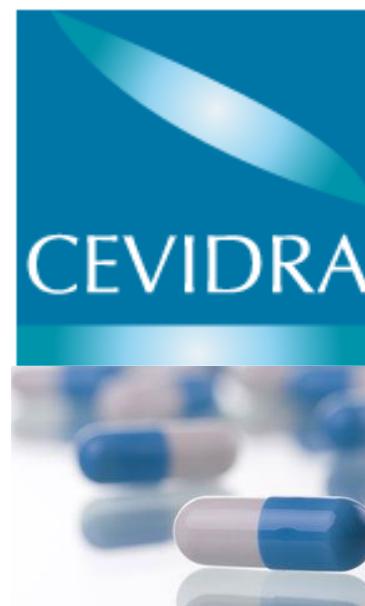
## ⇒ Solutions développées à l'IRSN :

- 1) Nanoémulsion de calixarène pour améliorer l'efficacité et la rapidité de décontamination,
- 2) Gels viscosants de calixarène plus adaptés aux contaminations localisées,
- 3) Crème décontaminante de calixarène pour les cheveux et le corps

## ⇒ Valorisation : Brevet

## ⇒ Recherche d'un partenaire pour la distribution

**CALIXARENE-CEVIDRA**



# Remerciements

Guillaume Phan

Céline Bouvier-Capély

Aurélie Spagnol, Marc Adam

Géraldine Landon,

Alexandre Legrand, David Suhard

Christine Tessier, Naima Sémili

Corinne Belhomme-Henry

Sophie Grivès, Guillaume Morat

Michelle Agarande, Valérie Renaud Salis

Pr Elias Fattal

UMR 8612

