



# **Valéry Aoun**

« *Développement de nouvelles formulations d'antifongiques et évaluation de l'activité sur des souches de Candida spp. et d'Aspergillus spp.* »

**Jeudi, 12 décembre 2013**

**à 13h00, Pavillon Jean Coutu (salle S1-125)**

**Université de Montréal**

**2940 chemin de la polytechnique, Montréal**

## **Jury de thèse**

**Président-rapporteur : François Lacasse**

**Directeur : Patrice Hildgen**

**Codirecteur: Grégoire Leclair**

**Membre du jury : Valérie Gaëlle Roullin**

**Examineur externe : Patrice Le Pape**

**Représentant du doyen de la FESP : à confirmer**

## Résumé

Les travaux effectués dans le cadre de cette thèse de doctorat avaient pour but de mettre au point des nouvelles formulations d'antifongiques sous forme de nanoparticules polymériques (NP) en vue d'améliorer l'efficacité et la spécificité des traitements antifongiques sur des souches sensibles ou résistantes de *Candida spp.*, *Aspergillus spp.* et des souches de *Candida albicans* formant du biofilm.

Dans la première partie de ce travail, nous avons synthétisé et caractérisé un polymère à base de polyester-co-polyéther branché avec du poly(éthylène glycol) (PEG-g-PLA). En plus d'être original et innovant, ce co-polymère a l'avantage d'être non-toxique et de posséder des caractéristiques de libération prolongée. Trois antifongiques couramment utilisés en clinique et présentant une biodisponibilité non optimale ont été choisis, soient deux azolés, le voriconazole (VRZ) et l'itraconazole (ITZ) et un polyène, l'amphotéricine B (AMB). Ces principes actifs (PA), en plus des problèmes d'administration, présentent aussi d'importants problèmes de toxicité. Des NP polymériques encapsulant ces PA ont été préparées par une technique d'émulsion huile-dans-l'eau (H/E) suivie d'évaporation de solvant. Une fois fabriquées, les NP ont été caractérisées et des particules d'environ 200 nm de diamètre ont été obtenues. Les NP ont été conçues pour avoir une structure cœur/couronne avec un cœur constitué de polymère hydrophobe (PLA) et une couronne hydrophile de PEG. Une faible efficacité de chargement (1,3% m/m) a été obtenue pour la formulation VRZ encapsulé dans des NP (NP/VRZ). Toutefois, la formulation AMB encapsulée dans des NP (NP/AMB) a montré des taux de chargement satisfaisants (25,3% m/m). En effet, le caractère hydrophobe du PLA a assuré une bonne affinité avec les PA hydrophobes, particulièrement l'AMB qui est le plus hydrophobe des agents sélectionnés. Les études de libération contrôlée ont montré un relargage des PA sur plusieurs jours. La formulation NP/AMB a été testée sur un impacteur en cascade, un modèle mécanique *in vitro* de poumon et a permis de démontrer le potentiel de cette formulation à être administrée efficacement par voie pulmonaire. En effet, les résultats sur l'impacteur en cascade ont montré que la majorité de la formulation s'est retrouvée à l'étage de collecte correspondant au niveau bronchique, endroit où se situent majoritairement les infections fongiques pulmonaires.

Dans la deuxième partie de ces travaux, nous avons testé les nouvelles formulations d'antifongiques sur des souches planctoniques de *Candida spp.*, *Aspergillus spp.* et des souches de *Candida albicans* formant du biofilm selon les procédures standardisées du *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS). Les souches choisies ont démontré des résistances aux azolés et aux polyènes. Les études d'efficacité *in vitro* ont permis de prouver hors de tout doute que les nouvelles formulations offrent une efficacité nettement améliorée comparée à l'agent antifongique libre.

Pour mettre en lumière si l'amélioration de l'efficacité antifongique était due à une internalisation des NP, nous avons évalué le comportement des NP sur les cellules de champignons. Nous avons procédé à des études qualitatives de microscopie de fluorescence sur des NP marquées avec de la rhodamine (Rh). Tel qu'attendu, les NP ont montré une localisation intracellulaire. Pour exclure la possibilité d'une simple adhésion des NP à la surface des levures, nous avons aussi confirmé leur internalisation en microscopie confocale de fluorescence.

Il est important de noter que peu d'études à ce jour ont mis l'accent sur l'élaboration de nouvelles formulations d'antifongiques à base de polymères non toxiques destinées aux traitements des mycoses, donnant ainsi une grande valeur et originalité aux travaux effectués dans cette thèse. Les résultats probants obtenus ouvrent la voie vers une nouvelle approche pour contourner les problèmes de résistances fongiques, un problème de plus en plus important dans le domaine de l'infectiologie.

**Mots-clés** : nanoparticules polymériques, PEG-g-PLA, antifongiques, *Candida spp.*, *Aspergillus spp.*, biofilms, internalisation cellulaire

## Publications durant le doctorat :

- **Aoun V**, Pagniez F, Leclair G, Hildgen P et Le Pape P. Activité antifongique de nouvelles nanoparticules PLA-PEG d'amphothéricine B et de voriconazole vis-à-vis de *Candida* et *aspergillus*, *Journal de Mycologie Médicale / Journal of Medical Mycology*, 23 (2013) 74-75.
- **Aoun V**, Duval C, Pagniez F, Le Pape P, Raymond M, Leclair G, and Hildgen P. Use of new formulation of amphotericin B encapsulated in PEG-g-PLA nanoparticles for pulmonary administration: lung deposition studies and *in vitro* susceptibility against *Candida spp.* and *Aspergillus spp.* 2012. *Manuscript à soumettre au International Journal of Pharmaceutics*
- Elkin I, Rabanel JM, **Aoun V**, Hildgen P. Synthesis and evaluation of symmetrically PEG-decorated triglycerides of fatty acid as drug encapsulating agents. 2012. *Manuscript soumis au Journal of Microencapsulation*
- Rabanel JM, **Aoun V**, Elkin I, Mokhtar M, and Hildgen P. Drug-loaded nanocarriers: passive targeting and crossing of biological barriers. *Current Medicinal Chemistry*, 19 (2012) 3070-3102.