

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

**François REBIERE**

IRSN  
BP 17 – 92260 FONTENAY AUX ROSES  
[françois.rebiere@irsn.fr](mailto:françois.rebiere@irsn.fr)

## **1 INTRODUCTION**

La contamination cutanée par l'uranium, métal lourd radioactif, est l'un des principaux modes de contamination, avec l'inhalation, des travailleurs de l'industrie nucléaire. Cela constitue une voie d'entrée préoccupante du radionucléide dans l'organisme par le biais de la circulation sanguine. Par ailleurs, de nombreuses études ont démontré que la diffusion transcutanée du radioélément est d'autant plus importante que la peau présente des lésions au niveau de la couche cornée, augmentant ainsi sa biodisponibilité. Ainsi, une contamination initialement externe va induire une exposition interne de la victime à l'uranium, qui va en partie être directement éliminé par voie urinaire, mais également stocké au niveau rénal et osseux.

Cette rétention de l'uranium dans les organes cibles peut alors provoquer des toxicités à la fois chimiques et radiologiques. A l'heure actuelle, le seul traitement disponible dans ce cas de figure consiste en un rinçage immédiat de la zone cutanée contaminée par de l'eau tiède éventuellement additionnée de savon. Une fois la victime transférée au service médical, des décorporants pourront lui être administrés par injection intraveineuse afin de favoriser l'excrétion de l'uranium par voie urinaire. Toutefois, les décorporants disponibles ne semblent pas être efficaces pour la chélation spécifique de l'uranium, et paraissent même potentialiser les effets néphrotoxiques de ce radioélément.

Aucun traitement n'est par ailleurs disponible pour limiter l'entrée de l'uranium dans l'organisme.

Dans ce contexte, un programme de recherche, en collaboration entre le Laboratoire de RadioChimie (LRC) de l'Institut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire (IRSN) et l'UMR CNRS 8612 (Unité Mixte de Recherche du Centre National de la Recherche Scientifique), a été initié en 2006 dans le but de développer de nouvelles formes pharmaceutiques incorporant un agent chélatant de la famille des calixarènes, afin de traiter spécifiquement les contaminations cutanées dues à des composés d'uranium. Le projet de décontamination cutanée démarre à proprement parler avec la thèse d'Aurélien Spagnol qui a été cofinancée par la Délégation Générale pour l'Armement (DGA) entre 2006 et 2009 [3].

## **2 CHOIX DE LA MOLECULE EXTRACTANTE**

La molécule de 1,3,5-OCH<sub>3</sub>-2,4,6-OCH<sub>2</sub>COOH-p-tertbutylcalix[6]arène (Fig. 1), que nous désignerons par la suite par « calix[6]arène carboxylique » ou simplement par « calixarène », a été développée antérieurement au projet d'étude de la décontamination cutanée au laboratoire de radiochimie, pour l'extraction par des colonnes chromatographiques et l'analyse des actinides (uranium, plutonium et américium) présents à l'état de traces dans les urines ou les eaux de boissons [1, 2].

Ce calixarène présentant une bonne affinité et une bonne sélectivité chimique vis-à-vis des actinides, il devenait éligible pour d'autres applications, notamment lorsque le laboratoire a adopté la stratégie de développer des topiques à usage cutané décontaminant, à base d'agent chélatant déjà existant. Impliquée dans divers travaux d'expertise sur le traitement de la contamination interne, l'équipe avait en effet identifié l'absence de traitement véritablement spécifique vis-à-vis des contaminations cutanées par les actinides ainsi que le manque de connaissance sur l'efficacité des traitements existants. En particulier, aucune solution efficace n'était disponible pour traiter les cas de contamination par des composés d'uranium, les seuls traitements existants consistant à un rinçage par des solutions détergentes ou des solutions de DTPA (diéthylène triamine penta acétate) ne permettant pas une décontamination spécifique et efficace du radionucléide.

### **3/ CHOIX DE L'ACTINIDE MODELE POUR LA CONTAMINATION CUTANEE**

Le choix de l'uranium comme modèle de contamination des études menées, repose sur une double argumentation. D'une part, il n'existe pas de traitement spécifique vis-à-vis de ce radionucléide, d'autre part les connaissances du laboratoire en matière de métrologie et de radiochimie particulières à ce radionucléide sont éprouvées :

- une méthode d'analyse élémentaire par spectrométrie de masse couplée à un plasma induit (ICP- MS) a été développée pour l'uranium qui existe sous forme de mélange d'isotopes faiblement radioactifs tels que l'uranium appauvri [4] ;
- l'uranium appauvri sous cette forme isotopique est plus facilement manipulable en termes de radioprotection;
- l'ion uranyle en solution constitue une forme très diffusible de l'uranium à travers la peau et par conséquent, il représente un bon modèle de la contamination cutanée par de l'uranium [5].

Ainsi, les études de décontamination par les formes de calixarène développées ont été réalisées en utilisant l'uranium appauvri sous forme de solutions de nitrate d'uranyle comme modèle de contamination.

### **4/ CHOIX DES FORMES TOPIQUES**

La molécule de calixarène carboxylique est de nature amphiphile et se solubilise préférentiellement dans des solvants organiques tels que les alcools gras (heptanol, octanol etc.) ou bien les huiles minérales telles que l'huile de paraffine ou de silicone par exemple. Le calixarène pur se présentant sous forme d'une fine poudre blanche, une étape préliminaire de dissolution est nécessaire afin de rendre les molécules de calixarènes disponibles pour la chélation des actinides et avant de les incorporer dans des formes adaptées à l'administration topique. De plus, le caractère amphiphile de la molécule lui procure des propriétés interfaciales ce qui permet de l'incorporer dans des formes semi-solides dispersées constituées d'au moins deux phases, telles que les émulsions d'huiles dans de l'eau : des études de mesures de tension interfaciale montrent que la molécule de calixarène se placerait à l'interface huile/eau [6]. Une nanoémulsion de type huile de paraffine dans de l'eau a ainsi été obtenue en 2009. Cette nanoémulsion comporte une teneur optimale de 4 mg/g de calixarène carboxylique ; au-delà de 6 mg/g de formule, la molécule ne se solubilise plus et des cristaux de calixarène sont présents dans la nanoémulsion [6]. La formule a été caractérisée et évaluée in vitro [6, 7] et ex vivo [8] pour sa capacité à complexer l'ion uranyle et à diminuer sa diffusion à travers de la peau de porc excoriée. Cette dernière étude ex vivo montre notamment une efficacité de la nano émulsion chargée en Calixarène de plus de 98% par rapport à l'absence de traitement.

Une autre étude ex vivo [10] montre que cette nano émulsion de calixarène reste efficace en cas de contamination de peaux de porc lésées superficiellement par microcoupures ou micro piqûres. Dans cette étude, la nano émulsion chargée en Calixarène permet une importante diminution du passage transcutané de l'uranium ; elle montre aussi une efficacité nettement supérieure à un traitement par une eau savonneuse [10].

Dans le cadre d'une réunion organisée par l'IRSN en décembre 2009, les travaux de thèse d'Aurélié Spagnul ont été présentés au médecin coordonnateur d'EDF, et aux médecins du groupe AREVA Pierrelatte et de La Hague. Les médecins d'EDF et d'AREVA ont manifesté de l'intérêt pour cette approche, évoquant une problématique rencontrée de contamination récalcitrante associée à des zones peu accessibles au traitement telles que les phanères, poils, cheveux, cuir chevelu ou encore les replis cutanés, et celui des blessures contaminées.

Ces différents échanges ainsi que l'étude des procédures de décontaminations mises en place sur ces différents sites ont inspirés à l'IRSN le développement de nouvelles formes galéniques avec d'abord une Crème Décontaminante de calixarène [11], puis une forme filmogène ou gélifiante de calixarène pour être appliquée localement sur les blessures sans avoir recours à des compresses ou des pansements [12].

## **5/ HISTORIQUE DE CONCEPTION DE LA CREME DECONTAMINANTE**

Les premiers essais de formulation de Crème Décontaminante classique ont été réalisés entre avril et août 2010 et n'ont pas abouti.

Il a été décidé de concevoir une forme biphasique émulsionnée du type émulsion ou Crème Décontaminante de Calixarène qui comporte une proportion d'huile minérale en plus par rapport à la formule classique. Les études d'efficacité ex vivo montrent que la Crème Décontaminante permet de réduire de près de 87% la diffusion de l'uranium à travers la peau de porc excoriée [11].

Au cours de cette étude, l'IRSN met également en évidence une efficacité de la Crème Décontaminante 3,5 fois supérieure à celle d'une solution de DTPA et 3,8 fois supérieure à celle d'une solution d'EHBP (Ethane Hydroxy Biphosphonate) sur la réduction du passage cutané de l'uranium.

## **6/ VALORISATION DE LA CONCEPTION DE LA CREME DECONTAMINANTE**

Un brevet protégeant les formules topiques de calixarène pour la décontamination cutanée des actinides a été déposé en 2008 [9] pour les pays de l'OCDE et la Fédération de Russie.

Il était donc possible pour l'IRSN de valoriser cette invention auprès des acteurs de la filière nucléaire civile et militaire une fois sa conception en laboratoire terminée.

Le traitement des contaminations cutanées aux actinides par cette « Crème Décontaminante » a conduit l'IRSN à se rapprocher de l'industrie pharmaceutique pour étudier la faisabilité d'en faire un produit accepté par les autorités de santé.

En 2016 un contrat de valorisation a été conclu avec un laboratoire pharmaceutique français pour la rédaction du dossier d'enregistrement et son enregistrement auprès de l'ANSM et pour son industrialisation et sa commercialisation en France dès 2017 et dans les pays d'Europe, d'Amérique du Nord et d'Asie couverts par le brevet dans les années suivantes. L'invention sera utilisée pour le traitement des contaminations cutanées par l'uranium, le plutonium et/ou l'américium et sera conforme à la Pharmacopée Française.

L'IRSN a conclu de nouvelles conventions complémentaires en 2017 avec le même laboratoire pharmaceutique afin d'étendre la prévention.

## 7/ REFERENCES

- [1] Boulet, B., Bouvier-Capely, C., Cossonnet, C. et Cote, G. (2006). "Solvent extraction of U(VI) by calix[6]arenes". *Solvent extraction and ion exchange*, 24(3), 319-330
- [2] Bouvier-Capely, C., Manoury, A., Legrand, A., Bonthonneau, J. P., Cuenot, F. et Rebière, F. (2009). "The use of calix[6]arene molecules for actinides analysis in urine and drinking water: An alternative to current procedures". *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 282(2), 611-615
- [3] Spagnul, A. (2009) "Développement d'une forme pharmaceutique véhiculant un calixarène destinée au traitement d'une peau saine ou lésée contaminée par de l'uranium". Thèse de Doctorat n°1031. Université de Paris Sud
- [4] Bouvier-Capely, C., Baglan, N., Montegue, A., Ritt, J. et Cossonnet, C. (2003). "Validation of uranium determination in urine by ICP-MS". *Health Phys*, 85(2), 216-9
- [5] De Rey, B. M., Lanfranchi, H. E. et Cabrini, R. L. (1983). "Percutaneous absorption of uranium compounds". *Environmental Research*, 30(2), 480-491
- [6] Spagnul, A., Bouvier-Capely, C., Phan, G., Rebière, F. et Fattal, E. (2010). "Calixarene-entrapped nanoemulsion for uranium extraction from contaminated solutions". *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 99(3), 1375-1383
- [7] Spagnul, A., Bouvier-Capely, C., Adam, M., Phan, G., Rebière, F. et Fattal, E. (2010). "Quick and efficient extraction of uranium from a contaminated solution by a calixarene nanoemulsion". *International Journal of Pharmaceutics*, 398(1-2), 179-184
- [8] Spagnul, A., Bouvier-Capely, C., Phan, G., Landon, G., Tessier, C., Suhard, D., Rebière, F., Agarande, M. et Fattal, E. (2011). "Ex vivo decrease in uranium diffusion through intact and excoriated pig ear skin by a calixarene nanoemulsion". *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 79(2), 258-267
- [9] Spagnul, A., Rebière, F., Phan, G., Bouvier-Capely, C. et Fattal, E. "Cosmetic and pharmaceutical formulations of calixarene molecules". French patent-FR-2009/8987334 (2009)
- [10] Grives, S., Phan, G., Morat, G., Suhard, D., Rebière, F. et Fattal, E. (2015). "Ex vivo uranium decontamination efficiency on wounded skin and in vitro skin toxicity of a calixarene-loaded nanoemulsion". *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 104(6), 2008-2017
- [11] Phan, G., Semili, N., Bouvier-Capely, C., Landon, G., Mekhloufi, G., Huang, N., Rebière, F., Agarande, M. et Fattal, E. (2013). "Calixarene cleansing formulation for uranium skin contamination". *Health Physics*, 105(4), 382-389
- [12] Belhomme-Henry, C., Phan, G., Huang, N., Bouvier, C., Rebière, F., Agarande, M. et Fattal, E. (2014). "Texturing formulations for uranium skin decontamination". *Pharmaceutical Development and Technology*, 19(6), 692-701
- [13] Aka-Any-Grah, A., Bouchemal, K., Koffi, A., Agnely, F., Zhang, M., Djabourov, M. et Ponchel, G. (2010). "Formulation of mucoadhesive vaginal hydrogels insensitive to dilution with vaginal fluids". *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 76(2), 296-303