

**Année 2017-2018 - Demande d'allocation doctorale
ED Santé, Sciences Biologiques et Chimie du Vivant (SSBCV) n°549**

1. Informations administratives :

Nom de l'encadrant responsable de la thèse : Leslie Boudesocque-Delaye

Unité : EA SIMBA

Equipe (si unité multi-équipes):

Filière de rattachement : Filière A

Email de l'encadrant : leslie.boudesocque@univ-tours.fr

Co-encadrant éventuel (NB : limité à 1 seul co-encadrant(e)) : xxx

2. Titre de la thèse : Eco-extraction de lipides d'intérêt dermatologique.

3. Résumé :

Contexte : Les maladies inflammatoires chroniques cutanées, psoriasis et dermatite atopique, touchent plus de 25 millions de personnes en Europe et en Amérique du Nord. Leur point commun est une perturbation de la barrière et du microbiote cutanés favorisant les processus inflammatoires. Les stratégies thérapeutiques émergentes s'orientent vers la régulation du microbiote cutané en complément des traitements anti-inflammatoires existants.

Les **acides gras libres** (AGL) sont des métabolites naturellement présents sur la peau assurant le **contrôle du microbiote cutané** (Desbois et Smith, 2010). Les AGL, notamment polyinsaturés (AGPI), sont également des **métabolites physiologiques** transformés au niveau de l'épiderme par la 15-lipoxygénase pour générer des monoacides hydroxylés, responsables de la **régulation de la prolifération** des kératinocytes ou porteurs d'une **activité anti-inflammatoire** (Ziboh *et al.*, 2000). Les AGL possèdent de ce fait un double intérêt : la lutte contre l'inflammation cutanée et le rééquilibrage du microbiote.

Les AGL sont présents en **larges quantités dans les microalgues**, véritables usines à métabolites bio-actifs. Actuellement les lipides issus des biomasses sont extraits par des solvants potentiellement toxiques, et de sélectivité assez réduite, imposant des étapes d'évaporation et/ou de purification poussées. Fin des années 2000, les solvants eutectiques profonds naturels (NaDES), une nouvelle classe de **solvants verts et biocompatibles**, composés de métabolites primaires (chlorure de choline et sucres ou polyols...) ont fait leur apparition (Tang *et al.*, 2015). Plus d'une centaine de NaDES de composition variable sont actuellement décrits mais très **peu sont appliqués à l'extraction de métabolites hydrophobes**. Leur biocompatibilité (Choi *et al.*, 2011) permet d'envisager une utilisation directe des extraits **sans étape d'élimination de solvant**. Les NaDES améliorent également la biodisponibilité et potentialisent l'activité anti-oxydante des métabolites solubilisés (Chene *et al.*, 2015). Ils constituent ainsi une alternative pertinente pour la production d'extraits ciblant les pathologies cutanées chroniques inflammatoires.

Données préliminaires : Les fractions lipidiques de *Spirulina platensis*, microalgue modèle, ont montré un **profil enrichi en AGPI de type n-6 et en AG non conventionnels** (Stage M2 2017). Ces fractions ont montré une bonne innocuité sur cultures de fibroblastes HS68 et de kératinocytes HaCaT. Des travaux débuteront en janvier 2018 sur l'extraction de cette même

microalgue par un panel restreint de NaDES. Ces travaux constituent le **criblage préliminaire** pour l'identification des « familles » de NaDES **les plus performantes** pour l'extraction de fractions lipidiques bioactives (Financement : ARC Tours-Poitiers VESPA 2017, ECoAlg Cosmétosciences 2017 Post-doctorat, Master 2). L'impact de ces premiers extraits sur **l'inflammation cutanée** en modèle **fibroblastes stimulés par *Staphylococcus aureus*** sera étudié, ainsi que le potentiel anti-microbien sur quelques souches pathogènes et commensales de la peau (Collaboration C. Bodet EA LITEC M2 Cosmétosciences).

Déroulement : Le(a) doctorant(e) aura en charge le développement de **gammes de NaDES innovants** sur la base de ceux identifiées comme présentant une sélectivité importante vis-à-vis des AGL d'intérêt dans le cadre du projet ECoAlg. Le potentiel extractif sera ensuite étudié sur **3 biomasses micro-algales** modèles : *S. platensis* (procaryote) et *Chlorella vulgaris* et *Porphyridium sp.* (eucaryote). Le profil métabolique permettra de sélectionner les extraits les plus riches en AGL.

Les extraits enrichis et les NaDES seuls seront ensuite **criblés sur différentes cibles** au travers de collaborations déjà établies dans le cadre de nos projets ARC et Cosmétosciences: impact sur **culture de fibroblastes HS68 et de kératinocytes HaCaT**, impact sur les processus **inflammatoires cutanés** stimulés par *S. aureus* (TNF- α , IL-6, IL-20, IL-8...), impact sur le **microbiote cutané**.

Faisabilité : L'équipe travaille depuis plusieurs années sur la caractérisation métabolique de microalgues au travers de contrats privés ou publics. Les outils analytiques sont déjà en place au laboratoire. Les collaborations sont également déjà effectives (EA NMNS, EA LITEC).

4. Résumé en anglais :

Titre : Eco-extraction of lipids of dermatological interest.

Background: Chronic inflammatory skin diseases, psoriasis and atopic dermatitis, affect more than 25 million people in Europe and North America. Their common point is a disruption of the cutaneous barrier and microbiota favoring inflammatory processes. Emerging therapeutic strategies are moving towards the regulation of cutaneous microbiota in replacement of existing symptomatic treatments.

Free fatty acids (FFA) are metabolites naturally present on the skin that control the skin microbiota (Desbois and Smith, 2010). FFA, especially polyunsaturated (PUFA), are also physiological metabolites transformed by epidermic 15-lipoxygenase to generate monohydroxyacids, responsible for regulating the proliferation of keratinocytes or carrying an anti-inflammatory activity. FFAs thus have a double interest: the fight against skin inflammation and the rebalancing of the microbiota.

FFAs are present in large quantities in microalgae, considered as bio-active metabolites factories. Currently, biomass' lipids are extracted by toxic solvents exhibiting a quite low selectivity, imposing evaporation steps and / or advanced purification. At the end of the 2000s, natural deep eutectic solvents (NaDES), a new class of green and biocompatible solvents, composed of primary metabolites (choline chloride and sugars or polyols), appeared (Tang et al., 2015). More than one hundred NaDES of variable composition are currently described but very few are applied to the extraction of hydrophobic metabolites. Their biocompatibility (Choi et al., 2011) makes it possible to envisage a direct use of extracts without a solvent elimination step. NaDES also improve bioavailability and potentiate the antioxidant activity of solubilized metabolites (Chene et al, 2015). They thus constitute a relevant alternative for the production of extracts targeting inflammatory chronic diseases.

Preliminary data: The lipid fractions of *Spirulina platensis*, model microalgae, showed a profile enriched in n-6 type PUFAs, and in unusual FFA (Stage M2 2017). These fractions showed good safety on HS68 fibroblast and HaCaT keratinocytes cultures. Work will begin in

January 2018 on the extraction of this same microalgae by a panel of NaDES. This work constitutes the preliminary screening for the identification of the best performing "class" of NaDES for the extraction of bioactive lipid fractions (Funding: ARC Tours-Poitiers VESPA 2017, ECoAlg Cosmetosciences 2017 Post-doctoral). The impact of these first extracts on cutaneous inflammation in *Staphylococcus aureus* stimulated fibroblast model will be studied, as well as the antimicrobial potential on some pathogenic and commensal strains of the skin (EA LITEC M2 Cosmetosciences).

PhD steps: The PhD student will be in charge of the development of innovative NaDES ranges based on those identified as having a high selectivity towards bioactive FFA in the ECoAlg project. The extractive potential will then be studied on 3 model microalgal biomasses: *S. platensis* (prokaryote) and *Chlorella vulgaris* and *Porphyridium sp.* (Eukaryotes). The metabolic profile will select the richest extracts of FFA.

The enriched extracts and the NaDES alone will then be screened on different targets through collaborations already established within the framework of our ARC and Cosmetosciences projects: impact on HS68 fibroblast and HaCaT keratinocytes culture, impact on *S. aureus* stimulated skin inflammatory processes (TNF- α , IL-6, IL-20, IL-8 ...), impact on the cutaneous microbiota.

Feasibility: The team has been working for several years on the metabolic characterization of microalgae through private or public contracts. The analytical tools are already in place in the laboratory. The collaborations are also already effective (EA NMNS, EA LITEC).