

**Laboratoire de Chimie, Structures et Propriétés de Biomatériaux et d'Agents Thérapeutiques  
CSPBAT - UMR CNRS 7244 – Equipe CBS - UFR SMBH, Bobigny**

**Sujet de thèse :** Synthèse, vectorisation et évaluation biologique d'inhibiteurs phosphorés d'enzymes de la voie de biosynthèse des isoprénoïdes pour des traitements anti-cancéreux

Les enzymes de la voie de biosynthèse des isoprénoïdes (aussi appelée voie du mévalonate) sont des cibles intéressantes dans la conception de molécules thérapeutiques antitumorales. En effet, la farnésyl pyrophosphate synthase (FPPS) et la géranylgeranyl pyrophosphate synthase (GGPPS) sont des enzymes cytoplasmiques clés dans la biosynthèse de métabolites essentiels tels que le cholestérol ou dans la prénylation de protéines cytoplasmiques (petites GTPases : Ras, Rho, Rac, Rab...) impliquées dans les fonctions cellulaires telles que la survie ou la migration. Inhiber ces enzymes constitue donc une stratégie intéressante pour conduire à la mort cellulaire tumorale. Par ailleurs, l'inhibition de la FPPS entraîne l'activation et la prolifération des lymphocytes  $T\gamma\delta$  conduisant au déclenchement de l'immunité antitumorale.

Parmi les inhibiteurs de ces enzymes, figurent les hydroxyméthylènebisphosphonates (HMBPs). Une étude clinique récente a en effet montré que le zolédronate (HMBP de 3<sup>ème</sup> génération) apportait un réel bénéfice en tant qu'adjuvant dans le traitement de métastases osseuses dues à un cancer du sein. En effet, les HMBPs sont utilisés depuis longtemps dans les pathologies de l'os liées à un métabolisme anormal du calcium (ostéoporose, maladie de Paget) en raison de leur complexation avec l'hydroxyapatite (phosphate de calcium, constituant principal de la partie minérale des os et des dents). Cependant, plus récemment, les HMBPs ont montré d'intéressantes propriétés cytotoxiques et anti-angiogéniques *in vitro* et *in vivo* dans certains modèles de cancer du sein et de la prostate. Mais leur pharmacocinétique défavorable vis-à-vis d'un autre tissu que l'os ne permet pas actuellement d'exploiter pleinement leur potentiel antitumoral sur des tissus non osseux.

Afin de changer la biodistribution naturelle des HMBPs vers l'os pour des tissus vascularisés, notre équipe a mis au point la synthèse d'analogues de type phosphinylphosphonate moins affins pour l'hydroxyapatite. Des dérivés de HMBPs de 2<sup>ème</sup> génération ont été obtenus (alendronate et nérédronate) et l'étude de leur activité anti-proliférative *in vitro* sur différentes lignées de cellules tumorales (sein, poumon, pancréas) a donné d'encourageants résultats.

L'objectif de cette thèse sera de poursuivre des travaux initiés sur les hydroxyméthylènebisphosphinylphosphonates (HMPPs) en modifiant la nature de leur chaîne latérale. Ainsi, **1)** des composés de 3<sup>ème</sup> génération, attendus comme plus efficaces par analogie avec les HMBPs correspondants, seront synthétisés tels que des dérivés du zolédronate mais également du risédronate, de l'ibandronate ou du minodronate. Des molécules plus originales comportant un noyau triazole ou autres hétérocycles obtenus par cycloaddition-1,3-dipolaire sont aussi envisagées. En effet, des HMBPs synthétisés au laboratoire portant un triazole ont donné des résultats anti-prolifératifs *in vitro* prometteurs. **2)** Des analogues phosphonocarboxylates (PCs) seront par ailleurs synthétisés. Certains PCs analogues de HMBPs de 3<sup>ème</sup> génération sont connus comme étant des inhibiteurs de la géranylgeranyltransférase II (GGTase II). Cette enzyme est responsable de la modification post-traductionnelle de la famille Rab des petites GTPases et constitue donc aussi une cible enzymatique conduisant à la mort cellulaire lorsqu'elle est inhibée. Les deux fonctions chimiques phosphinyl et carboxylate du HMPP et du PC respectivement pourront alors être comparées biologiquement. En effet, **3)** tous les nouveaux composés synthétisés seront testés *in vitro* afin d'évaluer leurs propriétés anti-prolifératives, anti-migratoires et anti-invasives vis-à-vis de plusieurs lignées cellulaires. De plus, la géométrie et le pKa du phosphinyl et du carboxylate étant différents, **4)** il sera intéressant d'étudier par docking leur fixation au site catalytique de l'enzyme (collaboration avec le Dr. Florent Barbault, Itodys, UMR CNRS 7086, Université Paris Diderot). La complexation des nouveaux composés HMPPs et PCs hétérocycliques azotés synthétisés sera étudiée **5)** d'une part vis-à-vis de l'hydroxyapatite, et d'autre part **6)** vis-à-vis de cations divalents tels que le calcium ou le magnésium. **7)** La pénétration cellulaire de ces molécules sera également évaluée en utilisant la lignée cellulaire Caco-2 qui est un modèle permettant d'étudier l'absorption intestinale. Il est possible de quantifier le passage de molécules au travers d'une membrane car ces cellules forment des jonctions serrées.

La seconde partie de ce travail sera basée sur la vectorisation des meilleurs candidats synthétisés précédemment afin d'améliorer leur biodisponibilité. Deux types de transporteurs seront étudiés. **1)** Dans un premier temps, les nouveaux HMPPs/PCs seront greffés à un polysaccharide naturel tel que le dextran ou l'acide hyaluronique et testés biologiquement. De précédents travaux de vectorisation de HMBPs de 2<sup>ème</sup> génération à l'aide du dextran ont montré d'excellents résultats *in vitro* comparés à la molécule seule mais surtout *in vivo* sur des modèles de souris. L'organisation spatiale des nouveaux bioconjugués sera également étudiée par microscopie. **2)** D'autre part, des nanoobjets hybrides HMPPs/PCs-nanoparticules d'or seront élaborés. Leurs caractérisations et leurs propriétés physico-chimiques seront étudiées et leur activité biologique sera évaluée (collaboration avec le Dr. Jolanda Spadavecchia, CSPBAT, UMR CNRS 7244, Université Sorbonne Paris Nord). Des travaux antérieurs ont montré que des nanoparticules d'or greffées de HMBPs ont permis une inhibition efficace de la prolifération de cellules tumorales de pancréas.

**Direction de thèse :** Dr. Evelyne MIGIANU-GRIFFONI - migianu@univ-paris13.fr - 01 48 38 73 14

**Co-encadrement de thèse :** Dr. Maelle MONTEIL - maelle.monteil@univ-paris13.fr - 01 48 38 73 14