



**Journée scientifique de la Fédération de Recherche  
"Physique et Chimie du Vivant"  
FR 2708**



**Centre International Universitaire Dupanloup**  
Hôtel Dupanloup  
1 rue Dupanloup, 45000 Orléans

**Jeudi 25 avril 2019**



# Journée scientifique de la Fédération de Recherche FR 2708



Centre International Universitaire Dupanloup  
Jeudi 25 avril 2019

- ❖ **08h45 - 09h10** : Accueil
- ❖ **09h10 – 09h20** : **Ouverture de la journée**
- ❖ **09h20 – 10h10** : **IL 1 – Dr. Didier ROGNAN** (Laboratoire d'Innovation Thérapeutique (LIT), UMR7200 CNRS-Université de Strasbourg) *Découverte d'inhibiteurs extracellulaires de la kinase FLT3 par criblages in silico et expérimental : De la touche au candidat préclinique*
- ❖ **10h10 – 10h30** : **COM 1 – Projet en collaboration : Chantal Pichon (CBM), Isabelle Gillaizeau (ICOA)** **Présentation : Ismael DONDASSE (ICOA)** *Synthèse et évaluation de nouveaux polymères cationiques contenant des molécules capables de chélater des ions Zn<sup>2+</sup>*
- ❖ **10h30 – 11h10** : **PAUSE CAFÉ + POSTERS**
- ❖ **11h10 – 11h40** : **CONF 1 – Estelle Gallienne (ICOA)** *Iminosugar-based galactoside mimics as pharmacological chaperones for the treatment of lysosomal diseases*
- ❖ **11h40 – 12h00** : **COM 2 – Projet en collaboration : Bertrand Castaing (CBM), Vincent Roy (ICOA)** **Présentation : Bertrand Castaing (CBM)** *Inhibition des ADN glycosylases de la super famille structurale Fpg/Nei par des thiopurines: relations structure-activité*
- ❖ **12h00– 12h30** : **CONF 2 – Thomas Georgelin (CBM)** *La catalyse hétérogène appliquée à la chimie prébiotique*
- ❖ **12h30 – 14h00** : **DÉJEUNER et POSTERS**
- ❖ **14h00 – 14h50** : **IL 2 – Dr. Frédéric PECORARI** (Centre de Recherche en Cancérologie et Immunologie Nantes-Angers) *Stratégies de sélection et criblage pour le développement de protéines d'affinité : l'exemple des Affitines*
- ❖ **14h50 – 15h20** : **CONF 3 – Svetlana Eliseeva (CBM)** *Lanthanide(III)-Based Probes : Photophysical Properties and Biological Imaging*
- ❖ **15h20 – 15h50** : **CONF 4 – Bérengère CLAUDE (ICOA)** *Les polymères à empreintes moléculaires appliqués aux analyses de traces dans les fluides biologiques et les eaux environnementales*
- ❖ **15h50** : **CLOTURE**

**Découverte d'inhibiteurs extracellulaires de la kinase FLT3 par criblages in silico et expérimental : De la touche au candidat préclinique.**

*Laboratoire d'Innovation Thérapeutique (LIT), UMR7200 CNRS-Université de Strasbourg*

Le récepteur tyrosine kinase FLT3 a récemment été démontré comme étant le responsable du déclenchement et de la maintenance des douleurs neuropathiques chroniques consécutives à une lésion nerveuse [1]. Un premier criblage in silico d'une chimiothèque commerciale de 5 millions de molécules nous a permis d'identifier les premiers inhibiteurs extracellulaires de ce récepteur, dont l'optimisation a conduit au BDT001, le premier inhibiteur spécifique de FLT3 capable de supprimer de manière durable les douleurs neuropathiques induites chez le rongeur [1]. Cet inhibiteur n'étant pas développable pour la voie orale, la recherche de séries back-up a été effectuée par un criblage expérimental de 48 000 molécules de la Chimiothèque Nationale, au moyen d'un essai de compétition basé sur la technique de FRET en temps résolu. Ce criblage nous a conduit à 110 touches issues de 10 séries chimiques différentes, dont le potentiel de développabilité a été examinée par l'étude de propriétés ADMET et de safety précoces. 3 séries chimiques différentes ont pu ainsi être sélectionnées pour une optimisation hit to lead afin de disposer d'inhibiteurs biodisponibles par voie orale. Les inhibiteurs extracellulaires de FLT3 constituent une nouvelle classe d'anti-hyperalgésiques dont le développement clinique devrait conduire au premier traitement curatif de douleurs chroniques

[1] Rivat, C., Sar, C., Mechali, I., Dioufoulet, L., Leyris, J.P., Sonrier, C., Philipson, Y., Lucas, O., Maillé, S., Haton, H., Venteo, S., Mezghrani, A., Joly, W., Mion, J., Schmitt, M., Pattyn, A., Marmigère, F., Sokoloff, P., Carroll, P., Rognan, D.\* and Valmier, J.\* (2018) Inhibition of neuronal FLT3 receptor tyrosine kinase alleviates peripheral neuropathic pain in mice. *Nat. Commun.*, 9, 1042

### **Biographie**

Didier Rognan heads the Laboratory of Therapeutic Innovation (LIT) at the Faculty of Pharmacy of Strasbourg (France). He studied Pharmacy at the University of Rennes (France) and did a Ph.D. in Medicinal Chemistry in Strasbourg (France) under the supervision of Prof. C.G. Wermuth. After a post-doctoral fellow at the University of Tübingen (Germany, supervisor PD. Dr. G. Folkers), he moved as an Assistant Professor at the Swiss Federal Institute of Technology (ETH, Supervisor: Prof. G. Folkers) until October 2000. He was then appointed Research Director at the CNRS to build a new laboratory in Strasbourg. Dr. Rognan is scientific consultant for several pharmaceutical companies (e.g. Lilly, Sanofi, Servier, Solvay) and has created two start-up (IDEALP Pharma, medchem CRO) and BIODOL Therapeutics (innovative treatment of chronic pain). He is mainly interested in all aspects of structure-based design and synthesis of bioactive compounds.

**Synthèse et évaluation de nouveaux polymères cationiques contenant des molécules capables de chélater des ions  $Zn^{2+}$**

Ismael Félix Dondasse

*Institut de Chimie Organique et Analytique, Université d'Orléans, CNRS, Orléans*

Depuis la découverte de l'immunité antitumorale, les stratégies en immunothérapie des tumeurs se développent de façon importante. Les cellules tumorales présentent en effet des antigènes de tumeur capables d'être reconnus par les cellules effectrices du système immunitaire, qui peuvent alors, dans certaines conditions, les éliminer. Ainsi, parmi les stratégies cellulaires actuellement à l'étude, une approche prometteuse consiste à traiter les patients avec des cellules dendritiques chargées avec des antigènes de tumeur.

La délivrance des gènes vise l'introduction de matériel génétique (ADN, ARN) dans les cellules afin de moduler l'activité cellulaire selon un objectif thérapeutique. Les vecteurs viraux permettent une transfection très efficace et prometteuse. Cependant, divers inconvénients ont été révélés, tels que la réponse immunitaire, l'inflammation, l'intégration génomique aléatoire et la taille limitée du matériel génétique qui peut être transportés. Des vecteurs synthétiques ont été envisagés afin de contourner ces limites.

**Au cours de ce projet basé sur une collaboration et le savoir-faire de deux équipes orléanaises de chimistes (Pr. I. Gillaizeau, ICOA) et de biologistes (Prs. C. Pichon, P. Midoux, CBM), nous avons envisagé la synthèse d'agents chélateur de cations divalents greffables sur des polymères cationiques. Le but étant ensuite de tester leur activité de transfection in vivo de cellules dendritiques avec des ARNm synthétiques codant des antigènes tumoraux et d'induction d'une réponse immune spécifique contre des cellules tumorales.**

**Iminosugar-based galactoside mimics as pharmacological chaperones for the treatment of lysosomal diseases**

Estelle Gallienne, Sophie Front, Stéphane Demotz, Olivier R. Martin

*ICOA, Université d'Orléans & CNRS, UMR 7311*

As part of our research program dedicated to the design of new iminosugars as therapeutic agents for lysosomal diseases, we synthesized a diversity of iminosugar-based galactoside mimics and investigated them as pharmacological chaperones for mutant forms of lysosomal  $\beta$ -galactosidases, responsible for such devastating diseases as GM1-gangliosidosis and Morquio B disease. The synthesis and remarkable biological results of C-alkylated derivatives of 4-epi-isofagomine will be presented, establishing that these compounds are extremely promising leads for the treatment of  $\beta$ -galactosidase-linked lysosomal diseases by the Pharmacological Chaperone Therapy.

**Inhibition des ADN glycosylases de la super famille structurale Fpg/Nei par des thiopurines: relations structure-activité**

Bertrand CASTAING<sup>a</sup>, Charlotte RIEUX<sup>a</sup>, Stéphane GOFFINONT<sup>a</sup>, Franck COSTE<sup>a</sup>, Julien CROS<sup>a</sup>, Virginie GAUDON<sup>a</sup>, Martien GUERIN<sup>a</sup>, Vincent ROY<sup>b</sup>, Luigi AGROFOGLIO<sup>b</sup> & Norbert GARNIER<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Centre de Biophysique Moléculaire du CNRS, Orléans

<sup>b</sup> Institut de Chimie Organique et Analytique, Université d'Orléans, CNRS, Orléans

Les espèces réactives de l'oxygène (OH •, O<sub>2</sub>- •, 1O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ...) issues du métabolisme respiratoire ou de la radiolyse de l'eau par rayonnement ionisant, des processus de réaction de Fenton ou de photo-activation sont responsables de la formation de nombreux produits d'oxydation des bases de l'ADN (1). Ces lésions peuvent interférer avec le métabolisme de l'ADN et conduire à la mort cellulaire ou, plus grave, à des mutations (initiation de processus de cancérogénèse). Pour pallier ces effets délétères, les organismes ont mis en place le système de réparation de l'ADN par excision de base (BER) (2). Les ADN glycosylases initient le système BER en excisant les bases lésées. Bien que les systèmes de réparation de l'ADN contribuent à la stabilité génétique d'un organisme, ils peuvent être à l'origine de résistance à certains agents génotoxiques utilisés en thérapie anticancéreuse (RX, cisplatine, ...). Dans ces conditions et paradoxalement, les ADN glycosylases du système BER ont été identifiées récemment comme de nouvelles cibles dans le cancer et dans certaines maladies neurodégénératives (Huntington et Alzheimer). Dans un travail récent, nous avons montré que la 2-thioxanthine (2TX) était un inhibiteur des ADN glycosylases de la superfamille structurale Fpg/Nei (3). Sur la base de cette première observation, nous avons synthétisé une petite bibliothèque de dérivés de 2TX (en collaboration avec le groupe de Luigi Agrofoglio de l'ICOA) et évalué leurs effets sur les ADN glycosylases Fpg/Nei (4). Nous avons identifié des inhibiteurs plus efficaces que 2TX pour les ADN glycosylases Fpg/Nei contenant un doigt à zinc et, de manière surprenante, certains d'entre eux inhibent également les homologues fonctionnels et structuraux de protéines Fpg/Nei sans doigt à zinc : la protéine humaine hNEIL1 et celle de Mimivirus mvNei1. Par une approche combinatoire en chimie de synthèse, biochimie, spectrométrie de masse, simulations de dynamique moléculaire, amarrage moléculaire et cristallographie, nous avons élucidé au niveau atomique le mode d'action des meilleurs inhibiteurs sur les enzymes contenant un doigt de zinc (LIFpg) et proposons un mécanisme d'inhibition possible de certains d'entre eux sur les enzymes de la superfamille Fpg/Nei dépourvues de doigt de zinc (hNEIL1, mvNei1).

(1) Lindahl, T. (1993) Instability and decay of the primary structure of DNA. *Nature*, 362, 709-715.

(2) Dalhus, B., Laerdahl, J.K., Backe, P.H. and Bjoras, M. (2009) DNA base repair--recognition and initiation of catalysis. *FEMS microbiology reviews*, 33, 1044-1078.

(3) Biela, A., Coste, F., Culard, F., Guerin, M., Goffinont, S., Gasteiger, K., Ciesla, J., Winczura, A., Kazimierczuk, Z., Gasparutto, D. et al. (2014) Zinc finger oxidation of Fpg/Nei DNA glycosylases by 2-thioxanthine: biochemical and X-ray structural characterization. *Nucleic acids research*, 42, 10748-10761.

(4) Prakash, A., Doublet, S. and Wallace, S.S. (2012) The Fpg/Nei family of DNA glycosylases: substrates, structures, and search for damage. *Progress in molecular biology and translational science*, 110, 71-91.

**La catalyse hétérogène appliquée à la chimie prébiotique**

Thomas Georgelin

*Centre de Biophysique Moléculaire, CNRS, Rue Charles Sadron, 45000 Orléans, France.  
Sorbonne Université, CNRS UMR 7197, Laboratoire de réactivité de surface, 4 place Jussieu, F-75005 Paris, France.*

La vie telle que nous la connaissons aujourd'hui est issue d'un long processus d'évolution chimique et biologique qui trouve son origine il y a environ 4 milliards d'années. Sur notre Terre primitive, une chimie complexe, s'est mise en place dans un contexte géochimique spécifique. Cette chimie prébiotique est encore mal connue de nos jours et fait l'objet d'importantes recherches avec comme écueil principal, l'absence de traces fossiles permettant de guider les expériences. Les recherches se focalisent en ce sens sur la synthèse des molécules utilisées par le vivant, principalement les oligonucléotides (ARN, ADN) et les peptides. La synthèse en solution aqueuse de ces molécules dans des conditions abiotiques est thermodynamiquement et cinétiquement défavorable. Considérant la présence importante de catalyseurs inorganiques dans presque tous les environnements géologiques de la Terre primitive, il serait possible de résoudre une grande partie des problématiques chimiques. Au cours de cette présentation, plusieurs exemples seront abordés afin de mettre en lumière l'apport important de la catalyse hétérogène pour les questions d'origine de la vie.

**Stratégies de sélection et criblage pour le développement de protéines d'affinité : l'exemple des Affitines**

*Centre de Recherche en Cancérologie et Immunologie Nantes-Angers  
CRCINA Inserm 1232, ERL CNRS 6001, 8 quai Moncoussu, Nantes ; [www.intercept.cnrs.fr](http://www.intercept.cnrs.fr)*

Avec leurs propriétés biophysiques favorables, les protéines d'affinité artificielles sont une contribution importante au panel d'outils d'affinité disponibles pour des applications biotechnologiques et biomédicales. En 2007, notre groupe a ouvert la voie à l'utilisation des protéines hyper acido-thermostables Sul7d d'archées pour la conception de ligands d'affinité à façon, que nous avons appelé Affitines. Pour les concevoir, nous couplons la génération de banques combinatoires de 1012 variants d'Affitines à la technique de sélection in vitro très puissante du ribosome display contre un ligand d'intérêt, protéines ou bactéries. Des approches de criblages permettent ensuite d'identifier les variants d'Affitines les plus adaptés aux applications visées que ce soit pour la détection, la capture ou l'inhibition de cibles. L'exposé détaillera l'origine des Affitines, leur processus de génération ainsi que les approches de sélection et de criblage que nous avons mises en œuvre en les illustrant avec nos travaux.

**Biographie**

Frédéric Pecorari a obtenu son doctorat à l'Université de Paris 11 en 1995, et a travaillé comme post-doctorant dans le groupe du Professeur Andreas Plückthun à l'Université de Zürich (Suisse), à partir de 1996 où il s'est initié à l'ingénierie des protéines et aux sélections par ribosome display. En 2003, il a rejoint le groupe de microbiologie structurale du Professeur Pedro Alzari à l'Institut Pasteur où il a développé l'utilisation des protéines extrémophiles de la famille Sul7d que l'on trouve chez les archées pour concevoir des protéines d'affinité artificielles, les Affitines. Chargé de recherche CNRS, Frédéric anime maintenant au Centre de Recherche en Cancérologie et Immunologie de Nantes-Angers le groupe « Intercept » axé sur le ciblage et la découverte d'interaction protéine-ligand par des approches combinatoires dans des contextes infectieux et tumoraux avec l'objectif de les traduire en nouvelles applications biomédicales.



**Lanthanide(III)-Based Probes : Photophysical Properties and Biological Imaging**

Svetlana Eliseeva

*Centre de Biophysique Moléculaire, CNRS, Rue Charles Sadron, 45071 Orléans*

The design of highly luminescent lanthanide(III)-based compounds with specific functional properties is becoming particularly important for a variety of biological applications. With this goal in mind, different systems have been synthesized and tested.<sup>1</sup> Among them, metallacrowns (MCs) have demonstrated a unique ability to sensitize characteristic emission of lanthanide(III) ions in the visible and in the near-infrared ranges<sup>2</sup> combined with high photostability and applicability for labelling of cell necrosis,<sup>3</sup> or for simultaneous cell fixation and counter staining.<sup>4</sup>

In this presentation, the specificities of crystal structures of ZnII/LnIII and GaIII/LnIII metallacrowns as well as strategies to tune and optimize their photophysical and functional properties will be discussed.

1. Bünzli, J.-C. G., *Coord. Chem. Rev.* 2015, 293-294, 19-47.
2. (a) Nguyen, T. N.; Chow, C. Y.; Eliseeva, S. V.; Trivedi, E. R.; Kampf, J. W.; Martinic, I.; Petoud, S.; Pecoraro, V. L., *Chem.-A. Eur. J.* 2018, 5, 1031-1035; (b) Chow, C. Y.; Eliseeva, S. V.; Trivedi, E. R.; Nguyen, T. N.; Kampf, J. W.; Petoud, S.; Pecoraro, V. L., *J. Am. Chem. Soc.* 2016, 138 (15), 5100-5109; (c) Trivedi, E. R.; Eliseeva, S. V.; Jankolovits, J.; Olmstead, M. M.; Petoud, S.; Pecoraro, V. L., *J. Am. Chem. Soc.* 2014, 136 (4), 1526-1534.
3. Martinic, I.; Eliseeva, S. V.; Nguyen, T. N.; Pecoraro, V. L.; Petoud, S., *J. Am. Chem. Soc.* 2017, 139 (25), 8388-8391.
4. Martinić, I.; Eliseeva, S. V.; Nguyen, T. N.; Foucher, F.; Gosset, D.; Westall, F.; Pecoraro, V. L.; Petoud, S., *Chem. Sci.* 2017, 8, 6042-6050.

**Les polymères à empreintes moléculaires appliqués aux analyses de traces dans les fluides biologiques et les eaux environnementales**

Bérengère CLAUDE

*Université d'Orléans / ICOA UMR 7311 équipe SAAB ; Rue de Chartres - BP 6759 - 45067 Orléans Cedex 2 – France ;  
berengere.claude@univ-orleans.fr*

L'analyse de composés présents à de faibles concentrations dans les matrices dites "complexes" requiert souvent une préparation d'échantillon afin d'éliminer la matrice et de pré-concentrer les analytes ciblés.

L'extraction sur phase solide (Solid Phase Extraction, SPE) figure parmi les méthodes de préparation d'échantillon les plus répandues. Les polymères à empreintes moléculaires (MIP), apparus dans les années 2000, ont apporté à la SPE un caractère spécifique grâce à des cavités, aussi appelées empreintes, capables de retenir des molécules analogues en taille et fonctionnalités. Dans le mélange réactionnel de polymérisation, les molécules de 'template', ou molécule empreinte, interagissent avec des monomères fonctionnels de manière non covalente par des liaisons hydrogène ou des interactions électrostatiques. La polymérisation génère un monolithe réticulé et poreux qui, une fois broyé et lavé du template, génère une phase dotée d'empreintes ; cette phase est conditionnée en cartouche SPE afin de procéder au dépôt de l'échantillon, suivi du (ou des) lavage(s) capable(s) d'éliminer la matrice de l'échantillon, puis de l'élution du (ou des) analyte(s) ciblé(s).

Cette communication a pour but de présenter les bénéfices apportés par les MIP à l'analyse de composés à l'état de traces au sein de matrices aqueuses complexes. Une première partie aborde l'analyse de neurotransmetteurs et de métabolites de médicaments dans le plasma et l'urine à travers des problématiques liées respectivement au diagnostic médical et au dopage sportif.

Une deuxième partie décrit l'utilisation des MIP comme phases de pré-concentration de pesticides présents dans les eaux environnementales, soit en laboratoire ou in situ par échantillonnage passif.

Financeurs : Agence Nationale pour la Recherche (ANR) pour le projet ORIGAMI / ECOTECH 2011 - Région Centre pour les projets (APR-IR) CAPTENVIRO, NEPALE et CAPELMIP.