

De la chimie bioorthogonale au développement de nouvelles stratégies thérapeutiques

Résumé La sélectivité exceptionnelle de la chimie bioorthogonale permet de réaliser des réactions chimiques non naturelles dans les milieux biologiques les plus complexes tels que les milieux intracellulaires, le sang ou encore au sein même d'un animal. Par le biais de ces réactions, il devient possible d'envisager des applications thérapeutiques innovantes telles que la délivrance contrôlée de médicaments.

La chimie bioorthogonale – comprendre orthogonale par rapport aux fonctions biologiques – regroupe l'ensemble des réactions conduisant à la formation ou la rupture de liaisons au sein des milieux biologiques, sans interagir avec les fonctions chimiques présentes dans les molécules constituant les êtres vivants. Cette chimie peut être réalisée dans les milieux biologiques les plus complexes tels que les milieux intracellulaires, le sang, ou encore au sein même d'un organisme entier. L'équipe de Bertozzi a été la première à introduire ce concept en 2003 [1], et en a brillamment illustré le potentiel pour étudier le glycome (ensemble des sucres d'un organisme) chez le poisson-zèbre et la souris à l'aide de la ligation (réaction qui permet de lier deux molécules) de Staudinger (figure 1.d).

Depuis les travaux pionniers de Bertozzi, de nombreux groupes ont tenté de développer des réactions bioorthogonales pouvant avoir un niveau de sélectivité suffisant pour être utilisées chez l'animal. Les enjeux scientifiques associés à cette thématique, à la fois fondamentaux et appliqués, sont considérables et ouvrent notamment la voie à de nouvelles stratégies thérapeutiques. Par le biais de ces réactions, il devient possible d'envisager de construire un médicament *in vivo*, de moduler sa pharmacocinétique en augmentant par exemple sa vitesse d'excrétion, ou encore de contrôler sa libération spécifique dans des organes d'intérêt [2] (figure 2).

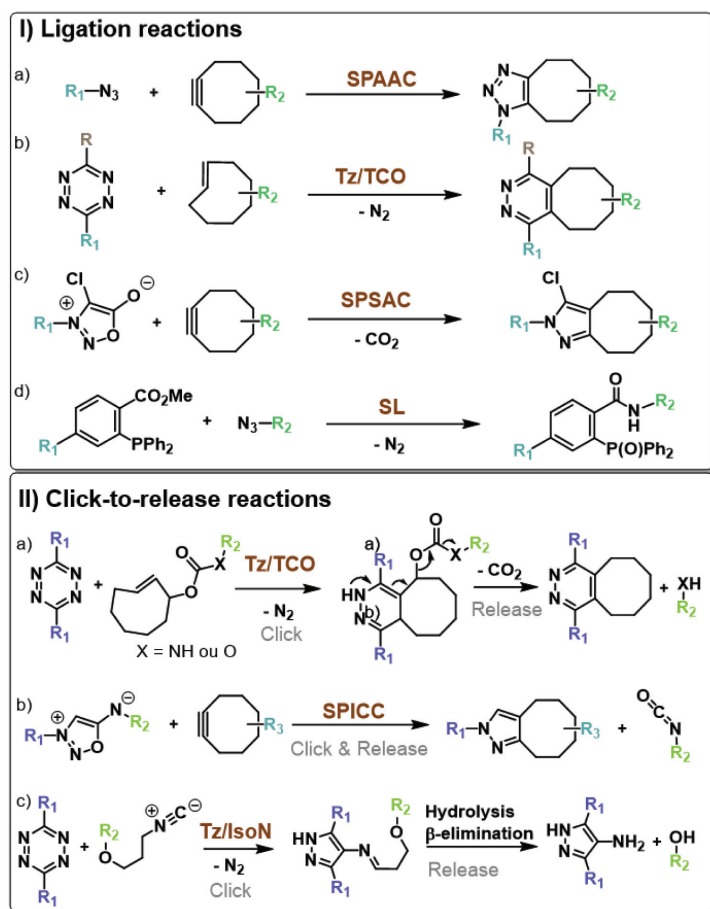


Figure 1 - I) Principales réactions de ligation bioorthogonales en absence de métal : a) SPAAC (« strain-promoted azide-alkyne cycloaddition »), b) Tz/TCO (tétrazine/transcyclooctène ou DAinv), c) SPSAC (« strain-promoted sydnone-alkyne cycloaddition »), d) SL (« Staudinger ligation »). II) Principales réactions de « ligation et libération » bioorthogonales : Tz/TCO (tétrazine/transcyclooctène) ; SPICC (« strain-promoted iminosydnone-cycloalkyne cycloaddition ») ; Tz/IsoN (tétrazine/isonitrile).

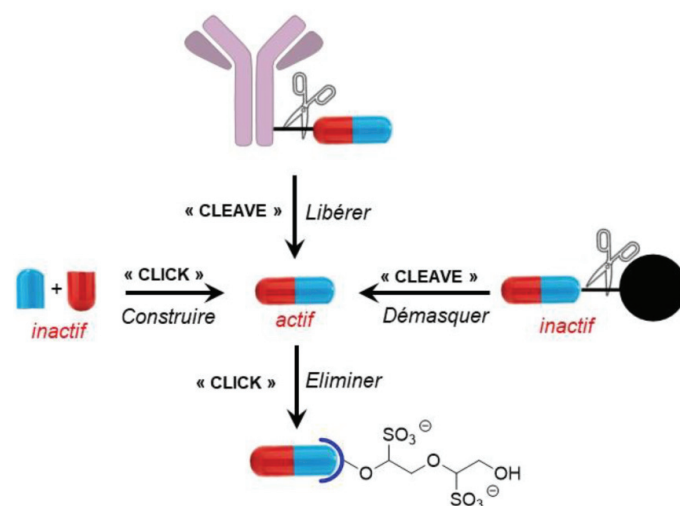


Figure 2 - Exemples d'applications thérapeutiques potentielles de la chimie bioorthogonale. La chimie bioorthogonale permet de libérer ou démasquer un médicament de manière sélective. Elle permet également de construire un médicament dans un tissu particulier à partir de deux précurseurs inertes, et peut aussi être utile pour moduler les paramètres pharmacocinétiques d'une substance active en accélérant par exemple son élimination rénale.

Nouvelles réactions bioorthogonales

Toutefois, malgré de nombreux efforts, peu de réactions chimiques peuvent être réellement considérées comme bioorthogonales, et très peu d'entre elles ont pu être utilisées pour réaliser des réactions chimiques non naturelles au sein d'un animal vivant. Ces réactions sont en grande majorité des cycloadditions, notamment inspirées de la cycloaddition catalysée par le cuivre (CuAAC) : soit la cycloaddition [3+2] des azotures avec les cyclooctynes (réaction SPAAC, figure 1.a), soit [4+2] pour la cycloaddition des tétrazines (Tz) avec les trans-cyclooctènes (Tz/TCO, figure 1.b) [3]. Notre laboratoire s'intéresse depuis plusieurs années à la chimie des mésoioniques, composés anciens et en grande partie sous-utilisés par la communauté scientifique. Leur

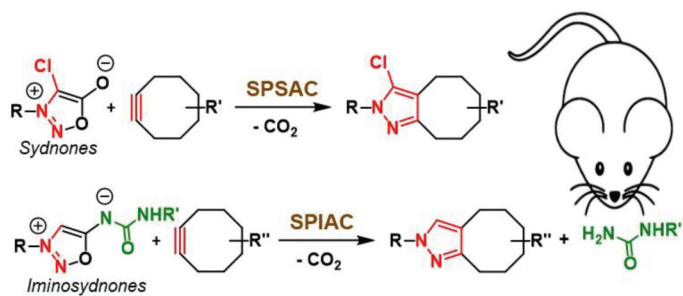


Figure 3 - Nouvelles réactions bioorthogonales développées par le laboratoire pour des applications biomédicales *in vivo*.

réactivité de dipôles a notamment été étudiée assez systématiquement dans notre laboratoire, ce qui a permis d'identifier de nouvelles réactions de ligation et de coupure bioorthogonales. Nous avons notamment mis au jour la réaction de ligation impliquant les chlorosydnone et les cyclooctynes. Nous avons également démontré sa capacité à fonctionner au sein d'une tumeur implantée chez la souris pour des applications en imagerie (réaction SPSAC, figure 1.Ic et figure 3) [4]. D'autres composés mésoioniques permettent non seulement d'effectuer une réaction de ligation mais aussi de coupure. C'est le cas de composés appelés iminosydnone, qui, suite à leur réaction bioorthogonale avec les cyclooctynes, forment à la fois un pyrazole, issu de la réaction de ligation, et libèrent une urée issue de la réaction de coupure (réaction SPIAC, figure 3) [5].

Des micelles clivables sur commande

Nous avons alors cherché à exploiter cette réaction de ligation/coupure bioorthogonale en synthétisant un amphiphile comportant une tête polyéthylène glycol (PEG) reliée à une longue chaîne hydrophobe via une iminosydnone clivable par réaction SPIAC (figure 4).

Cet amphiphile est capable de s'auto-organiser dans l'eau pour former des micelles d'environ 10 nm de diamètre. Le cœur des micelles étant par nature hydrophobe, lorsqu'un cyclooctyne hydrophobe est additionné dans la solution, celui-ci aura une tendance naturelle à se concentrer dans le cœur de la micelle et à déclencher la réaction SPIAC. Ce phénomène se traduit par une réaction extrêmement rapide, conduisant à la complète destruction des micelles en seulement quelques secondes (figure 4).

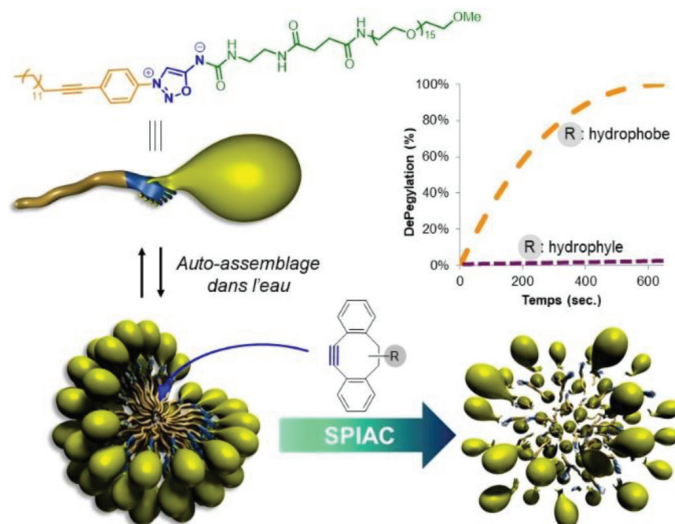


Figure 4 - Décomposition bioorthogonale de micelles par réaction SPIAC.

Libérer le contenu des micelles dans une souris par chimie bioorthogonale

Le développement de nanoparticules capables de libérer de façon sélective des médicaments au sein des tumeurs présente un grand intérêt pour augmenter l'efficacité des chimiothérapies anticancéreuses, tout en limitant les effets secondaires rencontrés lors des traitements classiques. Dans cette optique, nous avons tenté de démontrer que la réaction SPIAC pouvait permettre de libérer de façon bioorthogonale le contenu des micelles dans une tumeur implantée chez la souris (figure 5).

Dans cette approche, les micelles construites avec l'amphiphile contenant une iminosydnone clivable et dans lesquelles un fluorophore est encapsulé ont été dans un premier temps administrées par voie intraveineuse à des souris porteuses de xénogreffes sous-cutanées du cervix. En raison de leur taille, ces micelles se sont alors accumulées sur le site tumoral par effet EPR (« enhanced permeability and retention effect »). Vingt-quatre heures plus tard, l'injection du cyclooctyne DBCO-Glu (figure 5) a été réalisée. En raison de son hydrophilie liée à la présence de plusieurs unités monosaccharidiques, le DBCO-Glu ne peut pénétrer dans le cœur des micelles et déclencher la réaction SPIAC. En revanche, lorsque ce composé atteint le micro-environnement tumoral, l'hydrolyse

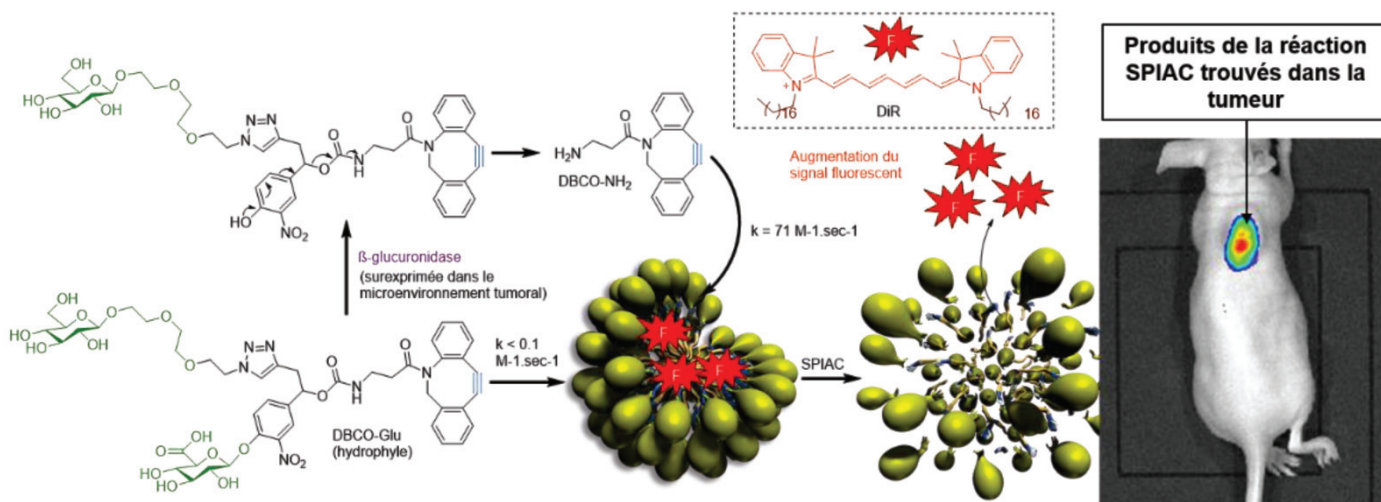


Figure 5 - Libération du contenu des micelles dans une tumeur implantée chez la souris à l'aide de la réaction SPIAC.

enzymatique du glucuronide par la β -glucuronidase extracellulaire présente en concentration importante au sein de la plupart des tumeurs solides [6], conduit à la libération d'un cyclooctyne hydrophobe (DBCO-NH₂). Ce dernier pénètre alors dans les micelles pour les détruire et ainsi libérer leur contenu. Les analyses des tumeurs implantées ont permis de confirmer le déroulement de ces événements : les tumeurs sont significativement plus fluorescentes suite à l'injection du DBCO-Glu, et surtout, le produit de ligation de la réaction SPIAC entre le DBCO-NH₂ et l'amphiphile a été isolé et caractérisé dans les tumeurs des souris traitées [7].

Ces résultats démontrent qu'il est possible, en utilisant la chimie bioorthogonale, de libérer *in vivo* sur commande chimique le contenu de nanoparticules. Cette possibilité ouvre la voie à une nouvelle stratégie thérapeutique basée sur un double ciblage du micro-environnement tumoral : un ciblage par la nanoparticule et par l'agent déclencheur (ici le glucuronide du cyclooctyne). Il reste à démontrer que cette stratégie peut avoir une efficacité thérapeutique supérieure aux traitements classiques.

[1] H.C. Hang, C. Yu, D.L. Kato, C.R. Bertozzi, A metabolic labeling approach toward proteomic analysis of mucin-type O-linked glycosylation, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2003**, *100*, p. 14846-851.

[2] Pour des revues récentes dans le domaine, voir : K. Porte *et al.*, Bioorthogonal reactions in animals, *ChemBioChem*, **2021**, *22*, p. 100-113 ; E. Kim, H. Koo, Biomedical applications

of copper-free chemistry: *in vitro*, *in vivo*, and *ex vivo*, *Chem. Sci.*, **2019**, *10*, p. 7835-7851 ; X. Fan, J. Li, P.R. Chen, Bioorthogonal chemistry in living animals, *Nat. Sci. Rev.*, **2017**, *4*, p. 300-302.

[3] H. Wu, N.K. Devaraj, Advances in tetrazine bioorthogonal chemistry driven by the synthesis of novel tetrazines and dienophiles, *Acc. Chem. Res.*, **2018**, *51*, p. 1249-259.

[4] L. Plougastel *et al.*, 4-halogeno-syndones for fast strain promoted cycloaddition with bicyclo-[6.1.0]-nonyne, *Chem. Commun.*, **2014**, *50*, p. 9376-378 ; M. Richard *et al.*, New fluorine-18 pretargeting PET imaging by bioorthogonal chlorosynone-cycloalkyne click reaction, *Chem. Commun.*, **2019**, *55*, p. 10400-403.

[5] S. Bernard *et al.*, Bioorthogonal click and release reaction of iminosyndones with cycloalkynes, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2017**, *56*, p. 15612-616.

[6] J. Lange *et al.*, Volatile organic compound based probe for induced volatolomics of cancers, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2019**, *58*, p. 17563-566.

[7] K. Porte *et al.*, Controlled release of a micelle payload via sequential enzymatic and bioorthogonal reactions in living systems, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2019**, *58*, p. 6366-370.

Sébastien PAPOT,

Professeur, Université de Poitiers, UMR CNRS 7285, Institut de Chimie des Milieux et des Matériaux de Poitiers (IC2MP), Poitiers.

Frédéric TARAN,

Directeur de recherche au CEA, Université Paris Saclay, CEA, INRAE, Département Médicaments et Technologies pour la Santé (DMTS), Gif-sur-Yvette.

* sebastien.papot@univ-poitiers.fr ; frederic.taran@cea.fr






ERBAdry®: SOLVANTS ANHYDRES "Made in France"

Bouchons et septa nouvelle génération développés par CARLO ERBA Reagents pour des solvants secs plus longtemps et une ergonomie améliorée :

- 3 larges surfaces de piquage pour faciliter les manipulations
- Inertie chimique assurée par le septum double couche
- Toujours prêt à être refermé grâce au capuchon solidaire du bouchon
- Deux bagues d'invulnérabilité : double garantie d'un flacon non ouvert
- Disponible en 100ml et 1l, sans tamis moléculaire

Retrouvez les produits disponibles avec ce nouveau packaging sur notre site internet :

www.carloerbareagents.com



