

## Les vecteurs peptidiques, GPS du principe actif

**Résumé** Les vecteurs peptidiques ont reçu beaucoup d'attention ces dernières années, notamment afin d'améliorer le ciblage de tissus, de cellules ou autres macromolécules comme le font très bien nos anticorps. Ils permettent de véhiculer des composés cytotoxiques et/ou des agents de détection, et de ce fait peuvent améliorer certains traitements contre des pathologies pour lesquelles les traitements existants ont des effets indésirables.

Avec l'émergence de la chémobiologie, l'exploration de certaines fonctions biologiques, notamment les phénomènes de reconnaissances cellulaires, ont permis de synthétiser de nouveaux systèmes moléculaires conçus pour se diriger sélectivement vers une cible biologique (épitope, récepteur cellulaire, protéine circulante) à l'image de nos anticorps circulants.

Ainsi depuis deux décennies, les protocoles thérapeutiques en oncologie bénéficient de traitements plus ciblés (« targeted therapy ») améliorant le pronostic des patients. À l'instar des systèmes biologiques, les nouveaux composés moléculaires comportent un ou des éléments de reconnaissance, « assistant de navigation GPS », amenant par exemple le principe actif spécifiquement dans les cellules cancéreuses, en s'affranchissant ainsi d'une diffusion dans les cellules saines. Les éléments utilisés pour le ciblage tumoral permettent d'atteindre la zone tumorale par deux voies distinctes, principalement le ciblage passif bénéficiant d'une porosité au niveau du micro-environnement tumoral et qui utilise par exemple les nanoparticules, et le ciblage actif exploitant la surexpression de certaines protéines par la tumeur ou son environnement proche et qui utilise des anticorps monoclonaux ou autres molécules de ciblage. Le choix du système de ciblage va ainsi fortement dépendre de la cible.

Parmi les différents éléments de ciblage, les vecteurs peptidiques constituent une classe de molécules très attractive, que ce soit pour leur accès facile par synthèse chimique, leurs propriétés intrinsèques compatibles avec le vivant, ou leur coût de production inférieur à ceux des anticorps monoclonaux utilisés aujourd'hui pour certaines thérapies. À ce jour,

de nombreux peptides de pénétration cellulaire (« cell-penetrating peptide », CPP) et ligands peptidiques (« cell-targeting peptides », CTP) ont été développés notamment pour la délivrance de cargos – biomolécules (acides nucléiques, protéines) et drogues à des fins thérapeutiques –, ou fluorophores et agents de contraste à des fins diagnostiques [1]. Une problématique concernant les CPP est leur faible exploitation *in vivo* malgré leur fort potentiel *in vitro*. Leur nature polycationique leur confère une efficacité accrue pour délivrer des cargos au niveau cellulaire mais généralement de manière non spécifique.

Pour pallier ce problème, plusieurs approches ont été développées en exploitant les caractéristiques de certaines cellules cancéreuses, notamment la libération de métalloprotéases (MMP) dégradant la matrice extracellulaire. Le groupe de Roger Tsien a ainsi préparé des macromolécules peptidiques composées d'un CPP polycationique relié à un fragment peptidique polyanionique *via* une séquence peptidique sensible à une MMP. Ce composé inactif est activé après coupure enzymatique libérant le masque polyanionique [2] (figure 1A). Une autre caractéristique tumorale qui a été exploitée pour activer un CPP est son environnement acide dû à une adaptation métabolique de la cellule cancéreuse libérant de l'acide lactique. De ce fait, considérant que les amides  $\beta$ -carboxyliques sont stables à pH neutre mais rapidement hydrolysées à pH acide pour régénérer les amines correspondantes, les résidus lysine de certains CPP protégés par ces fonctions amide peuvent être déprotégés au niveau de la tumeur et déclencher la pénétration du CPP [3] (figure 1B). D'autres stratégies ont été développées pour activer/libérer les CPP sur le site tumoral telles que l'utilisation d'une source

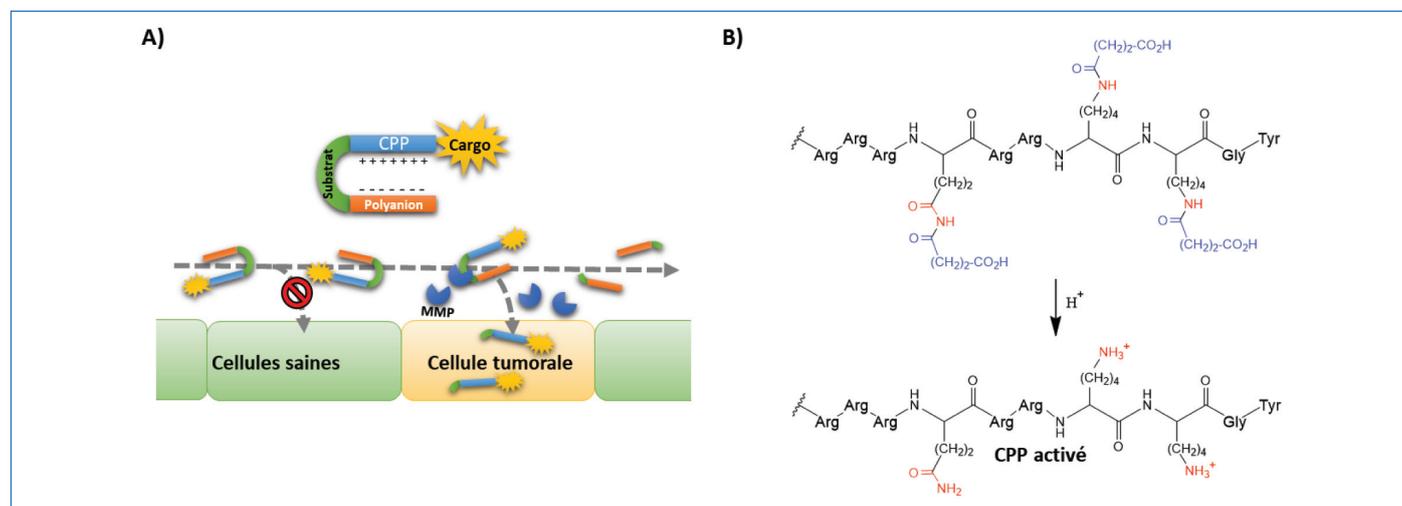


Figure 1 - A) Pénétration cellulaire d'un cargo induite par un CPP polycationique après coupure enzymatique de sa partie polyanionique par une MMP [2]. B) Activation d'un CPP par acidolyse au niveau du milieu tumoral [3].

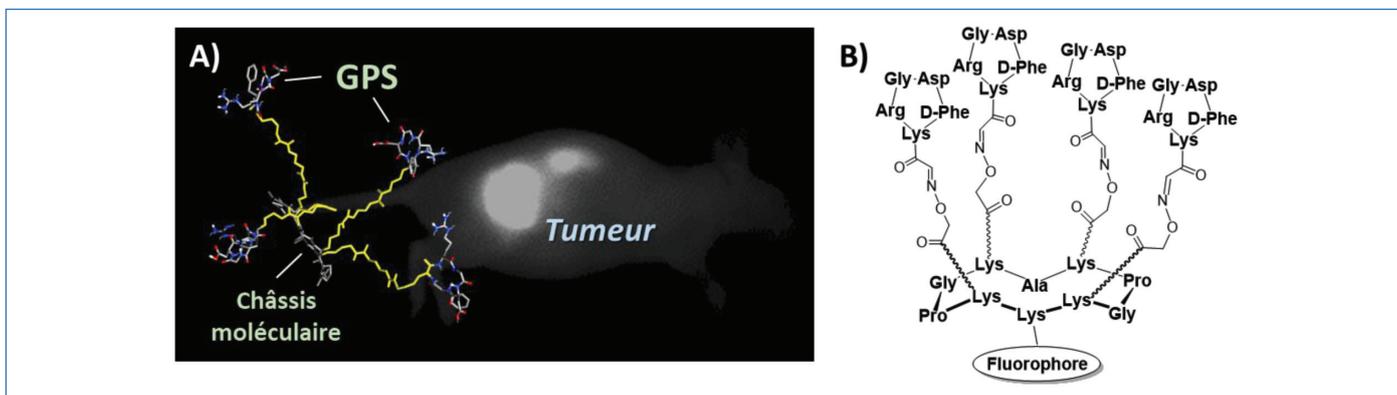


Figure 2 - A) Imagerie non invasive à 5 h d'une souris nude porteuse d'une tumeur sous-cutanée IGROV1 et traitée par 10 nmol d'un vecteur peptidique tétra RGD. B) Structure d'un vecteur présentant quatre motifs RGD.

lumineuse qui peut engendrer la coupure d'un lien amide, ester ou carbamate [4].

A contrario, les CTP ou ligands peptidiques permettent d'adresser un cargo directement vers sa cible cellulaire. La sélectivité provient alors d'une surexpression d'un récepteur cellulaire présent au niveau de la tumeur et absent sur les tissus sains. Depuis une vingtaine d'années, quelques CTP ont été développés [1a, c]. Les plus exploités, suite aux travaux du groupe d'Erkki Ruoslahti [5], sont des peptides contenant la séquence « RGD » (-Arg-Gly-Asp-) qui permettent de cibler avec une très bonne efficacité et spécificité un récepteur transmembranaire, l'intégrine  $\alpha_v\beta_3$ , surexprimé au sein du micro-environnement tumoral. De nombreux exemples ont été décrits dans la littérature avec beaucoup de développements visant à optimiser la sélectivité et l'affinité du motif de reconnaissance RGD [6] et à concevoir des bras espaceurs (linkers) auto-immolables conçus pour contrôler la libération du cargo [7]. Par ailleurs, des conjugués peptidiques présentant plusieurs ligands RGD confèrent une augmentation de l'affinité de liaison avec l'intégrine  $\alpha_v\beta_3$ , mais également une augmentation de l'internalisation dans la cellule cible, et par conséquent ils peuvent améliorer le diagnostic par imagerie et/ou la régression tumorale [8].

Dans ce contexte, notre équipe a développé des macromolécules constituées d'un châssis moléculaire polyfonctionnel (cyclodécapeptide) pouvant présenter jusqu'à quatre ligands peptidiques RGD et un élément de détection et/ou cytotoxique [9] (figure 2). La flexibilité de notre approche permet de réaliser des composés dotés d'une grande efficacité et pouvant délivrer des molécules anticancéreuses très puissantes telles que la cryptophicine [10], ou encore des radio-isotopes à visée thérapeutique [11]. Pour réaliser ces macromolécules complexes et de poids moléculaires modérés (1 000-4 000 kDa), le chimiste a besoin de réactions efficaces et compatibles avec les milieux aqueux nécessaires à la solubilisation des biomolécules. Pour ce faire, la combinaison de tous les éléments fonctionnels (ligands, drogues, marqueurs, châssis moléculaires, bras espaceurs) est réalisée *via* une approche convergente en utilisant des ligations moléculaires chimiosélectives et orthogonales telles que des liens du type oxime, thioéther, disulfure ou par réaction CuAAC (« copper-catalysed azide alkyne cycloaddition ») [12].

Le développement concomitant d'une chimie plus performante et la découverte de nouvelles cibles thérapeutiques

est en constante progression : elle permet de développer de nouveaux vecteurs synthétiques afin de remédier à certains problèmes liés aux anticorps monoclonaux tels qu'une procédure biotechnologique coûteuse et une taille importante limitant leur accès aux tumeurs solides. La plupart de ces vecteurs peptidiques (à l'exception des vecteurs RGD) sont encore à des stades très précoces de développement, mais certains trouveront sans nul doute dans un futur proche une place dans un arsenal thérapeutique en pleine évolution.

- [1] a) E. Vivès, J. Schmidt, A. Pèlerin, Cell-penetrating and cell-targeting peptides in drug delivery, *Biochim. Biophys. Acta*, **2008**, 1786, p. 126-138 ; b) A. Walrant, S. Cardon, F. Burlina, S. Sagan, Membrane crossing and membranotropic activity of cell-penetrating peptides: dangerous liaisons?, *Acc. Chem. Res.*, **2017**, 50, p. 2968-975 ; c) S. Shah, N. Casanova, G. Antuono, D. Sabatino, Polyamide backbone modified cell targeting and penetrating peptides in cancer detection and treatment, *Front. Chem.*, **2020**, 8, 218.
- [2] T. Jiang, E.S. Olson, Q.T. Nguyen, M. Roy, P.A. Jennings, R.Y. Tsien, Tumor imaging by means of proteolytic activation of cell-penetrating peptides, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2004**, 101, p. 17867-872.
- [3] E. Jin, B. Zhang, X. Sun, Z. Zhou, X. Ma, Q. Sun, J. Tang, Y. Shen, E. Van Kirk, W.J. Murdoch, M. Radosz, Acid-active cell-penetrating peptides for in vivo tumor-targeted drug delivery, *J. Am. Chem. Soc.*, **2013**, 135, p. 933-940.
- [4] H. de Jong, K.M. Bongers, D.W.P.M. Löwik, Activatable cell-penetrating peptides: 15 years of research, *RSC Chem. Biol.*, **2020**, 1, p. 192-203.
- [5] E. Ruoslahti, M.D. Pierschbacher, New perspectives in cell adhesion: RGD and integrins, *Science*, **1987**, 238, p. 491-497.
- [6] B. S. Ludwig, H. Kessler, S. Kossatz, U. Reuning, RGD-binding integrins revisited: how recently discovered functions and novel synthetic ligands (re-)shape an ever-evolving field, *Cancers*, **2021**, 13, 1711.
- [7] L. Battistini, K. Bugatti, A. Sartori, C. Curti, F. Zanardi, RGD peptide-drug conjugates as effective dual targeting platforms: recent advances, *Eur. J. Org. Chem.*, **2021**, 17, p. 2506-528.
- [8] H. Chen, G. Niu, H. Wu, X. Chen, Clinical application of radiolabeled RGD peptides for PET imaging of integrin  $\alpha_v\beta_3$ , *Theranostics*, **2016**, 6, p. 78-92.
- [9] D. Boturny, J.-L. Coll, E. Garanger, M.-C. Favrot, P. Dumy, Template assembled cyclopeptides as multimeric system for integrin targeting and endocytosis, *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, 126, p. 5730-739.
- [10] A. Borbély, F. Thoreau, E. Figueras, M. Kadri, J.-L. Coll, D. Boturny, N. Sewald, Synthesis and biological characterization of monomeric and tetrameric RGD-cryptophycin conjugates, *Chem. Eur. J.*, **2020**, 26, p. 2602-605.
- [11] Z.-H. Jin, D. Boturny *et al.*, Radiotherapeutic agent  $^{64}\text{Cu}$ -cyclam-RAFT-c-(RGDFK) $_4$  for management of peritoneal metastasis in ovarian cancer, *Clin. Cancer Res.*, **2020**, 26, p. 6230-241.
- [12] M. Galibert, O. Renaudet, P. Dumy, D. Boturny, Access to biomolecular assemblies via one-pot triple orthogonal chemoselective ligations, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2011**, 50, p. 1901-904.

**Didier BOTURYN,**

Directeur de recherche, Université Grenoble Alpes, CNRS,  
Département de Chimie Moléculaire, UMR 5250, Grenoble.

\* [didier.boturny@univ-grenoble-alpes.fr](mailto:didier.boturny@univ-grenoble-alpes.fr)