

# Chimie et santé

Paola B. Arimondo, Chantal Alcouffe, Corinne Herbert, Aurélie Furiga Chusseau, Barbora Lajoie, Véronique Gilard, Myriam Malet-Martino, Éric Benoist, Béatrice Mestre-Voegtli, Bernard Meunier, Anne Robert, Peter Faller, Fabrice Collin, Yves Génisson (coord.) et Christelle Hureau (coord.)

**Mots-clés** Cancer, Alzheimer, paludisme, vectorisation, imagerie, épigénétique, biofilm, adultérant.  
**Keywords** Cancer, Alzheimer, malaria, targeting, imagery, epigenetic, biofilm, adulterant.

La Région Midi-Pyrénées est très emblématique en ce qui concerne la fédération de ses activités de recherche autour de grands pôles dédiés à la santé, comme en témoignent l'Oncopôle et le Gérontopôle de Toulouse. L'Oncopôle est un projet de santé publique s'inscrivant dans le plan national de lutte contre le cancer et ambitionnant de devenir leader européen dans son domaine à l'horizon 2025. Le Gérontopôle a, quant à lui, l'objectif de promouvoir la santé des personnes âgées, à une époque où le vieillissement démographique place celles-ci au cœur des enjeux sociétaux. L'émergence de ces pôles repose sur un tissu régional de recherche en chimie émanant d'un vaste ensemble de laboratoires publics et d'entreprises privées. Outre l'important centre de recherche et de développement de Sanofi, d'autres sociétés de tailles diverses sont traditionnellement ancrées en Midi-Pyrénées, la plus emblématique d'entre elles étant le groupe Pierre Fabre, né à Castres. La compréhension au niveau moléculaire des mécanismes de développement des maladies et la conception de nouveaux outils thérapeutique, diagnostique ou analytique sont au cœur des activités de recherche de l'axe « chimie et santé ». Certains

des travaux menés dans ce contexte sont mis en exergue dans cet article, avec un accent sur certaines avancées concernant notamment le développement ou la détection de petites molécules organiques. Les ions métalliques qui, en dépit de leur moindre abondance dans le monde du vivant, tiennent un rôle central dans la chimie pour la santé, sont également cités ici à travers divers exemples.

Des unités et équipes de recherche autres que celles représentées ici contribuent également à l'essor de cet axe « Chimie et Santé » dans des domaines très divers sur Toulouse, par exemple l'équipe PharmaDev de l'Institut pour la Recherche et le Développement (produits naturels, cancer, paludisme...), le Centre de Recherches sur la Cognition Animale en collaboration avec la société Palumed (Alzheimer), l'Institut Claudius Regaud (cancer), le Laboratoire des Interactions Moléculaires et de la Réactivité Chimique et Photochimique (formulation et vectorisation), le Centre Interuniversitaire de Recherche et d'Ingénierie des Matériaux (biomatériaux) et l'Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale (tuberculose).

Christelle Hureau et Yves Génisson

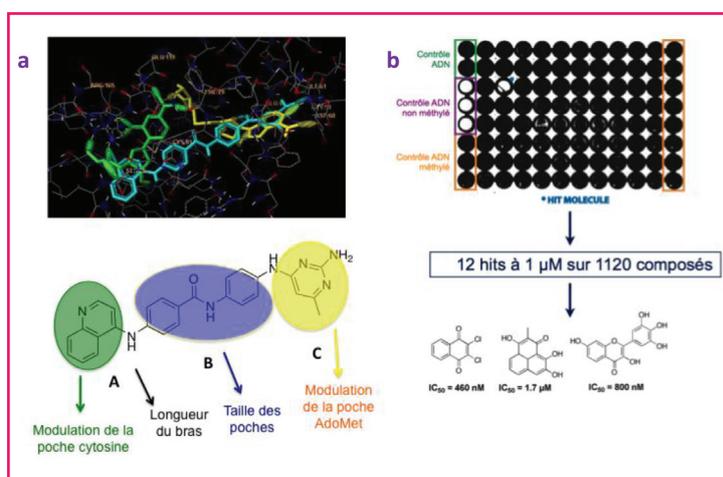
## L'épigénétique comme cible

Paola B. Arimondo

La méthylation de l'ADN est une modification chimique qui participe au contrôle de l'expression de gènes et qui établit où et quand un gène est exprimé. Comme les autres modifications épigénétiques, elle est impliquée dans tous les processus biologiques, y compris dans la tumorigenèse. Les enzymes qui catalysent la réaction de méthylation de l'ADN, les méthyltransférases d'ADN (DNMT), sont des cibles antitumorales.

Dans le but de trouver de nouveaux inhibiteurs de DNMT, nous avons mis en place une approche rationnelle à partir de la structure cristalline de l'enzyme cible [1] et une approche aléatoire basée sur le criblage de chimiothèques [2] (voir figure).

• *Approche rationnelle ou « drug design »* : le docking moléculaire de l'inhibiteur SGI-1027 dans la structure cristalline d'une méthyltransférase nous a montré quelles parties de la molécule interagissent avec la poche catalytique de l'enzyme et nous a guidé pour concevoir



a) Approche rationnelle à partir du docking du SGI-1027 dans la poche catalytique de l'enzyme. La cytosine est en vert, le cofacteur AdoMet en jaune et le SGI-1027 en cyan [1]. b) Approche aléatoire : une plaque de criblage est montrée avec les trois composés les plus actifs [2].

vingt-cinq dérivés, dont trois actifs, et établir des relations structure-activité.

• *Approche aléatoire par criblage* : le criblage des 1 120 composés de la chimiothèque du Muséum national d'histoire naturelle a mis en évidence douze nouveaux inhibiteurs de la DNMT3A. En particulier, le naphtoquinone dichlone, qui a une concentration efficace médiane ( $CE_{50}$ ) de 460 nM et est capable de démétyler et réactiver un gène rapporteur dans les cellules, a été utilisé en tant que pesticide et fongicide, sans que son action génotoxique soit comprise.

Cette étude a des retombées intéressantes en toxicolo-

gie des insecticides, pesticides et fongicides, montrant l'importance d'étudier leurs effets, à court et à long termes, sur les profils épigénétiques de la flore, de la faune et des hommes.

*Christina Gros et Frédéric Cantagrel ont également participé à ce travail.*

- [1] Rilova E. *et al.*, Design, synthesis and biological evaluation of 4-amino-N-(4-aminophenyl)-benzamides analogues of quinoline-based SGI-1027 as inhibitors of DNA methylation. *ChemMedChem*, **2014**, *9*, p. 590.
- [2] Ceccaldi A. *et al.*, Identification of novel inhibitors of DNA methylation by screening of a chemical library, *ACS Chem. Biol.*, **2013**, *8*, p. 543.

## Identification d'un modulateur allostérique extracellulaire des récepteurs des facteurs de croissance des fibroblastes

*Chantal Alcouffe et Corentin Herbert*

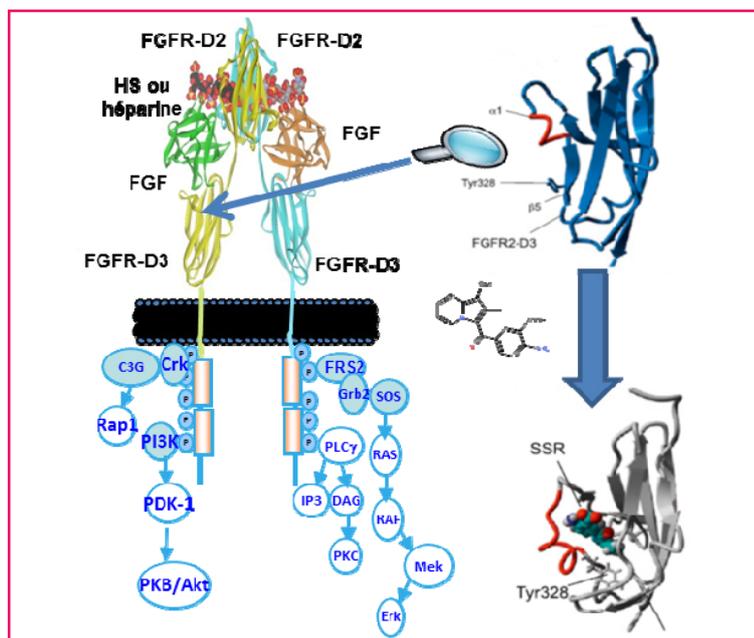
Les facteurs de croissance des fibroblastes (FGF) ainsi que leurs récepteurs associés (FGFR) jouent un rôle clé dans l'angiogenèse, la survie et la prolifération des cellules tumorales.

Nous avons identifié, par criblage à haute capacité puis optimisation, une molécule, SSR128129, capable de se lier au domaine extracellulaire (D1D2D3) du récepteur induisant une modulation de la signalisation intracellulaire des FGFR [1-2]. Ce composé bloque sélectivement l'une des voies de signalisation des FGFR. De plus, SSR128129 inhibe la phosphorylation de ces récepteurs en maintenant une activité résiduelle, essentielle pour l'homéostasie cellulaire (voir figure).

Ces deux phénomènes de sélectivité fonctionnelle et d'effet plafond sont caractéristiques des modulateurs allostériques. Ce mécanisme allostérique mis en évidence *in silico* par dynamique moléculaire montre que SSR128129 induit la conversion d'un feuillet  $\beta$  en hélice  $\alpha$ , autorisant l'ouverture d'un site permettant la liaison de la molécule.

Des études de spectroscopie IRTF associée à de la mutagenèse dirigée, ainsi que des études de RMN et de cristallisation ont validé expérimentalement cette hypothèse. Cette modulation allostérique, plus spécifique et induisant potentiellement moins d'effets secondaires qu'un inhibiteur orthostérique ciblant la tyrosine kinase intracellulaire, ouvre la voie à de nouvelles opportunités thérapeutiques dans le traitement du cancer.

*Gilbert Lassalle et Françoise Bono ont également participé à ce travail.*



L'inhibiteur allostérique SSR128129 se lie spécifiquement à un domaine extracellulaire des récepteurs à activité tyrosine kinase des facteurs de croissance des fibroblastes (FGFR). Au niveau moléculaire, la fixation de l'inhibiteur induit le changement d'une conformation en feuillet à une conformation en hélice, créant ainsi une poche de fixation qui donne lieu à un complexe de conformation très stable.

- [1] Herbert C. *et al.*, Molecular mechanism of SSR128129E, an extracellularly acting, small-molecule, allosteric inhibitor of FGF receptor signaling, *Cancer Cell*, **2013**, *23*, p. 489.
- [2] Bono F. *et al.*, Inhibition of tumor angiogenesis and growth by a small-molecule multi-FGF receptor blocker with allosteric properties, *Cancer Cell*, **2013**, *23*, p. 477.

## Dérivés de N-acyl-homosérines lactones, inhibiteurs de la formation du biofilm bactérien

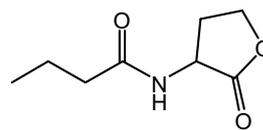
*Aurélien Furiq Chusseau et Barbora Lajoie*

*Pseudomonas aeruginosa*, une bactérie opportuniste à Gram négatif, peut être à l'origine de différentes infections chez les personnes souffrant de déficiences immunitaires ou présentant des pathologies favorisant le développement d'infections (diabète, grands brûlés...), et ce notamment par sa capacité à coloniser les surfaces des muqueuses sous forme de biofilm.

L'échec des thérapeutiques antipyocyaniques classiques a conduit au cours de ces dernières années à développer de nouvelles approches ayant pour cible la formation du biofilm et l'expression des facteurs de virulence. La mise en place d'un biofilm est principalement régulée par des mécanismes de « quorum-sensing » (QS), qui repose sur la synthèse et la

diffusion d'auto-inducteurs du type *N*-acyl-homosérines lactones (HSL) [1]. Dans ce contexte, la recherche de molécules inhibitrices du QS apparaît comme une voie innovante dans le traitement des infections.

Des molécules originales, analogues de C4-HSL (voir figure), ont été obtenues en remplaçant la chaîne aliphatique ou le cycle de la lactone par des groupements modulant les effets électroniques ou l'encombrement stérique des molécules. Parmi celles-ci, un composé (*N*-pyrimidyl-butamide) a montré une inhibition dose-dépendante significative de la formation du biofilm (90 % à 50  $\mu$ M sur un biofilm de 24 h) [2]. Ce composé ne possède pas d'activité antibactérienne sur cellules planctoniques et n'est pas cytotoxique envers les cellules pulmonaires MRC-5. L'activité antibiofilm de ce composé est conservée sur un biofilm développé en conditions anaérobie et, de plus, une potentialisation significative de l'effet antibiofilm est observée lors de l'association avec les antibiotiques (ciprofloxacine, tobramycine et colistine).



Molécule C4-HSL.

Les études des relations structure-activité ont conduit à la synthèse de nouveaux analogues afin d'obtenir des inhibiteurs agissant à plusieurs stades de la formation du biofilm. Ce travail est soutenu par l'Association Vaincre la Mucoviscidose.

- [1] Ruimy R., Andremont A., Quorum-sensing chez *Pseudomonas aeruginosa* : mécanisme moléculaire, impact clinique, et inhibition, *Réanimation*, **2004**, 13, p. 176.
- [2] Khalilzadeh P., Lajoie B., El Hage S., Baziard G., Berge M., Roques C., Growth inhibition of adherent *Pseudomonas aeruginosa* by an *N*-butanoyl-L-homoserine lactone analog, *Can. J. Microb.*, **2010**, 56, p. 317.

## Détection de compléments alimentaires adultérés par résonance magnétique nucléaire

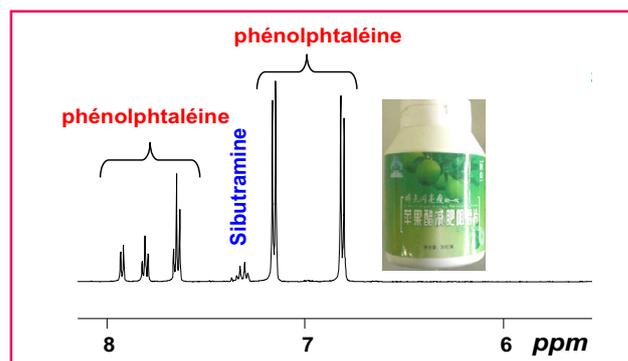
Véronique Gilard et Myriam Malet-Martino

La consommation de compléments alimentaires est en constante augmentation dans l'ensemble des pays industrialisés et la falsification de certains d'entre eux par l'ajout de médicaments ou de substances potentiellement toxiques est un phénomène alarmant couramment observé.

Notre objectif est de démontrer la pertinence d'utiliser la résonance magnétique nucléaire – RMN du proton, RMN DOSY (« diffusion ordered spectroscopy »), ainsi que les techniques de RMN  $^{13}\text{C}$  et bidimensionnelles classiquement utilisées pour la détermination structurale – pour détecter les adultérants et les caractériser.

Nous avons par exemple montré que sur 128 compléments alimentaires amaigrissants analysés, 53 % étaient adultérés principalement par des médicaments retirés du marché comme la sibutramine ou la phénolphtaléine [1] (voir figure). Sur 175 compléments alimentaires pour l'amélioration des fonctions érectiles analysés, 68 % étaient adultérés par des médicaments comme le sildénafil (Viagra<sup>®</sup>), le tadalafil (Cialis<sup>®</sup>) ou le vardénafil (Levitra<sup>®</sup>), mais aussi par des analogues dont la structure est très proche de celle des molécules précédentes mais qui n'ont pas d'autorisation de mise sur le marché [2].

Les fabricants cherchent ainsi à échapper aux contrôles analytiques ciblés au mépris des risques pour les consommateurs.



Spectre RMN  $^1\text{H}$  d'un complément alimentaire démontrant la présence de sibutramine et de la phénolphtaléine.

Robert Martino, Stéphane Balayssac, Rabab Hachem, Aurélie Tinaugus et Julie Vaysse ont également participé à ce travail.

- [1] Vaysse J., Balayssac S., Gilard V., Desoubdizanne D., Malet-Martino M., Martino R., Analysis of adulterated herbal medicines and dietary supplements marketed for weight loss by DOSY 1H-NMR, *Food Addit. Contam. Part A Chem. Anal. Control Expo. Risk Assess.*, **2010**, 27, p. 903.
- [2] Balayssac S., Gilard V., Zedde C., Martino R., Malet-Martino M., Analysis of herbal dietary supplements for sexual performance enhancement: first characterization of propoxyphenyl-thiohydroxyhomosildenafil and identification of sildenafil, thiosildenafil, phentolamine and tetrahydropalmitate as adulterants, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2012**, 63, p. 135.

## Architectures hétérobimétalliques : des outils prometteurs pour l'imagerie bimodale

Eric Benoist et Béatrice Mestre-Voegtli

L'imagerie médicale duale, qui permet d'envisager des diagnostics plus précis et plus précoces, repose sur l'utilisation de traceurs bimodaux aptes à donner simultanément des informations complémentaires au moyen de deux techniques d'imagerie différentes.

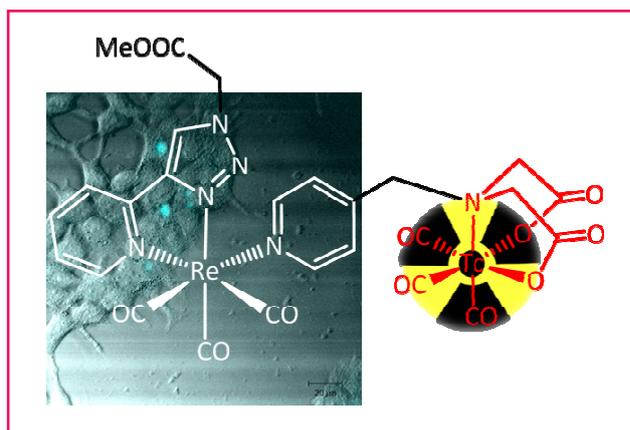
Dans ce cadre, le développement de complexes hétéro-dinucléaires représente une approche prometteuse car ces sondes duales de petites tailles permettent d'envisager toutes les combinaisons d'imagerie possibles (IRM/optique, IRM/nucléaire et nucléaire/optique). À titre d'exemples,

nous avons développé différents systèmes [1-2], dont les premiers complexes hétérodinucléaires potentiellement utilisables pour une imagerie duale nucléaire (émission  $\gamma$  du radioisotope technétium-99 m)/optique (fluorescence du complexe tricarbonylrhénium) (voir figure).

Alison François, Alexandre Boulay, Nadine Leygue, Chantal Galaup et Claude Picard ont également participé à ce travail.

- [1] Boulay A., Artigau M., Coulais Y., Picard C., Mestre-Voegtli B., Benoist E., First dinuclear Re/Tc complex as a potential bimodal optical/SPECT molecular imaging agent, *Dalton Trans.*, **2011**, 40, p. 6206.  
 [2] Boulay A., Laine S., Leygue N., Benoist E., Laurent S., Vander Elst L., Muller R.N., Mestre-Voegtli B., Picard C., Synthesis and properties of a functionalized heterobimetallic Re(I)-Gd(III) complex as a potential dual-contrast agent for molecular imaging, *Tetrahedron Lett.*, **2013**, 54, p. 5395.

Une bibliographie supplémentaire est disponible en annexe (fichier pdf téléchargeable librement à partir de la page liée à cet article sur le site [www.lactualitechimique.org](http://www.lactualitechimique.org)).



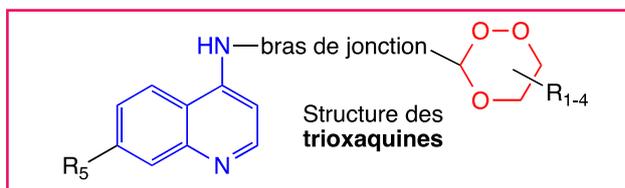
Premier complexe Re/Tc pour l'imagerie bimodale optique-nucléaire.

## L'hème : une cible pour la chimiothérapie des parasites hématophages

Bernard Meunier et Anne Robert

Le paludisme et la schistosomiase (ou bilharziose) sont des maladies parasitaires responsables d'une mortalité et d'une morbidité importante [1-2]. Les organismes pathogènes responsables (*Plasmodium* et *Schistosoma*) ont une caractéristique commune : ils parasitent le système sanguin de l'homme et, n'ayant pas de synthèse de novo d'acides aminés, ils « découpent » l'hémoglobine de leur hôte en acides aminés qui sont ensuite utilisés pour la synthèse de leurs propres protéines.

Cette digestion de l'hémoglobine conduit à la libération d'hème-fer(II) hors d'un environnement protéique, complexe toxique du fait de sa capacité à réduire le dioxygène. Pour éviter d'être empoisonnés par le déchet qu'ils ont généré, ces parasites transforment l'hème en un polymère microcristallin où le fer, oxydé en fer(III), n'est plus toxique. Les trioxaquinines (voir figure) sont des molécules comportant deux pharmacophores capables d'interagir avec l'hème par deux mécanismes différents, inhibant ainsi le processus de polymérisation/détoxification du parasite. Le fragment 4-aminoquinoléine interagit avec l'hème par empilement ; le trioxane, après activation réductrice, alkyle le cycle porphyrinique. Leur mode d'action dual en fait une sorte de « fusil à deux coups » efficace. La trioxaquinine PA1103 est curative chez des souris infectées par un *Plasmodium* chimiorésistant ; la



Structure des trioxaquinines.

trioxaquinine PA1647 réduit efficacement la parasitémie chez les souris infectées par *Schistosoma* et présente une synergie notable avec le praziquantel, seul médicament actuellement disponible pour traiter la schistosomiase.

Les variations structurales sur ces molécules hybrides, dont l'activité duale a été démontrée, permettent de rendre ces molécules actives sur différents parasites hématophages.

- [1] Meunier B., Robert A., Heme as trigger and target for trioxane-containing antimalarial drugs, *Acc. Chem. Res.*, **2010**, 43, p. 1444.  
 [2] Thétiot-Laurent S.A.-L., Boissier J., Robert A., Meunier B., *Schistosomiasis* chemotherapy, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2013**, 52, p. 7936.

## Cuivre, stress oxydant et maladie d'Alzheimer

Peter Fallor et Fabrice Collin

La formation de plaques amyloïdes dans le cerveau est l'une des spécificités liées au développement de la maladie d'Alzheimer. Ces plaques sont constituées d'agrégats d'un peptide appelé amyloïde- $\beta$  (A $\beta$ ) et contiennent de fortes concentrations en ions métalliques (Cu, Zn et Fe). En particulier, les complexes A $\beta$ -Cu sont capables de catalyser la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) telles que le peroxyde d'hydrogène ou le radical hydroxyle, qui contribuent à la dégradation des lipides et protéines

neuronales et du peptide A $\beta$  lui-même, puisqu'il est retrouvé oxydé dans les plaques amyloïdes *in vivo* [1].

Les deux états redox du cuivre, Cu<sup>I</sup> et Cu<sup>II</sup>, sont impliqués dans le processus catalytique de production d'espèces réactives de l'oxygène. Les sites de coordination du Cu<sup>II</sup> et du Cu<sup>I</sup> sont situés dans la partie N-terminale du peptide et impliquent respectivement l'Asp1, les His6, 13 et 14 dans une géométrie plan carrée, et les His13 et 14 dans une géométrie linéaire. Étant donné la différence structurale entre

ces deux sphères de coordination, le processus redox ne peut s'effectuer directement mais procède *via* un complexe dans une géométrie intermédiaire en équilibre avec les espèces présentes au repos. Dans ce complexe, le cuivre est lié aux trois résidus Asp1, His13 et His14, comme cela a été montré très récemment pour la première fois par spectrométrie de masse [2], la décoordination de l'His6 étant nécessaire à l'amorçage du cycle redox. Ce complexe intermédiaire représente donc une nouvelle cible thérapeutique.

- [1] Chassaing S., Collin F., Dorlet P., Gout J., Hureau C., Faller P., Copper and heme-mediated Abeta toxicity: redox chemistry, Abeta oxidations and anti-ROS compounds, *Curr. Top. Med. Chem.*, **2012**, 12, p. 2573.  
 [2] Cassagnes L.-E., Hervé V., Nepveu F., Hureau C., Faller P., Collin F., The catalytically active Cu-amyloid-beta state: coordination site responsible for reactive oxygen species production, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2013**, 52, p. 11110.

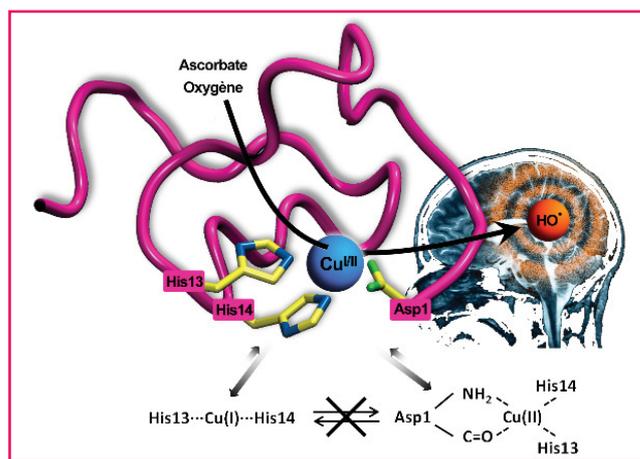
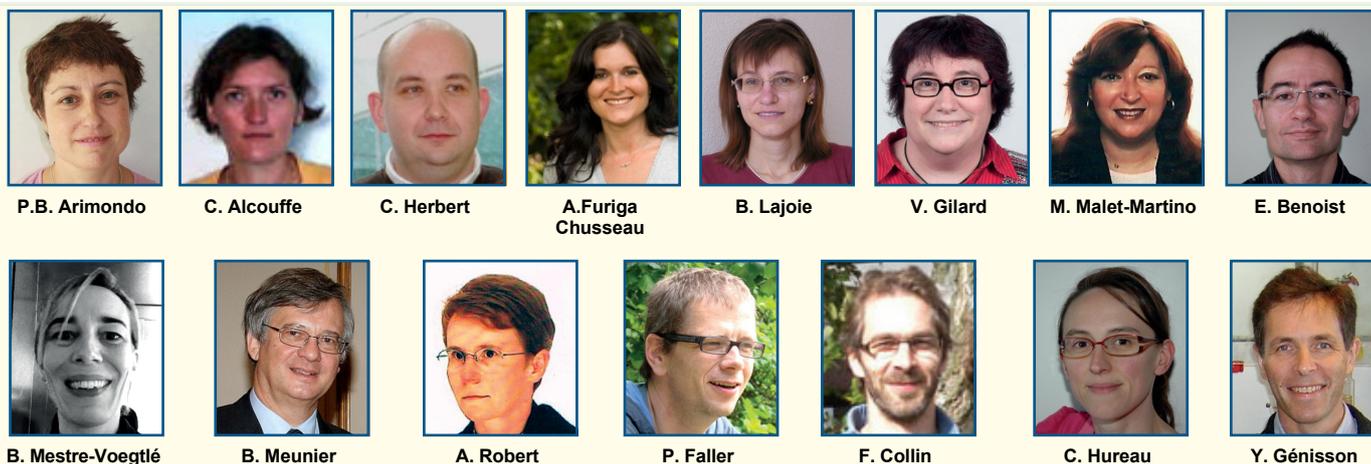


Schéma de la coordination du cuivre dans l'espèce active pour la production de ERO.



**Paola B. Arimondo** est directrice de recherche CNRS, USR CNRS-Pierre Fabre 3388, ETaC<sup>(a)</sup>.

**Chantal Alcouffe** est responsable de laboratoire, et **Corentin Herbert**, directeur de recherche, chez Sanofi<sup>(b)</sup>.

**Aurélien Furiga Chusseau** est postdoctorante et **Barbara Lajoie**, enseignant-chercheur, au Laboratoire de Génie Chimique, Université Paul Sabatier Toulouse 3<sup>(c)</sup>.

**Véronique Gilard** est professeur et **Myriam Malet-Martino**, professeur émérite, Laboratoire SPCMIB, Université Paul Sabatier<sup>(d)</sup>.

**Éric Benoist** est professeur et **Béatrice Mestre-Voegtlé**, maître de conférences, Laboratoire SPCMIB, Université Paul Sabatier<sup>(e)</sup>.

**Bernard Meunier** est directeur de recherche émérite et président de l'Académie des sciences, **Anne Robert**, directrice de recherche CNRS, **Peter Faller**, professeur à l'Université de Toulouse, et **Christelle Hureau** (*auteur correspondant*), chargée de recherche, au Laboratoire de Chimie de Coordination (LCC)<sup>(f)</sup>.

**Fabrice Collin** est maître de conférences à l'Université de Toulouse et à l'IRD<sup>(g)</sup>.

**Yves Génisson** (*auteur correspondant*) est directeur de recherche CNRS au Laboratoire SPCMIB (UMR CNRS 5068)<sup>(h)</sup>.

(a) Pharmacochimie de la régulation épigénétique du cancer - ETaC USR 3388 CNRS/Pierre Fabre Centre de R & D, BP 13562, 3 avenue Hubert Curien, F-31035 Toulouse Cedex 01.

(b) Unité de recherche et développement E2C (Early to candidate Department), Sanofi R & D, 195 route d'Espagne, F-31036 Toulouse Cedex.

(c) Laboratoire de Génie Chimique, UMR CNRS 5503, Université Paul Sabatier, Faculté des Sciences pharmaceutiques, 35 chemin des Maraîchers, F-31062 Toulouse Cedex 9.

(d) Groupe de RMN biomédicale, Laboratoire SPCMIB, UMR CNRS/UPS 5068, Université Paul Sabatier, 118 route de Narbonne, F-31062 Toulouse Cedex 09.

(e) Laboratoire SPCMIB-UMR CNRS 5068, Groupe SOMAB, Université Paul Sabatier, 118 route de Narbonne, F-31062 Toulouse Cedex 09.

(f) LCC, CNRS UPR 8241, 205 route de Narbonne, F-31077 Toulouse Cedex 04 ; Université de Toulouse, UPS, INPT, F-31077 Toulouse. Courriel : christelle.hureau@lcc-toulouse.fr

(g) Université de Toulouse, UPS, UMR 152 PHARMA-DEV, Université Toulouse 3, F-31062 Toulouse Cedex 09 ; Institut de Recherche pour le Développement (IRD), UMR 152 PHARMA-DEV, F-31062 Toulouse Cedex 09.

(h) Laboratoire SPCMIB-UMR CNRS 5068, groupe SANTé, Université Paul Sabatier, 118 route de Narbonne, F-31062 Toulouse Cedex 09. Courriel : genisson@chimie.ups-tlse.fr