

Conception d'agents anticancéreux à base de complexes d'or pour la thérapie ciblée de certains types de cancers

Projet collaboratif proposé par :

Dr Michèle Salmain, directrice de thèse et porteur du projet (Institut Parisien de Chimie Moléculaire, Sorbonne Université, CNRS, Ecole doctorale chimie moléculaire de Paris centre 406), co-encadrant : **Dr Benoit Bertrand**

Pr Joëlle Sobczak-Thépot : co-directrice de thèse (Centre de Recherches Saint-Antoine, Sorbonne Université, Inserm, Ecole Doctorale Physiologie, Physiopathologie & Thérapeutique 394), co-encadrante : **Dr Anthi Karaiskou**

Résumé

Les deux dernières décennies ont vu l'introduction de complexes organométalliques d'or(III) isoélectroniques de complexes de Pt(II) à la fois stables du point de vue redox et fortement cytotoxiques. En particulier, les complexes d'or(III) à ligand biphenyle ($C^A C$) sont très prometteurs car ils laissent deux sites de coordination qui peuvent être occupés par une variété de ligands, fournissant ainsi une large gamme de structures. Toutefois, les tests de viabilité réalisés sur cultures cellulaires avec quelques membres de cette famille ont révélé qu'ils présentaient une faible sélectivité pour les cellules cancéreuses. En parallèle, des thérapies ciblées efficaces ont été introduites pour certains types de cancers, diminuant les effets secondaires associés aux chimiothérapies. Par exemple, les protéines PARP-1 et Bcr-Abl sont des cibles de choix pour traiter respectivement les cancers BRCA -/- et certaines formes de leucémie. L'objectif de ce projet consistera (1) à concevoir et à synthétiser des complexes d'or(III) à ligand biphenyle ciblant PARP-1 ou Bcr-Abl et (2) valider l'activité biologique de ces complexes sur des modèles cellulaires pertinents, partant de l'hypothèse que ces molécules hybrides combinent les propriétés des molécules parentes, avec un possible effet synergique.

Contexte

Le développement d'agents thérapeutiques ciblés fait partie des stratégies les plus efficaces pour combattre certaines formes de cancer.^[1] Le nilotinib (fig. 1), un inhibiteur de deuxième génération de la tyrosine-kinase Bcr-Abl, est utilisé en première ligne dans le traitement des leucémies myéloïdes chroniques.^[2] Néanmoins, cette molécule présente moins d'efficacité sur les leucémies lymphoblastiques aiguës et doit être combinée à une chimiothérapie classique.^[3] Des inhibiteurs de PARP-1 comme l'olaparib ou le niraparib (fig. 1) sont de même administrés pour traiter les formes de cancer du sein ou de l'ovaire BRCA-/- seuls ou après une chimiothérapie au platine.

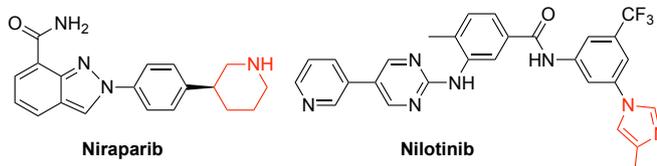


Figure 1. Agents thérapeutiques ciblés. En rouge, les motifs servant de base pour la coordination de l'or

De nombreux complexes d'or présentent une activité cytotoxique et les complexes d'or(III) en particulier sont considérés comme des alternatives possibles aux agents de chimiothérapie à base de platine(II) car ils sont isoélectroniques et présentent la même géométrie plan carré. Toutefois et contrairement aux dérivés de platine, les complexes d'or(III) ont tendance à être réduits en or(I) ou en or(0) en milieu physiologique. Cependant, l'utilisation de ligands cyclométallés de type ($C^A N$), ($C^A N^A N$) et ($C^A N^A C$) permet de grandement stabiliser l'or(III) en milieu biologique.^[4] L'introduction de ligands biphenyle ($C^A C$) dans les complexes d'or(III) permet de conserver deux liaisons Au-C tout en préservant deux sites de coordination fonctionnalisables dans des conditions douces. Ainsi, des complexes de 1^o génération $[(C^A C)Au(N^A N)]^+$ avec ($N^A N$) = diimine (fig. 2) ont été synthétisés.^[5] Toutefois, la forte labilité des ligands diimine a empêché leur développement ultérieur. Le remplacement des ligands ($N^A N$) par des ligands diphosphine ($P^A P$) a fourni des complexes de 2^o

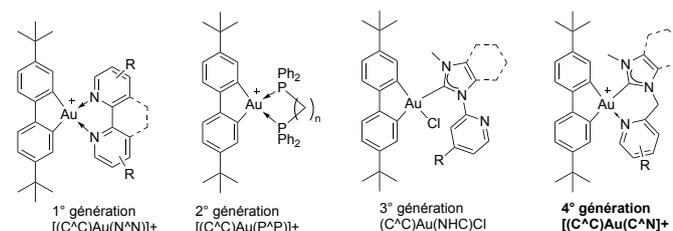


Figure 2. Générations de complexes d'or à ligand biphenyle

génération, stables et fortement cytotoxiques. Une troisième génération de molécules présentant un ligand NHC-pyridine libre (NHC = carbène N-hétérocyclique) a aussi été synthétisée (fig. 2, résultats non publiés). Les complexes de 2^{ème} génération sont supposés agir par interaction non covalente alors que les composés de 3^{ème} génération agissent probablement par coordination de l'or.

Récemment, des complexes cationiques d'or(III) à ligand (C[^]N[^]C) parfaitement stables en milieu biologique ont démontré une forte activité cytotoxique, en particulier sur un modèle cellulaire de leucémie aiguë mais malheureusement une faible sélectivité.^[6] Ainsi, le développement de complexes d'or présentant des mécanismes d'action innovants apparaît nécessaire pour augmenter leur **sélectivité pour les cellules tumorales** et envisager à terme leur translation en clinique.

Objectifs du projet

Dans le cadre d'un stage de M2, l'équipe Chembio synthétise actuellement une quatrième génération de complexes d'or(III) porteurs d'un ligand bidente (C[^]N) dans lequel le motif pyridine peut être libre ou coordiné à l'or (fig. 2). Cette propriété fait espérer que ces complexes présentent un mode d'action différent des générations 2 et 3. Le premier objectif du projet sera d'établir le mécanisme d'action et la spéciation de cette nouvelle famille de complexes et déterminer leurs cibles biologiques. Le deuxième objectif sera la synthèse de complexes d'or(III) dérivés du nilotinib et du niraparib. Le troisième objectif sera l'étude des propriétés biologiques de ces molécules duales sur des modèles cellulaires pertinents. Le projet sera mené à parts égales entre l'équipe Chembio de l'IPCM (chimie) et l'équipe TGF-β du CRSA (biologie cellulaire) qui entretiennent une collaboration fructueuse depuis 2017.

Méthodologie

1) Synthèse, caractérisation de complexes d'or dérivés du nilotinib et du niraparib (équipe Chembio, IPCM)

Les structures RX des complexes Abl1-nilotinib et PARP-niraparib (fig. 3) montrent que le cycle imidazole du nilotinib et le cycle pipéridine du niraparib se situent à l'entrée du site de liaison de l'ATP (Abl)^[7] ou de l'adénine (PARP-1)^[8] (fig. 3). Ces 2 substituants serviront de point d'ancrage pour introduire l'or(III).

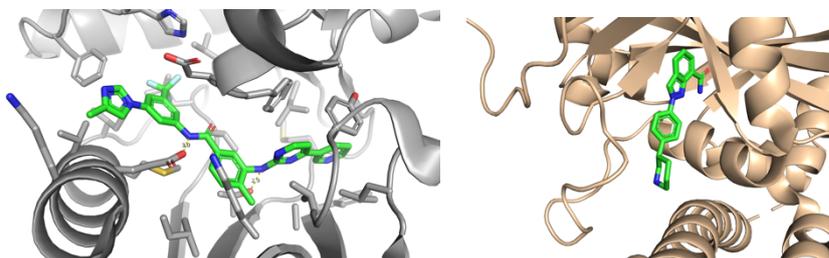


Figure 3. Structures RX du complexe Abl1-nilotinib (à gauche) et du complexe PARP-niraparib (à droite)

Le motif imidazole du nilotinib offre un point de départ pour la synthèse de complexes NHC d'or. Des proligands (arylo)imidazolium seront synthétisés par réaction du nilotinib avec des dérivés bromoalkane ou la 2-(bromométhyl)pyridine. Les carbènes N-hétérocycliques (NHC) correspondants seront obtenus par réaction de l'oxyde d'argent puis transmétallation en présence d'une source d'or(III). Un analogue du niraparib comprenant un substituant pyridine à la place de la pipéridine sera utilisé comme ligand azoté pour introduire une entité d'or(III) (Fig. 4).

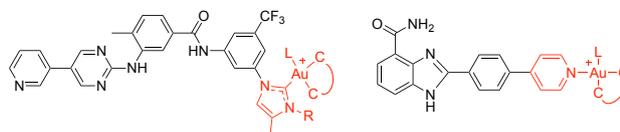


Figure 4. Exemples de complexes cationiques d'or(III) dérivés du niraparib et du nilotinib

2) Etudes biologiques (équipe TGF-β, CRSA)

L'activité biologique des complexes de 4^{ème} génération [(C[^]Au(C[^]N))⁺ sera étudiée sur un panel de lignées cancéreuses humaines et des lignées non cancéreuses pour comparaison. On utilisera les mêmes lignées que pour les dérivés du nilotinib et du niraparib, permettant de comparer les effets des complexes d'or libres et associés aux inhibiteurs, versus les inhibiteurs non couplés (vide infra). **Leur biodistribution et leur mécanisme d'action** seront étudiés en détail : marquage fluorescent des complexes pour déterminer leur localisation (par introduction d'une fonction alcyne « clickable »), étude du cycle cellulaire, type de mort cellulaire, viabilité mitochondriale et, le cas échéant, identification des protéines impactées par le traitement.

Les propriétés du nilotinib conjugué au complexe d'or (**nilotinib-[Au]**) seront comparées à celles de ses constituants séparés. Il s'agira d'étudier leur capacité à inhiber la prolifération cellulaire dans un modèle de leucémie myéloïde chronique (sensible au nilotinib) comme K562s et sur un modèle de leucémie aiguë (résistant au nilotinib)^[2] comme HL-60. L'inhibition de la voie de signalisation Bcr-Abl (fig. 5) sera analysée par des approches classiques de western blot, en analysant par exemple l'état de phosphorylation de la kinase Bcr-Abl. En aval de Bcr-Abl, on attend une inhibition de la prolifération (p53, p27, cycline D1), une inhibition de la voie du TGF-beta (kinases ERK et Akt) et une induction de l'apoptose (Bcl2, p53 et PARP). Ces données permettront d'identifier la contribution de chaque partie de la molécule au mécanisme global des complexes.

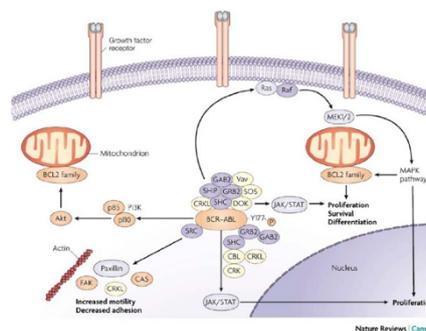


Figure 5. Voies de signalisation Bcl-Abl

Les propriétés du niraparib conjugué au complexe d'or (**niraparib-[Au]**) seront analysées dans la même logique, cette fois dans des lignées cellulaires de cancer du sein affectées dans le système de réparation de l'ADN dépendant de BRCA (lignées BRCA^{-/-}, BRCA^{+/+} ou BRCA^{+/-}), et dans des lignées leucémiques de type B qui sont particulièrement sensibles à l'inhibition de PARP. On s'attend à trouver une cytotoxicité plus importante du **niraparib-[Au]** vis-à-vis des cellules BRCA^{-/-} ou plus généralement déficientes dans la voie BRCA que dans les cellules proficientes. Au niveau moléculaire, nous chercherons à démontrer l'inhibition efficace de PARP par le **niraparib-[Au]** en analysant sa séquestration sur la chromatine (une caractéristique de la forme inactive). Les approches proposées dans ce contexte sont l'immunoprécipitation de chromatine, l'imagerie de fluorescence visant à démontrer la colocalisation de PARP avec des marqueurs de l'ADN endommagé (P53BP1 pour les cassures simple-brin et gamma-H2AX pour les cassures double-brin). Nous analyserons aussi si le **niraparib-[Au]** (comparé au niraparib seul et au complexe d'or seul) induit la réponse cellulaire typique suite à l'endommagement de l'ADN (activation de la voie ATM/ATR - Chk1/2). Ces résultats nous donneront une vision précise de l'activité du **niraparib-[Au]** vis-à-vis de PARP1.

Résultats attendus et intérêt de la collaboration

Au terme du projet, nous aurons déterminé si l'introduction d'un complexe d'or sur le niraparib et le nilotinib modifie ou non leurs propriétés biologiques comme par exemple leur capacité à inhiber leur protéine cible respective. Nous aurons aussi validé si l'addition d'un complexe d'or sur les inhibiteurs de PARP et Bc-Abl les rend plus efficaces et plus sélectifs des cellules tumorales dépendantes de ces protéines. Nous aurons aussi évalué les propriétés cytotoxiques des complexes de 4^e génération. La réussite de ce projet consistant dans le développement d'agents thérapeutiques efficaces et sélectifs contre le cancer ne peut se réaliser que grâce à une collaboration étroite entre chimistes moléculaires et biologistes cellulaires.

Ce projet de recherche doctoral, qui s'inscrit à l'interface entre les sciences chimiques et les sciences du vivant, permettra au doctorant d'acquérir une réelle formation pluri-disciplinaire. Le (la) doctorant(e) se formera aux techniques usuelles de la synthèse organique/organométallique. L'étudiant(e) se formera également aux techniques de biologie cellulaire et moléculaire et complètera sa formation par l'acquisition d'un savoir-faire en cytométrie de flux.

Références

- [1] A. M. Holder, F. Meric-Bernstam, in *Target. Ther. Transl. Cancer Res.* (Eds.: A.-M. Tsimberidou, R. Kurzrock, K.C. Anderson), John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA, **2015**, pp. 3–13.
- [2] Y. Deguchi et al., *Leuk. Res.* **2008**, *32*, 980–983.
- [3] H. J. Lee, J. E. Thompson, E. S. Wang, M. Wetzler, *Cancer* **2011**, *117*, 1583–1594.
- [4] B. Bertrand, M. R. M. Williams, M. Bochmann, *Chem. – Eur. J.* **2018**, *24*, 11840–11851.
- [5] S. Khodjoyan, E. Remadna, H. Dossmann, D. Lesage, G. Gontard, J. Forté, H. Hoffmeister, U. Basu, I. Ott, P. Spence, Z. A. E. Waller, M. Salmain, B. Bertrand, *Chem. – Eur. J.* **2021**, *27*, 15773–15785.
- [6] B. Bertrand, J. Fernandez-Cestau, J. Angulo, M. M. D. Cominetti, Z. A. E. Waller, M. Searcey, M. A. O'Connell, M. Bochmann, *Inorg. Chem.* **2017**, *56*, 5728–5740.
- [7] E. Weisberg et al., *Br. J. Cancer* **2006**, *94*, 1765–1769.
- [8] K. Ryan et al., *J. Biol. Chem.* **2021**, *296*, 100251.