

Conception et synthèse de nouvelles molécules à visée antileishmanienne

Pr Christian R. Cavé
UMR CNRS 8076, BioCIS
Faculté de Pharmacie
Université Paris -Saclay

Académie Nationale de Pharmacie
Paris, 31 janvier 2018

Les Leishmanioses

- Maladies parasitaires négligées
- Forme viscérale létale



Forme cutanée



Forme cutanéomuqueuse



Forme viscérale

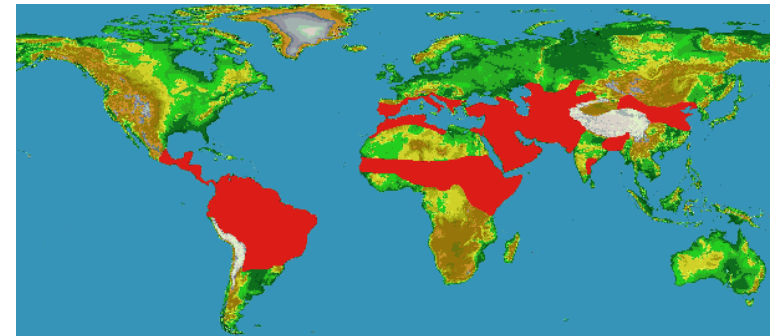


Phlébotome

- Causées par des parasites du genre *Leishmania*, transmises par l'insecte vecteur, le phlébotome

- Prévalence : **12 millions de cas dans le monde** (1)

- Incidence : **2 millions / an**
500 000 formes viscérales



1) Palumbo et coll. (2009) *Am J Ther* 16:178–182

Les Leishmanioses

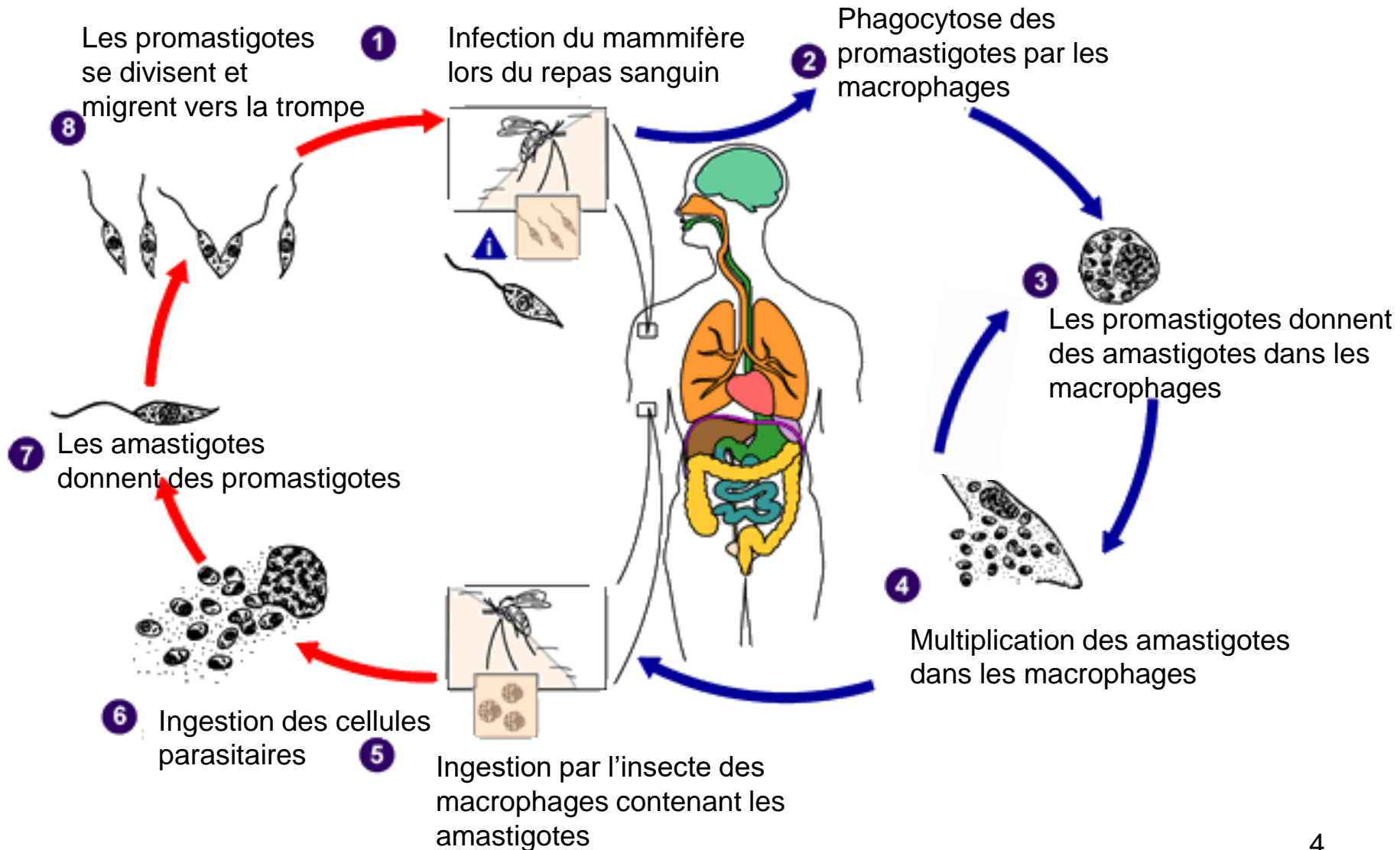
Répartition géographique :



88 pays à travers le monde

- ➔ **Afrique et Asie:** *Leishmania donovani*
- ➔ **Bassin méditerranéen:** *Leishmania infantum*
- ➔ **Amérique du Sud :** *Leishmania mexicana*, *Leishmania brasiliensis*,....

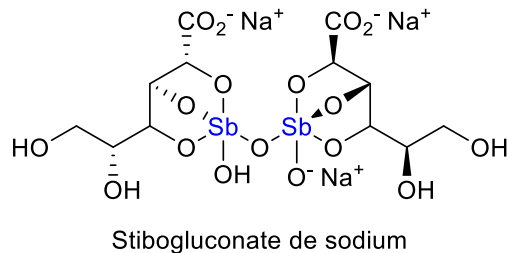
Cycle parasitaire



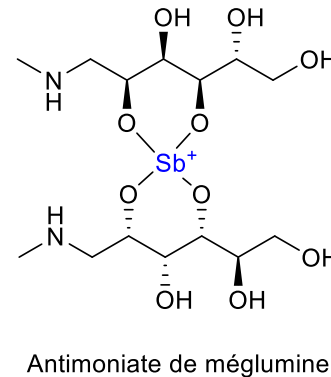
Traitements actuels

- **Les antimoniés**

- Utilisés depuis les années 70



Pentostam®, GSK



Glucantime®, Rhône Poulenc

- Présentent de nombreux **effets secondaires** (rénaux, hépatiques, cardiaques) (2)

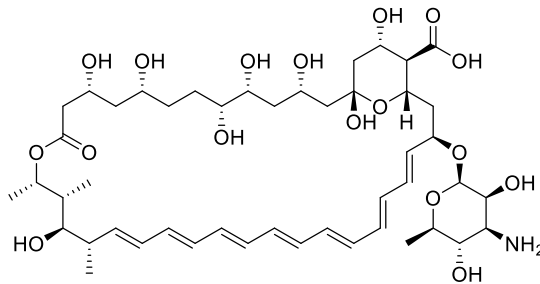
- **Résistance au principe actif en forte augmentation** (3)

2) Roychoudhury et coll. (2008) *Indian J Biochem Biophys* 45:16–22

3) Croft et coll. (2006) *Clin Microbiol Rev* 19:111–126

Traitements actuels

- **L'amphotéricine B**
 - Utilisée dans les infections fongiques



Amphotéricine B



- Présentent de nombreux **effets secondaires** (fièvre, thrombophlébite, dysfonction rénale) (4)
- **Toxicité réduite dans la formulation liposomale** (5)

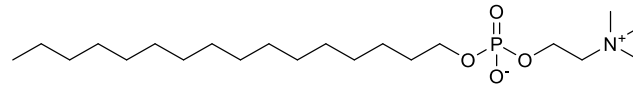
4) Sundar et coll. (2006) *Indian J Med Res* 123:345–352

5) Rosenthal et coll. (2009) *Med Mal Infect* 39:741–744

Traitements actuels

- **La miltéfosine**

- Développée initialement comme anticancéreux (6)



Miltéfosine

- Premier traitement par voie orale

- Effets secondaires nombreux (7)

- Vomissements (40%), nausées (20%)
 - Action tératogène
 - Toxicité rénale



6) Ouellette et coll. (2004) *Drug Resist Updat* 7:257–266

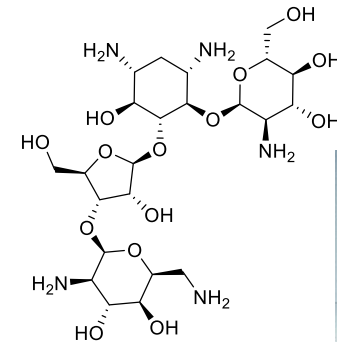
7) Sundar et coll. (2006) *Indian J Med Res* 123:345–352

Traitements actuels

- **Autres molécules**

- La paromomycine (8)

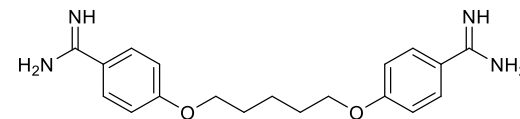
- Essais cliniques en usage parentéral
- **Autorisée en Inde depuis 2006**



Paromomycine

- La pentamidine (8)

- Utilisée depuis les années 70
- **Rapide déclin de son efficacité**



Pentamidine

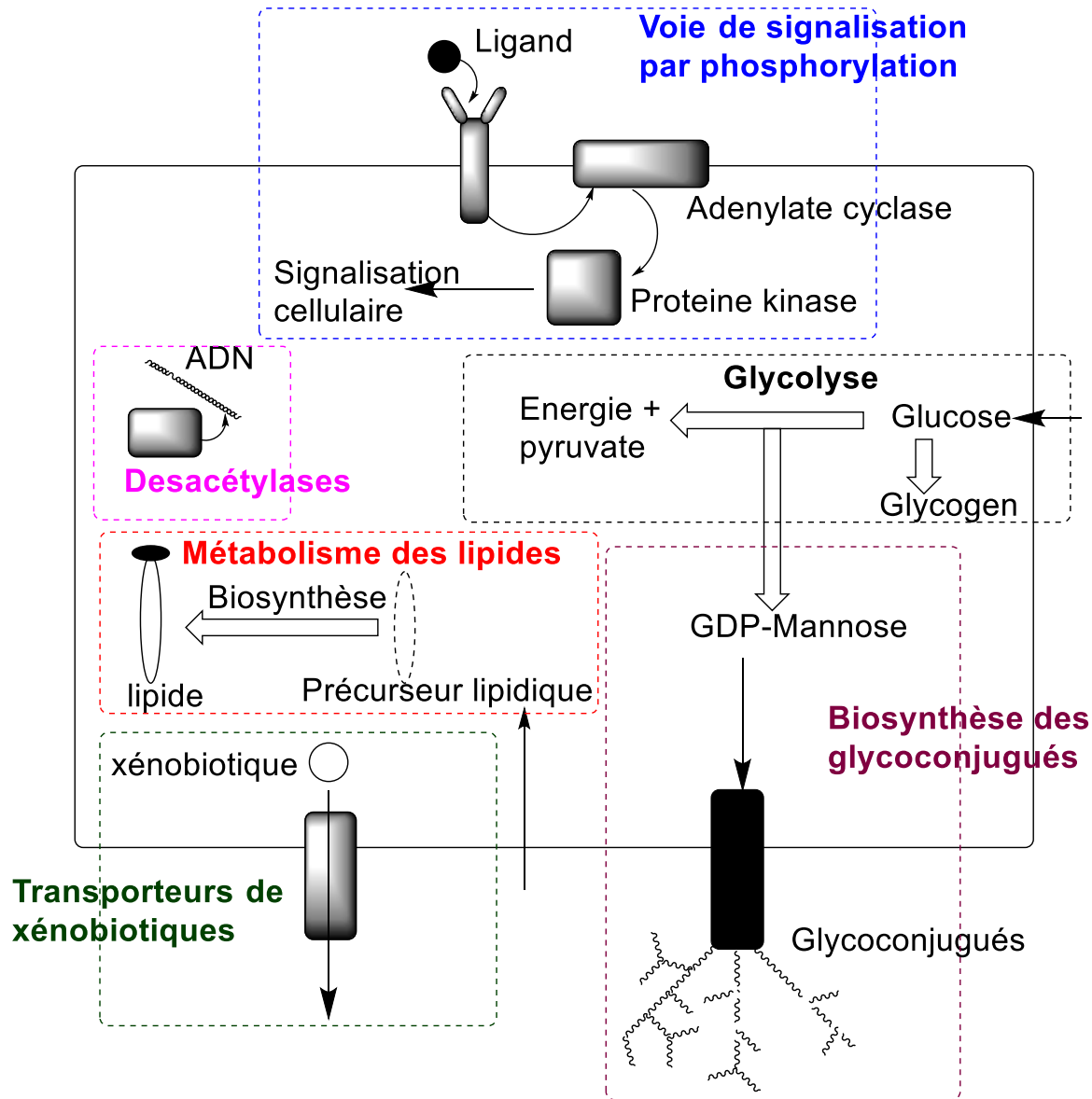
8) Croft et coll. (2003) Trends Parasitol 19:502–508

9) Baird et coll. (2011) Trends Parasitol 27:11–16

Traitements actuels

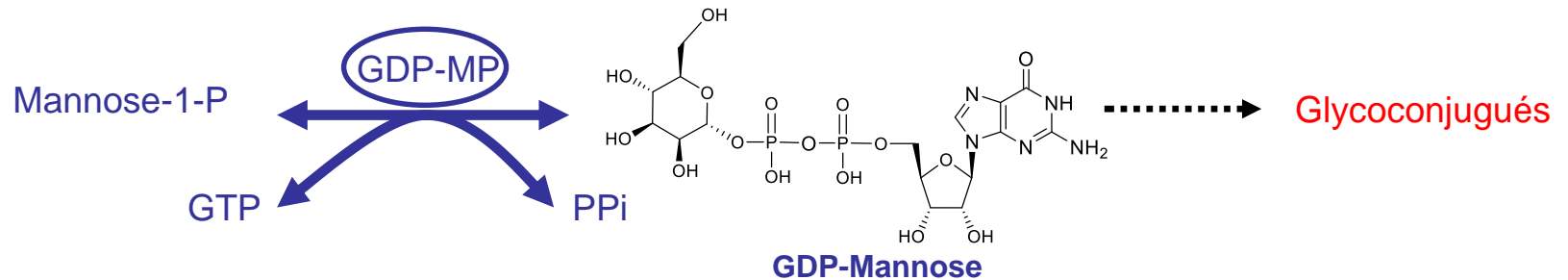
- Les principaux traitements actuels induisent des effets indésirables
 - L'augmentation des résistances aux principes actifs devient préoccupante dans les zones endémiques
 - Les molécules utilisées proviennent de recherches empiriques
- ⇒ **Conception de nouvelles molécules à partir de cibles thérapeutiques validées**

Perspectives thérapeutiques



Cible thérapeutique

- **La GDP-Mannose pyrophosphorylase**



- **Enzyme ubiquitaire** présente dans les organismes procaryotes et eucaryotes impliquée dans le processus de **glycosylation**
 - **Délétion du gène GDP-MP chez *L. mexicana***
 - Parasites avirulents
 - Parasites incapables de se développer dans les macrophages
- ⇒ **La GDP-MP est une cible thérapeutique validée**

Déroulement des travaux

Modélisation moléculaire

- Construction de modèles de GDP-MP
- Conception d'inhibiteurs de la GDP-MP

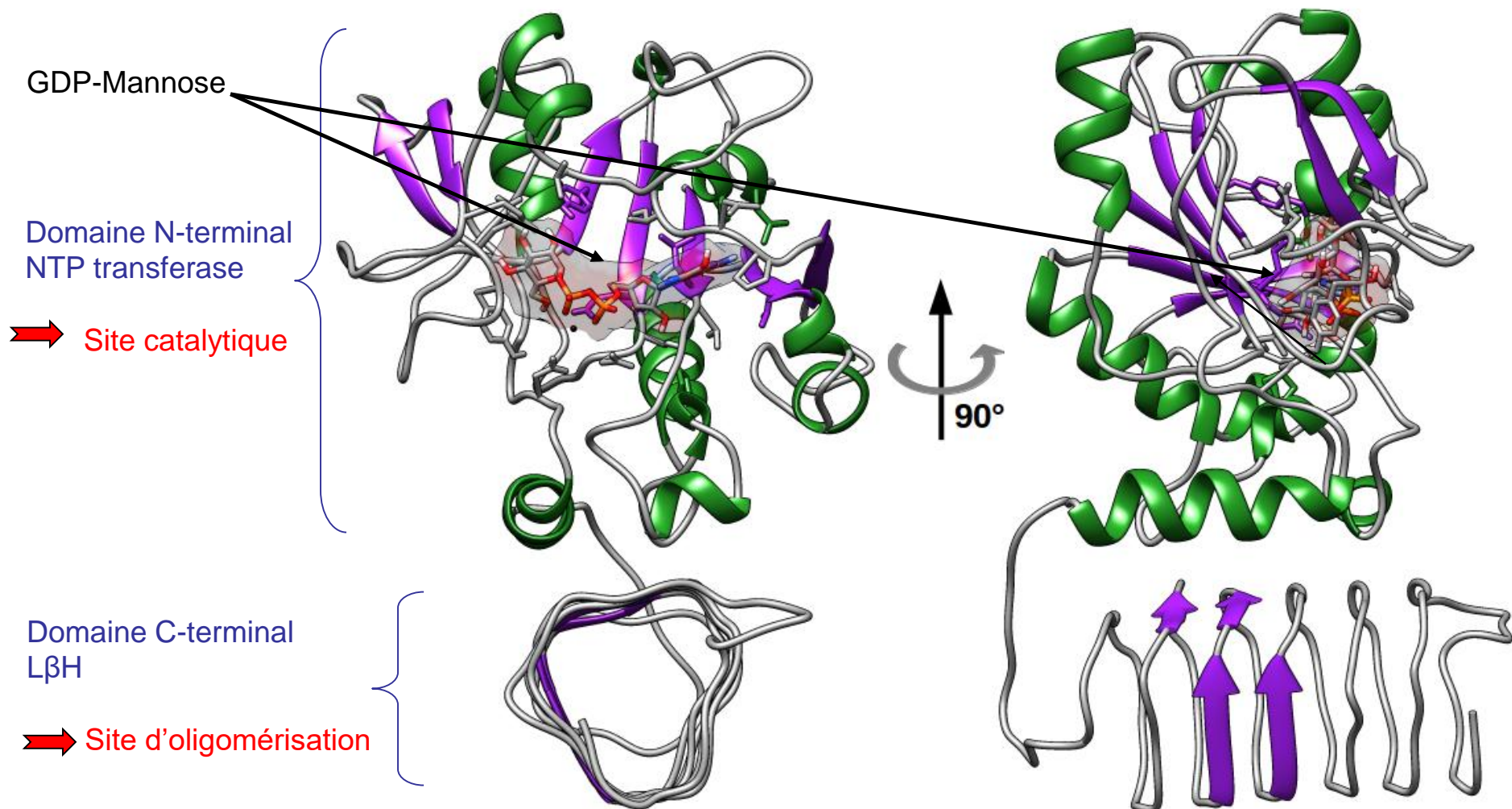
Evaluations biologiques

- Evaluation des composés sur GDP-MP
- Evaluation des composés sur *Leishmania*

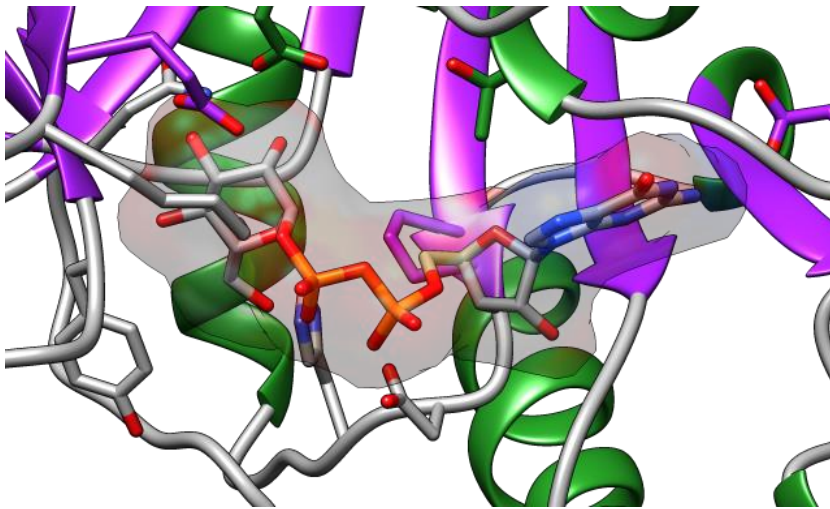
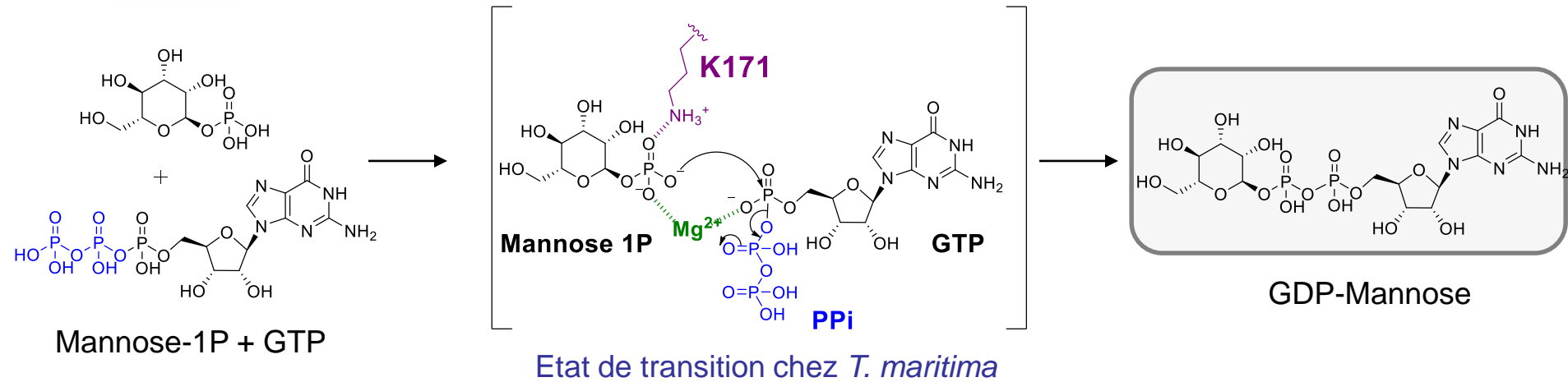
Chimie organique

- Synthèse des composés
- Caractérisation des composés

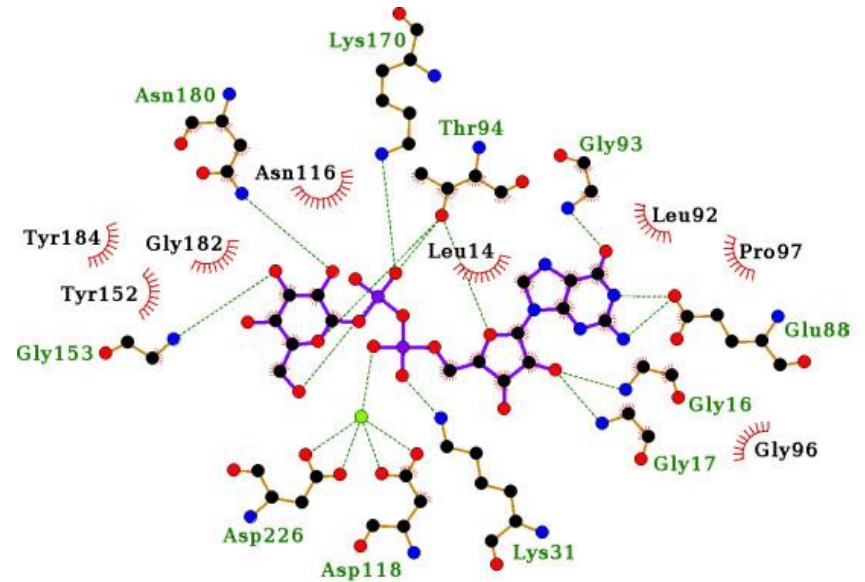
Modèles de GDP-MP



Site actif de la GDP-MP

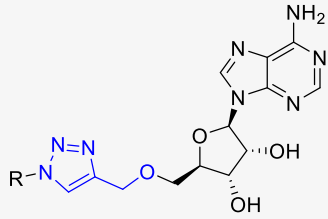


GDP-MP *L. donovani*

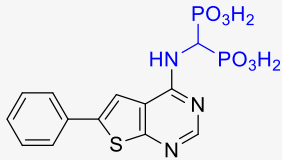


⇒ Rôle central du magnésium dans le mécanisme enzymatique

Conception des inhibiteurs

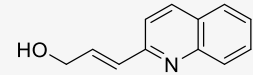
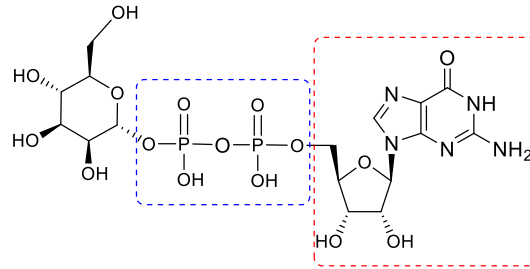


- Inhibiteur IMDH $IC_{50} = 70 \text{ nM}$

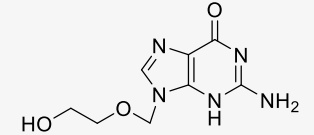


- Inhibiteur FPS $IC_{50} = 50 \text{ nM}$

GDP-Mannose

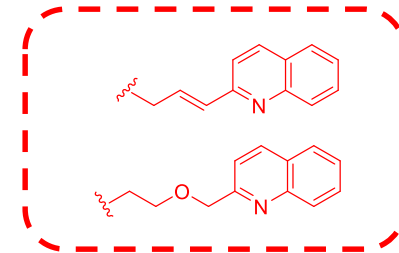
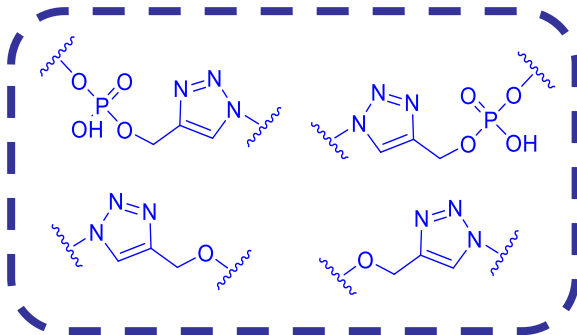


- *L. infantum* amastigotes
- $IC_{50} < 4 \mu\text{M}$

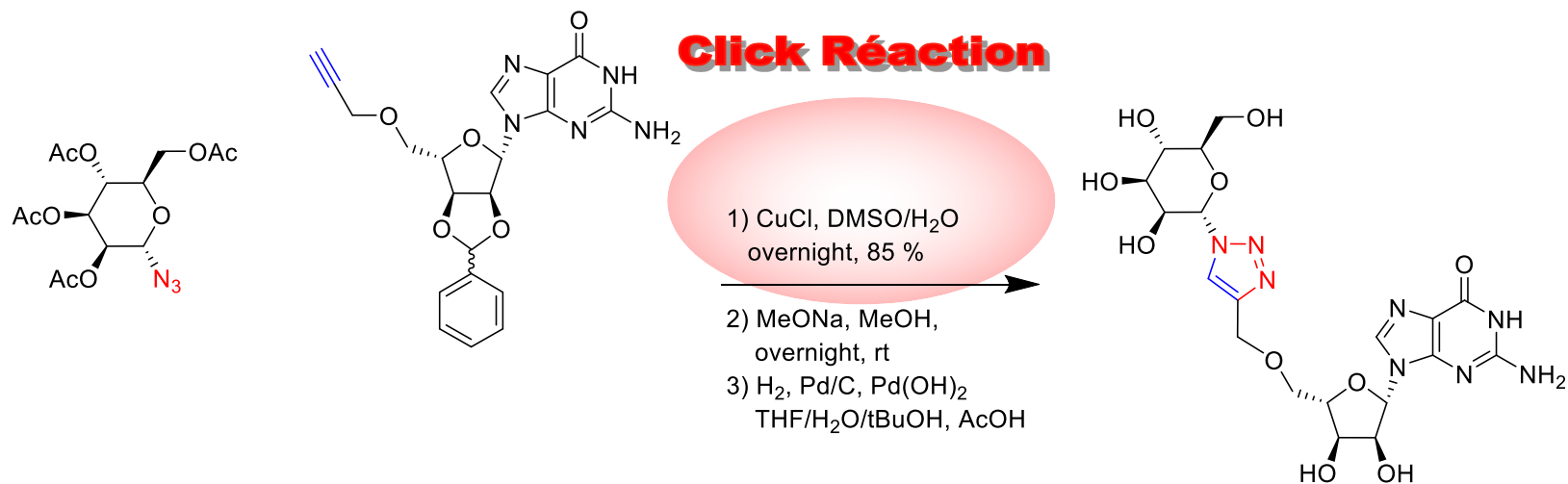
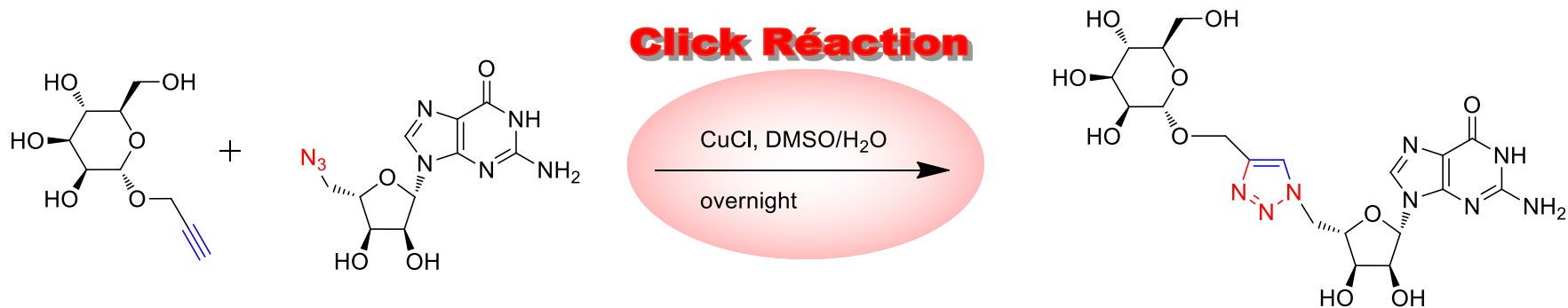


- Acyclovir
- AMM depuis 2002

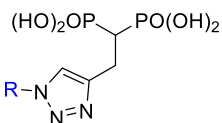
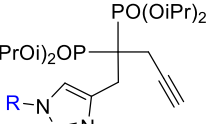
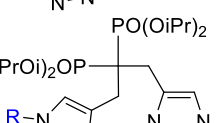
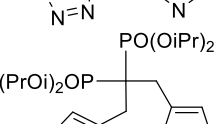
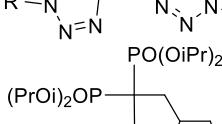
Click Réaction



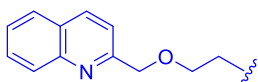
Click Reaction



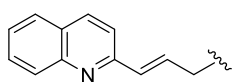
Evaluations biologiques

Bras espaceur	GDP-MP % inhib. 100 μ M		<i>L. donovani</i> CI_{50} μ M \pm SD		CC_{50} μ M \pm SD
	<i>L. donovani</i>	<i>H. sapiens</i>	axénique	intramacrophagique	Cytotoxicité
	7	10	>100	>100	>100
	90	55	0.8 ± 0.2	0.6 ± 0.3	1.1 ± 0.1
	48	49	>100	>100	>100
					
					

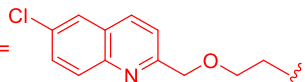
R =



R' =



R'' =



\Rightarrow 2 Composés sont inhibiteurs de la GDP-MP et possèdent des activités antileishmaniennes

Perspectives

Etude cristallographique des complexes GDP-MP/substrat et GDP-MP/inhibiteur

Production d'un anticorps anti-GDP-MP:

- Etude de l'expression et de la localisation de l'enzyme après traitement

Etude métabolomique des inhibiteurs spécifiques (collaboration : H. de Koning)

Evaluation du meilleur inhibiteur sur un modèle de leishmaniose expérimentale chez **souris Balb/C**

Remerciements

- **Equipe : Chimiothérapie antiparasitaire**

- Dr Pierre Daligaux, Sophie Mohammed
 - Pr. Phillipe Loiseau
 - Dr. Sébastien Pomel
 - Wei Mao
 - Dr. Sandrine Cojean
 - Soulaf Suyyagh
 - Sophie Mohamed
 - Semaher Alkhafaji
 - Yassin Messaoudi
- } Evaluations enzymatiques
Evaluations sur *Leishmania*
- } Evaluations sur *P. falciparum*
- } Synthèse des inhibiteurs

- **Equipe : Molécules fluorées et chimie médicinale**

- Pr. Tâp Ha-Duong
 - Dr. Guillaume Bernadat
 - Lin Thi-Thuy
- } Modélisation moléculaire

- **Service commun de CLHP**

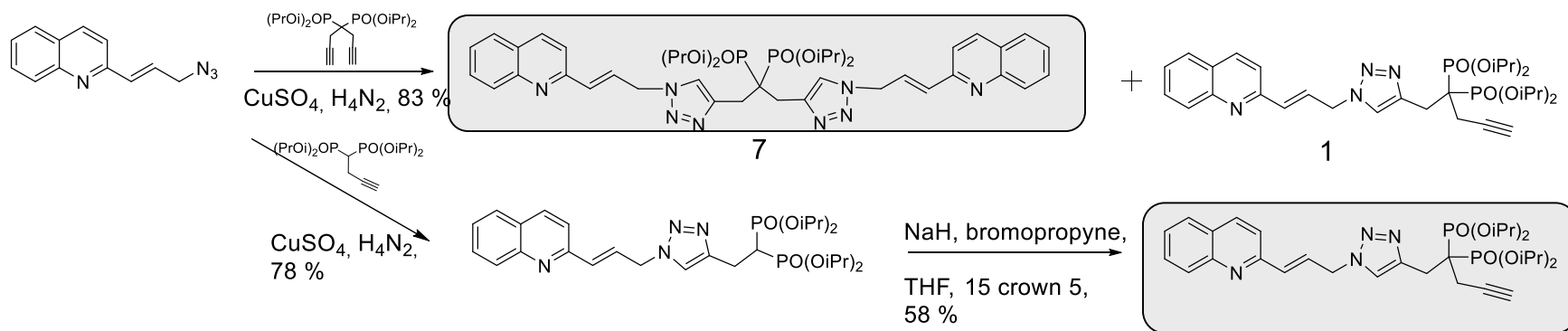
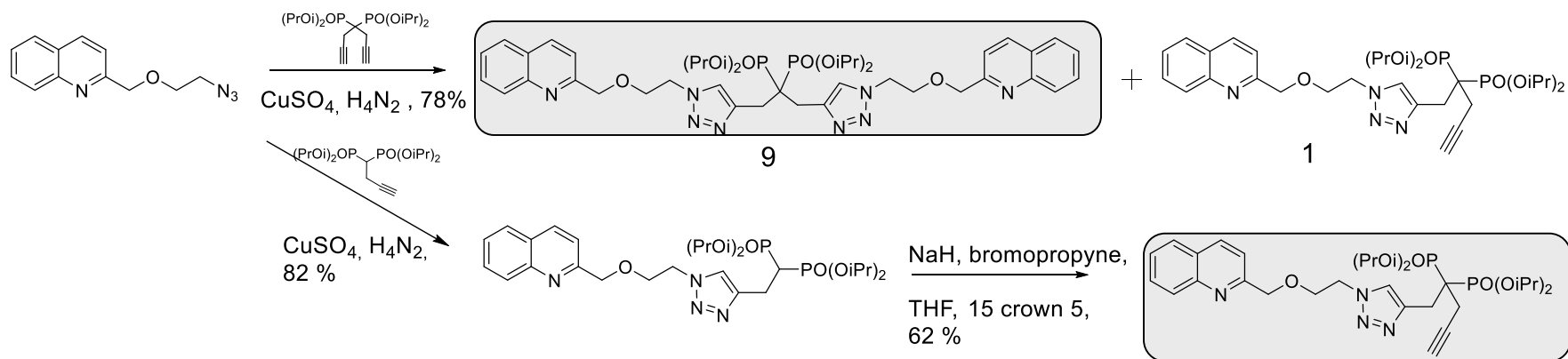
- Dr. Karine Leblanc
- } Purification et caractérisation des composés



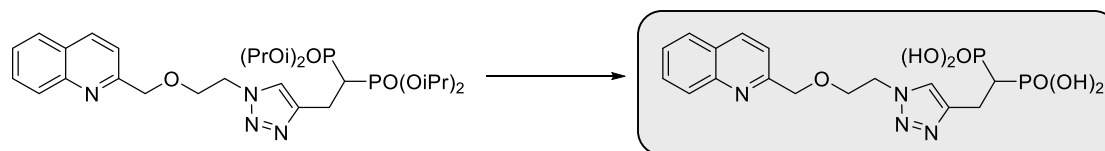
Thank you for your attention



Dérivés bisphosphonates

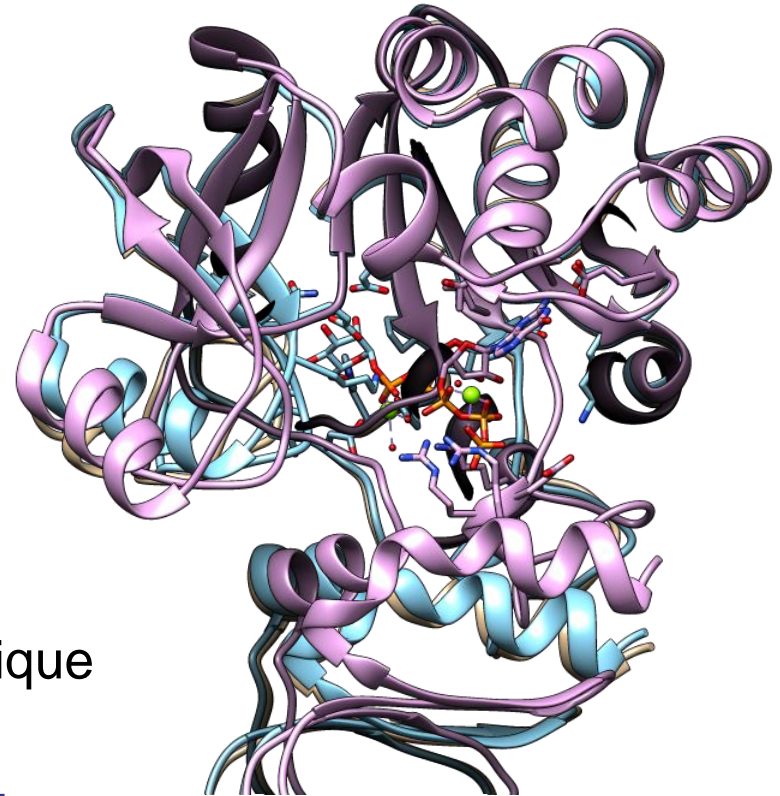
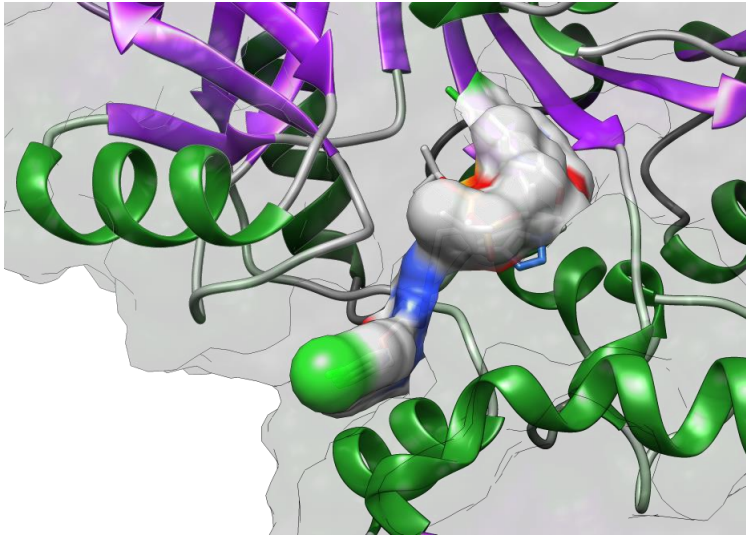


Dérivé bisphosphonique



Réactif	Solvent	Base	Quantité	T (°C)	Rendement %
H ₂ SO ₄	-	-	100 eq	80	-
TMSBr	DCM	2,6-lutidine	40 eq.	0 à 20	-
TMSBr	DCM	-	20 eq.	0 à 20	-
TMSBr	MeCN	2,6-lutidine	20 eq.	20	-
TMSBr	MeCN	-	50 eq.	0 à 20	90

Liaison des phosphonates



- Inhibiteur de type compétitif mixte
- Possible fixation dans un site allostérique

⇒ Bloque l'enzyme dans une conformation

⇒ Site de fixation de l'inhibiteur à préciser
par étude cristallographique

GDP-MP *T. maritima* GDP-Mannose