

TITRE DU PROJET : Développement de nouveaux PROTACs favorisant sélectivement l'élimination de la tau-phosphorylée pour l'amélioration des fonctions cognitives chez les malades Alzheimer

1) Renseignements administratifs sur la direction de thèse (1 page maximum) :

Directeur de thèse HDR : Professeur
Nom : REFOUVELET
Prénom : Bernard

Co-directeur de thèse éventuel :
Nom : MIGUET-ALFONSI
Prénom : Carole

2) Descriptif du projet de thèse (devra inclure les rubriques suivantes) :

- nom et label de l'unité de recherche (ainsi que l'équipe interne s'il y a lieu)
Laboratoire de recherches Intégratives en Neurosciences et psychologie Cognitive
LINC-UMR INSERM 1322

- localisation :
UFR Santé, 19 rue Ambroise Paré, 25030 Besançon Cedex

- nom du directeur de thèse et du co-directeur s'il y a lieu :
Directeur de thèse : Bernard REFOUVELET
Co-directeur : Carole MIGUET-ALFONSI

- adresse courriel du contact scientifique
bernard.refouvelet@univ-fcomte.fr

- description du projet :

La maladie d'Alzheimer (MA) est le trouble neurodégénératif le plus courant, se manifestant cliniquement par la détérioration des fonctions cognitives et la perte progressive de la mémoire et touche principalement les personnes âgées¹. Avec l'augmentation de l'espérance de vie, la prévalence croissante de la MA est devenue une préoccupation majeure pour la santé publique et un fardeau financier pour la société. On estime que 35 millions de personnes dans le monde souffrent de la MA², et ce chiffre devrait atteindre au moins 100 millions d'ici 2050³. En raison de la compréhension encore limitée de la pathogenèse de la MA, aucun traitement ou médicament efficace n'est actuellement disponible pour cette maladie dévastatrice, soulignant un besoin urgent et non satisfait de développement de médicaments.

L'accumulation intracellulaire de la protéine tau hyperphosphorylée (p-tau) et les dépôts extracellulaires du peptide beta amyloïde (A β) sont des caractéristiques pathologiques observées dans les cerveaux affectés par la MA^{4,5}. Ces dernières décennies, les efforts de développement de médicaments contre la MA se sont principalement concentrés sur l'A β .

En conséquence, diverses thérapies ciblant l'A β ont été développées et testées, telles que la réduction de sa production par des inhibiteurs de la β -/ γ -sécrétase^{6,7}, l'élimination de l'A β en favorisant sa dégradation ou avec des anticorps^{8,9}. Malheureusement, les résultats cliniques de ces stratégies de ciblage de l'A β ont été décevants jusqu'à présent.

Récemment, des thérapies ciblant les protéines tau ou les voies qui y sont associées ont été proposées, telles que la réduction de l'expression de la protéine tau avec des ARN interférents (ARNi)¹⁰ ou des oligonucléotides antisens (ASO)¹⁰; la modulation des modifications post-traductionnelles de la tau en régulant l'activité des enzymes associées ; l'agrégation de p-tau par des inhibiteurs¹¹, ou la dégradation de la p-tau par la voie autophagie-lysosome (ALP)¹².

Pour cibler des protéines autrefois impossibles à atteindre, une stratégie émergente appelée dégradeurs de protéines ciblées ou PROTAC (Protéolyse Targeting Chimeras) a récemment attiré l'attention pour la dégradation sélective de la p-tau. Au-delà de l'inhibition classique des cibles, ce nouveau paradigme basé sur les PROTAC vise à contrôler les niveaux de protéines plutôt qu'à moduler leur fonction. En effet, les PROTAC n'inhibent pas une protéine d'intérêt donnée (POI), mais induisent plutôt son élimination en se liant à elle et en exploitant le système ubiquitine-protéasome (UPS) de l'élimination cellulaire¹³⁻¹⁶. Cette approche offre la possibilité de surmonter de nombreux problèmes associés aux inhibiteurs classiques de petites molécules, tels que la résistance aux médicaments et les effets indésirables.

Dans le cadre de nos recherches au sein du laboratoire de Neurosciences, nous avons développé plusieurs séries de molécules d'intérêt pour la maladie d'Alzheimer, en particulier les séries BIGIND et BIGI-BIH, qui se sont révélées actives sur 4 cibles impliquées dans la MA, y compris l'inhibition de la protéine p-tau avec une grande affinité, représentant ainsi la première génération de molécules prometteuses dans ce domaine¹⁷⁻²⁰.

Nos travaux ont abouti au dépôt de deux brevets le 29 décembre 2021 sous les numéros EP3929186A1 et EP3929192A1. Deux représentants de ces molécules, BIGIND21 et BIGI-BIH, ont montré des capacités pro-cognitives chez le rongeur en contrant, in vivo, les effets amnésiants de la scopolamine. Ils sont actuellement en développement pharmaceutique dans notre laboratoire pour étudier leur efficacité pharmacodynamique, leur pharmacocinétique et leur efficacité à différents stades d'évolution de la pathologie sur un modèle murin 3xTg-AD, qui est actuellement le seul modèle de souris Alzheimer développant à la fois les pathologies amyloïdes et tau.

Ce projet de thèse s'inscrit dans la continuité des travaux de notre groupe, visant à synthétiser de nouveaux PROTAC favorisant sélectivement l'élimination de la protéine p-tau. Ces PROTAC sont de petites molécules bi-bifonctionnelles constituées de deux entités séparées par un espaceur.

La première entité doit être capable d'inhiber la protéine p-tau avec une grande sélectivité et une forte affinité. Pour identifier cette entité, nous avons analysé les relations structure-activité des BIGIND et BIGI-BIH qui nous ont permis de sélectionner un pharmacophore composé d'une hormone attachée à une dihydropyridinone pour ce projet en raison de sa forte affinité potentielle vis-à-vis de la p-tau.

Pour la deuxième entité, nous avons choisi le Thalidomide et ses dérivés comme recruteur de la ligase, en raison de leur capacité à induire l'élimination des protéines ciblées par le système ubiquitine-protéasome. Près de 70 ans se sont écoulés depuis que ce dernier a été initialement développé comme médicament sédatif-hypnotique. Il est aujourd'hui le premier et l'un des dégradeurs de protéine les plus connus voir schéma (schéma 1).

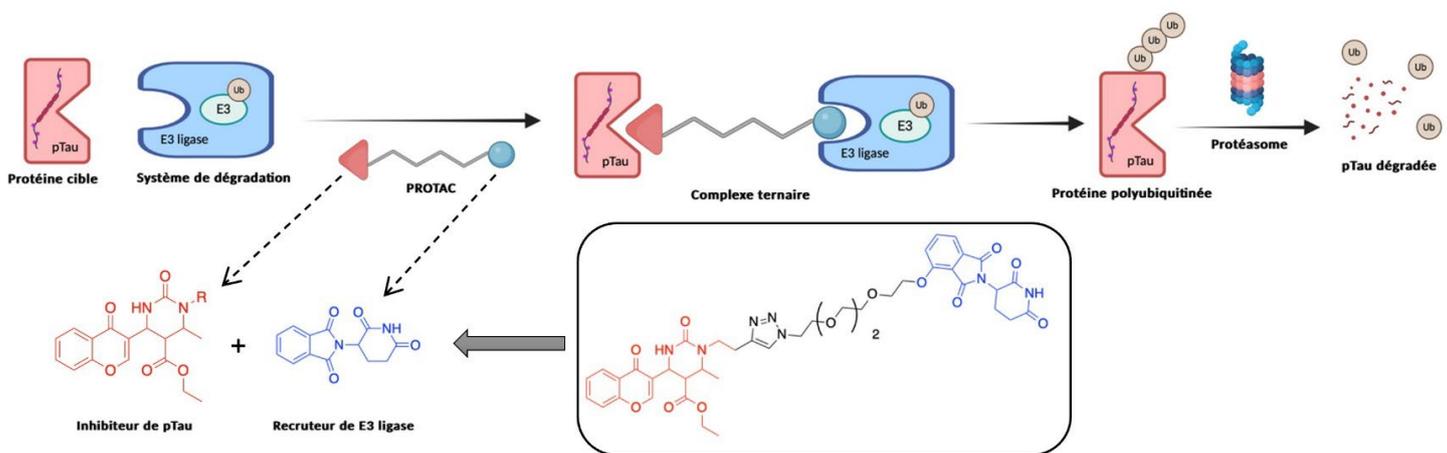
Concernant l'espaceur et étant donné que le potentiel de dégradation des PROTAC dépend de leur capacité à former un complexe ternaire avec la protéine ciblée et la ligase, nous utiliserons plusieurs espaceurs de longueurs différentes, tels que le poly(éthylène glycol) 3-

4-3 et 2-2-2, en raison de leurs propriétés favorables en termes d'accessibilité synthétique, de flexibilité, de disponibilité et de profil physico-chimique.

En plus des implications thérapeutiques, ce projet engendre des ramifications dans divers domaines d'expertise et bénéficie de collaborations nationales et internationales. La conception et la synthèse des PROTACs seront effectuées au sein de notre laboratoire et les premiers travaux de synthèse ont déjà débutés grâce à l'implication de Mme Estelle André en stage de M2, en privilégiant une approche de synthèse convergente combinée à des réactions multicomposants afin de réduire le nombre d'étapes de synthèse et la génération de déchets. Nous privilégierons également les réactions sous micro-onde et la sonochimie, pour mener ce projet selon des procédés de chimie verte respectueuse de l'environnement. Les évaluations pharmacologiques de la protéine Tau seront réalisées par des techniques de western blot, en s'appuyant à la fois sur les compétences internes et celles de notre partenaire, le Dr M. Bartolini de l'Université de Bologne.

L'étude in vivo des molécules prometteuses sera menée sur un modèle murin 3xTg-AD, le seul modèle de souris Alzheimer reproduisant simultanément les pathologies amyloïde et tau, et utilisé par notre laboratoire depuis plus de 10 ans.

Schéma 1 : Nouveau PROTACs favorisant l'élimination de la Tau-phosphorylée



- Financement du projet – partie Recherche (montants acquis, type de contrat) :
Par l'intermédiaire du projet Région « Tau cible centrale sur le chemin d'un médicament anti-Alzheimer » et avec le soutien de l'équipe LINC – UMR INSERM 1322.

- connaissances et compétences requises :
Synthèse organique, chimie médicinale, analyse structurale et affinité pour la réalisation de tests biologiques.

Résumé en français et anglais (limité chacun à 1800 caractères)

Résumé en français :

Dans ce projet, nous explorons l'utilisation de PROTACs (proteolysis-targeting chimeras), qui sont des petites molécules bi-bifonctionnelles conçues pour dégrader une protéine pathogène en recrutant simultanément une ubiquitine ligase (E3) et une protéine cible via le système ubiquitine protéasome. Notre objectif est de cibler la protéine tau pathologique pour favoriser son élimination.

Ce projet impliquera une collaboration entre différentes expertises au sein de l'équipe, notamment en chimie médicinale pour la synthèse des PROTACs inspirés de la structure des molécules préalablement brevetées par notre équipe, en biologie pour la détermination in vitro de la

dégradation de la protéine tau par des techniques telles que le Western blot, et en comportement animal pour évaluer l'efficacité des PROTACs sur des modèles de souris 3x.

Résumé en anglais:

In this project, we explore the use of PROTACs (proteolysis-targeting chimeras), which are small bi-bifunctional molecules designed to degrade a pathogenic protein by simultaneously recruiting an ubiquitin ligase (E3) and a target protein via the ubiquitin proteasome system. Our objective is to target the pathological tau protein to promote its elimination.

This project will involve collaboration between different expertise within the team, notably in medicinal chemistry for the synthesis of PROTACs inspired by the structure of molecules previously patented by our team, in biology for the in vitro determination of the degradation of the tau protein by techniques such as Western blotting, and in animal behavior to evaluate the effectiveness of PROTACs on 3x mouse models.

Préciser le domaine de compétence dans la liste ci-dessous (2 choix possibles maximum – ne pas modifier les intitulés : ils sont imposés par certains sites web) :

Chimie

Santé, médecine humaine, vétérinaire

Mots clés :

Maladie d'Alzheimer, protéine Tau, PROTAC, réactions multicomposants