

THÈSE PRÉSENTÉE
POUR OBTENIR LE GRADE DE
DOCTEUR DE
L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES CHIMIQUES
SPÉCIALITÉ CHIMIE ORGANIQUE

Par Claire SOUM

**Conception, synthèse et évaluation de nouveaux édifices
supramoléculaires : dosages et diagnostics pour
l'angiogenèse tumorale**

Sous la direction de Jean GUILLON
et Thomas BERTHELOT

Soutenance prévue le 15 décembre 2014

Membres du jury :

M. SERVANT Laurent	Professeur à l'Université de Bordeaux	Président
M. SONNET Pascal	Professeur à l'Université de Picardie Jules Vernes	Rapporteur
M. VIDAL Michel	Professeur à l'Université Paris Descartes	Rapporteur
M. GUILLON Jean	Professeur à l'Université de Bordeaux	Directeur de thèse
M. BERTHELOT Thomas	Chargé de Recherche - HDR au CEA de Saclay	Co-Encadrant
Mme RONGA Luisa	Maître de Conférences à l'Université de Bordeaux	Invitée

Conception, synthèse et évaluation de nouveaux édifices supramoléculaires : dosages et diagnostics pour l'angiogenèse tumorale

Actuellement, il n'existe pas de techniques fiables pour la détection de marqueurs du cancer ou le suivi de l'administration de médicaments tels que les anticorps monoclonaux. Cette détection est essentielle pour réaliser un diagnostic précoce et ainsi améliorer le pronostic de survie des patients, et d'autre part adapter la posologie et un traitement personnalisé à chaque patient. L'objectif majeur de ce travail a été de concevoir et de développer des systèmes dits biocapteurs répondant à ces problématiques : d'une part, la détection et la quantification de l'activité des métalloprotéinases matricielles (MMP) en tant que nouvel outil de diagnostic de la progression et du développement tumoral; et d'autre part, le dosage d'un anticorps anti-VEGF, le bevacizumab, impliqué dans les biothérapies antiangiogéniques. La quantification de l'activité métalloprotéasique a été rendue possible grâce à la conception d'un biocapteur basé sur un édifice supramoléculaire. Celui-ci est constitué de substrats peptidiques fluorogéniques des MMP et d'une surface fonctionnalisée par des cyclodextrines. Une détection par fluorescence a alors permis d'évaluer l'efficacité et la spécificité de ce système à quantifier l'activité des MMP *in vitro* et *ex vivo* en conditions de biopsie tumorale. D'autre part, nous avons conçu des biocapteurs basés sur un mime peptidique du VEGF, permettant le dosage du bevacizumab. L'utilisation de ce mime en remplacement du VEGF humain a été démontrée, et plusieurs systèmes supramoléculaires fonctionnalisés par ce peptide ont été synthétisés, en vue de la conception d'une plateforme de détection régénérable des interactions peptide/protéine par transduction acoustique.

Mots clés : Angiogenèse tumorale, Métalloprotéinases matricielles, Facteur de croissance de l'endothélium vasculaire, Bevacizumab, Fonctionnalisation de surface, Edifices supramoléculaires, Cyclodextrines, Ondes acoustiques de surface.

Design, synthesis and evaluation of new supramolecular assemblies: quantification and diagnosis for tumoral angiogenesis

Nowadays, there are no reliable techniques for detecting biomarkers of cancer or for monitoring therapeutic drugs such as monoclonal antibodies in blood samples. This detection is essential in order to highlight the early onset of a disease prior to the appearance of clinical symptoms and therefore ensure a greater therapeutic effect, but also to provide a personalized treatment for each patient. The major goal of this thesis work was to design and develop platforms of detection called biosensors answering these problematics: on one hand, detection and monitoring of matrix metalloproteinases (MMP) activities as a new tool for the diagnosis of tumoral progression, and on the other hand, quantification of an anti-VEGF antibody named bevacizumab, involved in antiangiogenic therapies. Monitoring of MMP activities was made possible by the design of a biosensor based on a supramolecular assembly between fluorogenic substrates of MMP and cyclodextrins functionalized surface. Fluorescence detection has enabled to evaluate the efficacy and specificity of this system to quantify MMP activities *in vitro* and *ex vivo* in tumoral biopsy conditions. On the other hand, we have designed biosensors based on a cyclopeptide mimicking human VEGF for the monitoring of bevacizumab. The ability of this peptide to substitute the human protein has been demonstrated and several supramolecular assemblies functionalized by this peptide have been synthesized in order to create a regenerable biosensor screening peptide/protein interactions by acoustic transduction.

Keywords: Tumoral angiogenesis, Matrix Metalloproteinases, Vascular endothelium growth factor, Bevacizumab, Surface functionalization, Supramolecular assembly, Cyclodextrins, Surface acoustic wave.

Unité de recherche INSERM U869 ARNA / ex FRE 3396 CNRS

UFR des Sciences Pharmaceutiques, 146 rue Léo Saignat, 33076 Bordeaux Cedex