



La Rochelle  
Université

Offre de thèse – UMR LIENSs- La Rochelle Université

## **UTILISATION D'OLIGOSACCHARIDES MARINS EN NANOMÉDECINE CONTRE LE CANCER**

**Début thèse :** 1<sup>er</sup> Octobre 2021 (2021-2024) – Contrat doctoral d'établissement avec La Rochelle Université et l'inscription se fera au sein de l'école doctorale EUCLIDE (co-financement Région Nouvelle-Aquitaine/Ligue contre le Cancer)

**Laboratoire d'accueil :** UMR 7266 - CNRS - LIENSs – directeur : Pr. Olivier De Viron

**Équipe d'accueil :** Biotechnologies et Chimie des Bioressources pour la Santé (BCBS)

**Directeurs et encadrants de thèse :**

Directrice - Pr. Ingrid ARNAUDIN : 05.46.45.85.62 / [ingrid.fruitier@univ-lr.fr](mailto:ingrid.fruitier@univ-lr.fr)

Co-directeur - CRCN Hugo GROULT : 05.46.45.82.77 / [hugo.groult@univ-lr.fr](mailto:hugo.groult@univ-lr.fr)

**Candidature dès que possible :** les candidat.e.s doivent envoyer leur dossier de candidature à Ingrid Arnaudin ([ifruitie@univ-lr.fr](mailto:ifruitie@univ-lr.fr)) et Hugo GROULT ([hugo.groult@univ-lr.fr](mailto:hugo.groult@univ-lr.fr))

Le dossier de candidature doit comporter les documents suivants : CV, lettre de motivation, relevés de notes (L3, M1 et M2) et une lettre de recommandation d'une personne référente

### **Contexte scientifique du projet dans lequel s'insère le sujet de thèse**

La nanomédecine est espérée comme un progrès capital pour le futur de l'oncologie. Une part importante de ses recherches se consacre au développement de **nanoparticules (NP) multifonctionnelles** capables de **s'accumuler de manière préférentielle dans les tumeurs** pour la **vectorisation** contrôlée **d'un actif thérapeutique**, et/ou pour servir **d'outil diagnostique** dans l'imagerie clinique permettant un suivi personnalisé de la pathologie. De **nombreux obstacles restent néanmoins à franchir** pour améliorer la pleine expression de ces outils de haut potentiel dans la clinique. Dans ce contexte, l'équipe BCBS du laboratoire LIENSs travaille sur des **revêtements innovants d'oligosaccharides (OS) bioactifs d'origine naturelle associés à une nouvelle génération de nanoparticules d'oxyde de fer (ESIONP) pour la mise au point de traitements de thérapies ciblées et de médecine personnalisée contre le cancer.**

Ces revêtements OS, encore méconnus en nanomédecine, pourraient **répondre à trois des plus importants défis** décrits dans l'état de l'art actuel pour le **développement à succès de nanoparticules multifonctionnelles (NP)** que sont : i) **garantir une élimination rénale** pour s'affranchir des problèmes de toxicité issues d'une métabolisation endogène, ii) **interagir et réguler des biomarqueurs du microenvironnement tumoral**, privilégiés actuellement pour accroître l'accumulation ciblée car facilement accessibles et produire un effet bioactif et iii) assurer des **fonctions simultanées pour proposer des formulations simplifiées** facilitant les synthèses à l'échelle industrielle, un prérequis pour le transfert vers la clinique. Les ESIONP apporteront une **fonction diagnostique** comme **agent de contraste positif en IRM**, facilement **adaptable à l'imagerie nucléaire TEP** par dopage du noyau avec l'isotope <sup>64</sup>Cu, représentant ainsi des sondes « reportères » avancées. Cette fonction diagnostique pourra être mise à profit pour répondre au 4<sup>ème</sup> défi de développement des NP, celui de la **médecine prédictive**. Lorsqu'elles ne sont pas utilisées pour cette fonction, ces ESIONP peuvent produire un **2<sup>nd</sup> effet bioactif en support des OS**, grâce à leurs **pouvoir d'immunomodulation des macrophages** associés au tumeur pour assister à la réponse immunitaire.

L'ascendance de cette voie de recherche repose sur la pratique coutumière et éprouvée de l'utilisation de polysaccharides (PS) d'origine naturelle (*i.e.*, macromolécules brutes issues de l'extraction de ressources naturelles) dans la formulation de NP. En nanomédecine, **les PS sont principalement utilisés comme revêtements « charpentes » des NP**, car ils apportent une excellente stabilité colloïdale et bio-acceptabilité, facilitent la conjugaison ou l'encapsulation d'autres molécules de fonction spécifique et peuvent établir des systèmes de libération contrôlée. Par ailleurs, certains PS ont émergé comme ligand de ciblage pour améliorer l'accumulation de NP (ex : interaction avec les récepteurs lectines) et dans certains cas comme molécule thérapeutique à part entière dans la formulation. Néanmoins, leurs **activités biologiques très variées** qui accompagnent leurs **hauts poids moléculaires** ainsi que leur **complexité et hétérogénéité structurale** conduit à un sévère **manque de spécificité biologique de la NP**, avec une **réponse pharmacodynamique et pharmacocinétique difficiles à prédire**. De plus, du fait de leurs grandes tailles, l'inclusion de ces PS aboutit à des NP dont les tailles hydrodynamiques sont souvent supérieures au seuil de filtration du rein et dont **l'élimination se fait** en conséquence **par la voie hépatique**, plus défavorable. Par ailleurs, leurs nombreuses activités biologiques peuvent inclure des **propriétés délétères non souhaitées en oncologie ce qui limite les utilisations à un nombre restreint de type de PS parmi la grande variété existante, au détriment d'autres à fort potentiel**.

L'équipe BCBS est spécialisée dans la génération d'oligosaccharides (OS) préparés par des processus de dépolymérisation chimique ou enzymatique des PS natifs.[1,2] **La synthèse contrôlée de ces OS de bas poids moléculaire** permet d'obtenir des espèces avec des **bioactivités d'intérêts plus spécifiques et des activités indésirables restreintes**, promettant un **meilleur contrôle du comportement biologique de la NP**. Cela autorise aussi d'envisager **l'utilisation d'autres variétés de PS**, écartées à cause de **propriétés indésirables** dans leurs états natifs, mais qui sont **minimisées une fois les dérivés OS obtenus**.

Ces dernières années, l'équipe a travaillé particulièrement avec l'héparine. Dans un premier temps, elle a mis au point une méthode pour la préparation de nanoparticules d'oxyde de fer fonctionnalisées par des revêtements héparines (HEP-ESIONP). Elle a démontré que les HEP-ESIONP gardaient les mêmes propriétés biologiques intrinsèques de l'héparine (anticoagulant et anti-tumoral par la régulation de l'héparanase) et qu'elles étaient capables de produire *in vivo* un contraste positif en IRM [3]. L'équipe a ensuite réalisé une étude structure/fonction *in vivo* approfondie pour observer l'influence de la taille des oligosaccharides d'héparine (OS-HEP) sur la pharmacocinétique et l'accumulation tumorale des NP, en s'appuyant notamment sur des études de biodistributions par image nucléaire et des analyses protéomiques. Elle a mis en valeur des changements drastiques de comportement *in vivo* en fonction de la taille et identifier une longueur précise de revêtement OS qui garantit un bon temps de vie vasculaire, une élimination rénale prédominante et une légère accumulation tumorale [4].

## Objectifs du projet de thèse

Sur la base de ces tous derniers résultats, nous proposons un projet de thèse pour poursuivre le travail de recherche engagé sur HEP-ESIONP et d'élargir cette stratégie originale et innovante à d'autres familles de polysaccharides (en particulier d'origine marine comme le  $\lambda$ -carraghénane et l'ulvane). Ce sujet s'inscrit dans la dynamique nouvelle de création à l'échelle régionale d'un réseau de recherche en cancérologie (R3 oncosphère) pour lequel le site rochelais est identifié. Il s'appuiera également sur une collaboration étroite avec le centre d'excellence en biomatériaux CICBiomagune (San-Sébastien, Espagne) dans lequel le/la doctorant.e sera amené à faire un ou plusieurs séjours académiques (possibilité de mention européenne).

**Dans ce contexte général, la personne recrutée aura pour objectif principal la synthèse et la caractérisation de nanoformulations à base d'oligosaccharides puis leurs évaluations *in vitro* et *in vivo* sur un modèle tumoral murin.**

## Approches utilisées, tâches confiées au/à la doctorant.e

Plus spécifiquement, la personne recrutée aura en charge :

**1) La synthèse et la purification des OS à partir de PS natifs (en particulier les héparines,  $\lambda$ -carraghénane et ulvane).** Elle utilisera pour cela des dépolymérisations enzymatiques ou chimiques avec des méthodes déjà publiées par l'équipe et le plateau technique de chromatographie.

**2) La synthèse et la caractérisation physicochimique de NP à base des OS préparés.** La synthèse utilisée sera dans un premier temps une méthode micro-onde déjà utilisée par l'équipe. Un des premiers travail du/de la candidat.e sera l'optimisation de cette méthode pour obtenir un procédé de chimie verte totalement éco-compatible. Les caractérisations des NP incluront en particulier : mesures de taille hydrodynamique (par DDL) et taille des noyaux (par MET), mesures de la charge de surface (par potentiel-zeta), mesures de concentration des NP et de la quantité d'OS greffés, mesures ATG, spectroscopie IR, et mesures magnétiques. Des premières caractérisations *in vitro* d'activités biologiques seront également menées (tests colorimétriques ou de fluorescence pour caractériser des activités enzymatiques).

**3) Réaliser des études structure/fonction de l'influence de la taille et/ou d'une modulation de charge des revêtement OS sur la pharmacocinétique des NP.** Pour cela, il utilisera des OS de tailles différentes (en contrôlant le temps de dépolymérisation) et il intégrera aux nanoformulations des fractions mineures (< 10%) d'OS de chitosan, un sucre naturel chargé positivement. L'évaluation du temps de vie vasculaire, de l'accumulation tumorale et des voies d'élimination se feront grâce à des expériences *in vivo* sur souris en utilisant les sondes reportères (intégrant des radioisotopes) en partenariat avec le CICBiomagune (San-Sébastien, Espagne).

**4) Valider leurs propriétés pharmacologiques anti-tumorales contre les carcinomes identifiés.** Le/la doctorant.e conduira des tests cellulaires *in vitro* des meilleurs candidats NP (cytotoxicité, migration, invasion, angiogénèse) sur des lignées de cancer mammaire (MDA-MB-231) et hépatique (Huh-7) pour évaluer les bioactivités issues des OS greffés. Il/elle conduira également des tests cellulaires *in vitro* (Dosage marqueurs inflammatoires, activité phagocytaire) sur des lignées de macrophages pour évaluer les bioactivités d'immunomodulation issus des noyaux d'oxyde de fer. Selon les avancées et les résultats, un essai thérapeutique sur modèle murin pourra être envisagé.

Il/elle aura en charge le traitement des données, leur analyse statistique, leur mise en forme et leur projection au regard de l'état de l'art de la bibliographie et leur publication.

Il /elle aura à communiquer ses résultats lors de manifestations scientifiques locales (conférence devant les bénévoles de la Ligue contre le Cancer) régionales (dans le cadre du réseau R3 oncosphère et des activités du canceropole Grand-sud-ouest) et internationales pour lui permettre de développer des compétences de communication scientifique.

### Compétences requises pour le/la candidat.e

Le/la candidat.e devra avoir une formation de **master2 recherche en chimie (spécialisation en chimie thérapeutique, chimie des biomolécules ou nanomatériaux) ou biochimie** avec une **bonne connaissance de l'étude des substances naturelles**. Une expérience ou bonne connaissance des nanosciences/nanotechnologies et/ou de la culture cellulaire représente un bon avantage pour la candidature. Il ou elle doit montrer un **intérêt pour la cancérologie**, les études en laboratoire et/ou sur animaux. La très bonne maîtrise de l'anglais et des bonnes bases en capacité rédactionnelle sont indispensables.

Rémunération : Contrat doctoral d'environ 1400 €/net

### Publications antérieures de l'équipe sur le projet

1. Poupard N, Groult H, Bodin J, et al. Production of heparin and  $\lambda$ -carrageenan anti-heparanase derivatives using a combination of physicochemical depolymerization and glycol splitting. *Carbohydr Polym.* 2017; 166: 156–65.
2. Groult H, Cousin R, Chot-Plassot C, et al.  $\lambda$ -Carrageenan Oligosaccharides of Distinct Anti-Heparanase and Anticoagulant Activities Inhibit MDA-MB-231 Breast Cancer Cell Migration. *Mar Drugs.* 2019; 17: 140.
3. Groult H, Poupard N, Herranz F, et al. Family of Bioactive Heparin-Coated Iron Oxide Nanoparticles with Positive Contrast in Magnetic Resonance Imaging for Specific Biomedical Applications. *Biomacromolecules.* 2017; 18: 3156–67.
4. Groult H, Carregal-Romero S, Castejón D, et al. Heparin length in the coating of extremely small iron oxide nanoparticles regulates *in vivo* theranostic applications. *Nanoscale.* 2021; 13: 842–61.