

RESUME

Ces deux dernières décennies ont vu l'émergence de multiples voies de nécroses régulées classifiées selon leurs inducteurs ou régulateurs moléculaires. Deux d'entre elles, la nécroptose et la ferroptose, sont particulièrement étudiées pour leurs implications dans des pathologies lourdes, aiguës et chroniques, sans traitement efficace à ce jour. La bonne compréhension des mécanismes moléculaires provoquant la mort par nécroptose ou ferroptose est primordiale afin de développer de nouvelles thérapies ciblées. En effet, l'identification des acteurs moléculaires impliqués dans ces voies de mort permettra de définir des cibles d'intérêts pharmacologiques et ainsi rechercher et optimiser de nouveaux candidats médicaments. L'activation simultanée de ces nécroses régulées étant retrouvée dans un certain nombre de pathologies communes, le développement d'inhibiteurs multi-cibles (démarche de polypharmacologie) est une nouvelle piste de recherche. En effet, en ciblant plusieurs formes de nécroses régulées avec une même molécule, l'effet bénéfique serait grandement amélioré comme cela a déjà été observé avec des anticancéreux multi-cibles. La société SeaBeLife Biotech, partenaire de ce travail de thèse CIFRE, développe des inhibiteurs de nécroptose, de ferroptose mais aussi des doubles inhibiteurs (ou « dual », i.e. pouvant inhiber les deux voies de mort simultanément).

Les objectifs de ce travail de thèse étaient (i) d'étudier les effets cellulaires des inhibiteurs de nécroptose et ferroptose développés en collaboration entre la station biologique de Roscoff, les universités de Lyon et Rennes et la société SeaBeLife Biotech, (ii) de mettre en évidence les cibles cellulaires de ces molécules afin d'affiner la compréhension de leur mécanisme d'action et (iii) de proposer de nouveaux candidats médicaments qui seraient développés par SeaBeLife Biotech. Les travaux ont été menés sur deux molécules pionnières de SeaBeLife, appartenant à des familles chimiques distinctes, et présentant une dualité d'inhibition de nécroptose et de ferroptose. La suite des études s'est concentrée sur une molécule en particulier, SBL01, un dérivé de 7-azaindole, qui est le produit SeaBeLife Biotech le plus avancé dans son développement. SBL01 va prochainement entrer en phase préclinique réglementaire. L'étude des cibles de SBL01 s'est effectuée par criblage inverse à l'aide de petites molécules fonctionnalisées et greffées sur des matrices solides. Cette chromatographie d'affinité a permis de purifier et d'identifier une nouvelle cible d'intérêt de SBL01.

ABSTRACT

Since the mid-2000s, other non-apoptotic pathways of regulated cell death have been identified; these manifest the phenotypic features of necrotic death. These pathways are classified according to the molecular regulators involved in each. Two of these pathways, known as necroptosis and ferroptosis, are being extensively studied because of their imputed roles in severe acute and chronic pathologies for which there are currently no effective treatments. Understanding the molecular mechanisms driving necroptosis and ferroptosis is crucial for the development of new targeted therapies. Indeed, identifying the molecular players involved in these cell death pathways will lead to the identification of novel pharmacological targets and subsequent screening for therapeutic drugs. Moreover, as the coactivation of these regulated necrotic pathways occurs in a number of common pathologies, the development of multi-target inhibitors (that is, a polypharmacological strategy) is a path-breaking avenue of research. Indeed, targeting two or more regulated necrosis pathways with a single molecule would be expected to be markedly more effective than targeting a single pathway. SeaBeLife Biotech, the industrial partner of this CIFRE thesis, is developing necroptosis and ferroptosis inhibitors, as well as first-in-class dual inhibitors (i.e. those that inhibit both necrotic cell death pathways simultaneously).

The aims of this thesis work were (i) to study the cellular effects of necroptosis and ferroptosis inhibitors developed in a collaboration among the Roscoff Biological Station, the universities of Lyon and Rennes, and SeaBeLife Biotech; (ii) to identify the cellular targets of these molecules in order to refine our understanding of their mechanism of action; and (iii) to propose new drug candidates to be developed by SeaBeLife Biotech. Work was conducted on the study of two of SeaBeLife's pioneering molecules, belonging to distinct chemical families, and featuring dual inhibition of necroptosis and ferroptosis. Further studies focused on one molecule, the 7-azaindole derivative SBL01, which is SeaBeLife Biotech's most advanced product. SBL01 will shortly enter the regulatory pre-clinical phase of testing. SBL01 targets were investigated by reverse screening using small molecules functionally derivatized grafted onto solid matrices. These matrices were used as affinity chromatography ligands, in order to purify and identify a new SBL01 target of interest.