

FICHE SUJET DE THESE

Sujet N° (à remplir par l'ED) :	FINANCEMENT : <input type="checkbox"/> Demandé <input checked="" type="checkbox"/> Acquis	Origine du financement : -50% contrat doctoral Nantes Université 2024 - 50% AgroParisTech Innovation
Titre de la thèse : Glycosylation enzymatique contrôlée de flavonoïdes : étude de leurs activités biologiques.		3 mots-clés : antioxydants, régiosélectivité, ingénierie enzymatique
Unité/équipe encadrante : US2B UMR CNRS 6286 / équipe Ingénierie moléculaire et Glycobiologie		
Directeur de thèse : Pr Corinne MIRAL		N° de tél : 02 51 12 57 31 Mail : corinne.miral@univ-nantes.fr
<p><u>Contexte socioéconomique et scientifique :</u></p> <p>D'origine naturelle, les flavonoïdes sont de puissants antioxydants. Ces métabolites secondaires, naturellement présents en abondance chez les végétaux, présentent un intérêt majeur avec des applications dans les domaines pharmaceutique, nutraceutique et cosmétique. Dans les produits cosmétiques, les flavonoïdes sont principalement utilisés pour leurs actions antioxydantes et apaisantes. Néanmoins, leurs propriétés multi-actives sont loin d'être pleinement exploitées. Dans la nature, les flavonoïdes sont présents sous forme de glycosides (parfois appelés bioflavonoïdes). Ces glycosides peuvent être hydrolysés par voie enzymatique, mais on manque de données concernant les processus mis en jeu dans la peau. La modulation et le contrôle de la glycosylation des flavonoïdes sont donc essentiels afin d'augmenter leurs potentialités.</p> <p>Ce projet de thèse pluridisciplinaire s'inscrit dans le cadre de l'intérêt convergent de deux acteurs avec des expertises complémentaires, le laboratoire US2B de Nantes Université et la Chaire de Cosmétologie d'AgroParisTech Innovation. Il a pour finalité la glycosylation « à façon » de flavonoïdes cibles par des approches de chimie verte en utilisant des enzymes spécifiques (sucrose phosphorylase, glucuronidase, glycosidase) dans l'objectif, à terme, de proposer de nouveaux actifs cosmétologiques à destination industrielle. La stratégie repose sur la combinaison d'approches complémentaires, théoriques et expérimentales, pour prédire et contrôler la régiosélectivité de la glycosylation de ces polyphénols. La mise en œuvre de tels procédés permettra de développer une boîte à outils enzymatiques pour la synthèse de bioflavonoïdes originaux avec des solubilité et biodisponibilité améliorées notamment pour des applications cosmétiques. L'impact de la stéréochimie de liaison, du type de résidu saccharidique introduit et de la position de la glycosylation sera étudié en vue de corrélérer les activités biologiques observées aux structures des flavonoïdes glycosylés (étude de la relation structure-activité) et de définir les règles les régissant.</p>		
<p><u>Hypothèses et questions posées (env. 8 lignes) :</u></p> <p>Notre hypothèse de travail est que le nombre, la position et le type de résidus saccharidiques présents sur les flavonoïdes ont une influence sur leur bioactivité. Dans ce contexte, il s'agira de produire et caractériser de nouvelles enzymes pour la glycosylation régiosélective de polyphénols cibles afin de développer de nouveaux composés aux propriétés biologiques contrôlées et améliorées (exemple de la quercétine à droite pour lequel il a été démontré que la présence de glucose en position 3 (isoquercitrine) joue un rôle déterminant dans les propriétés de ce composé).</p> <div data-bbox="933 1182 1484 1411" style="text-align: center;"> </div> <p>Les enjeux de la glycosylation enzymatique des flavonoïdes sont les suivants : un système enzymatique adapté et adaptable, l'accès à un donneur de sucre peu cher, une régiosélectivité de couplage contrôlée et des rendements enzymatiques élevés. La question du contrôle de la régiosélectivité de la glycosylation enzymatique des flavonoïdes cibles est primordiale. Pour le contrôle de la régiosélectivité, nous nous appuyons sur l'hypothèse que la régiosélectivité dépend, de l'orientation du substrat flavonoïde accepteur dans le site catalytique après formation du glucosyl-enzyme et de la réactivité des groupements hydroxyles de l'accepteur.</p>		
<p><u>Grandes étapes de la thèse (env. 12 lignes) :</u></p> <p>Le projet de thèse peut être découpé en trois grandes étapes :</p> <p>1. Production d'une librairie d'enzymes Les enzymes préalablement identifiées <i>in-silico</i> seront produites et caractérisées expérimentalement par des approches de biologie moléculaire, biochimie et enzymologie. L'activité des enzymes sera ensuite déterminée par des études colorimétriques et chromatographiques.</p> <p>2 : Synthèse enzymatique et caractérisation des flavonoïdes fonctionnalisés La capacité des enzymes produites à glycosyler les flavonoïdes cibles sera étudiée. Les réactions de synthèse enzymatique seront menées <i>in vitro</i>. L'analyse structurale exhaustive des produits synthétisés (flavonoïdes glycosylés) et l'étude de la régioisomérisation reposera sur les méthodes de référence pour ces classes de composés à savoir principalement l'électrophorèse capillaire, l'HPLC analytique ou les chromatographies couplées LC-MS et LC-UV-DEDL. Les flavonoïdes fonctionnalisés seront ensuite purifiés par HPLC préparative et caractérisés par spectrométrie de masse (SM) et résonance magnétique nucléaire (RMN).</p> <p>3 : Etude de l'activité des flavonoïdes fonctionnalisés obtenus Des investigations seront menées sur les principaux types de cellules cutanées : kératinocytes, mélanocytes et fibroblastes. Après détermination des concentrations cytotoxiques de chaque flavonoïde lorsqu'il est appliqué sur chaque type cellulaire, seules les concentrations inférieures seront explorées à la recherche d'effets biologiques incluant par exemple la prolifération, la pigmentation, les propriétés anti-inflammatoires,</p>		

antioxydantes, ou encore la synthèse et la dégradation du collagène. En fonction des résultats observés, d'autres expériences complémentaires seront menées pour affiner et confirmer les activités biologiques. Un panel d'expérimentations assez large est actuellement disponible à la Chaire de cosmétologie d'AgroParisTech pour éclairer les processus biologiques cutanés.

Compétences scientifiques et techniques requises par le candidat (2 lignes) :

La candidate ou le candidat devra idéalement posséder des compétences en synthèse enzymatique, chimie analytique et biochimie.

3 publications de l'équipe d'accueil relatives au domaine (5 dernières années) :

P1. Goux G., Demonceaux M., Hendrickx J., Solleux S., Lormeau E., Fredslund F., Teze D., Offmann B., **André-Miral C.**, Sucrose phosphorylase from *Alteromonas mediterranea*: structural insight into the regioselective α -glucosylation of (+)-catechin, *Biochimie*, 221, 13-19 (2024)
doi.org/10.1016/j.biochi.2024.01.004

P2. Demonceaux M., Goux G., Hendrickx J., Solleux S., Cadet F., Lormeau E., Offmann B., **André-Miral C.** Regioselective glucosylation of (+)-catechin using a new variant of sucrose phosphorylase from *Bifidobacterium adolescentis*, *Organic & Biomolecular Chemistry*, 21, 2307-2311(2023) doi.org/10.1039/D3OB00191A

P3. Demonceaux M., Goux G., Schimith L.E., Goulart Dos Santos M., Hendrickx J., Offmann B., **André-Miral C.**, Enzymatic synthesis, characterization and molecular docking of a new functionalized polyphenol: Resveratrol-3,4'- α -diglucoside, *Results in Chemistry*, 5 (2023)
doi.org/10.1016/j.rechem.2023.100956

Collaborations nationales et internationales :

Les propriétés biologiques des flavonoïdes glycosylés synthétisés au cours de la thèse seront étudiées via plusieurs collaborations :

- Les propriétés neuroprotectrices seront évaluées *in cellulo* et *in vivo* (modèle Zebra Fish) dans le cadre d'un partenariat avec l'Institut des Sciences Biologiques (Université Fédérale de Rio Grande, Brésil)
- Les propriétés anticancéreuses seront étudiées en partenariat avec l'Institut de Cancérologie de l'Ouest (ICO, Nantes)
- Les propriétés anti-infectieuses (HIV-1 & SARS-COV-2) seront étudiées en partenariat avec le Laboratoire de Microbiologie Fondamentale et Pathogénicité (Université de Bordeaux)