

CL5

La lutte antivirale :
petites molécules & grands effets !

Book of Abstract

LA LUTTE ANTIVIRALE : PETITES MOLÉCULES ET GRANDS EFFETS

8h30	Accueil
8h50	Séance inaugurale
8h55	Conférence Plénière 1 Risque zoonotique, voire épidémique et pandémique associé aux virus influenza aviaires Nadia Haddad, professeur, UMR BIPAR, École nationale vétérinaire d'Alfort, Maisons Alfort
9h35	Nanofitins: A Scalable and Effective Therapeutic Platform for Emerging Viral Outbreaks Mathieu Cinier, directeur scientifique Affilogic, Nantes
9h50	Combination with host-targeted inhibitors enhances antiviral activity and resistance barrier of direct acting antivirals against Influenza A virus and SARS-CoV-2 Andrés Pizzorno, chercheur INSERM, CIRI, Team VirPath, Univ. Claude Bernard Lyon 1, ENS de Lyon
10h05	Design and synthesis of chalcones with anti-Herpesviridae activity François-Xavier Toublet, MCF Univ. Limoges, LABCiS, UR 22722, Limoges
10h20	4 « Flash » communications de 2 min par poster FC : P1 – P3 – P5 – P6
10h30	Pause-Café & Session Poster
10h55	Conférence Plénière 2 Étapes de la découverte d'Édurant (rilpivirine – TMC278) pour le traitement du VIH-1 Jérôme Guillemont, directeur scientifique NOVALIX
11h30	Adaptation de l'approche LIBRA-seq/BEAM aux particules entières du polyomavirus BK pour l'identification d'anticorps monoclonaux humains à large spectre Sarah Marchand, doctorante, CR2TI, INSERM, CHU Nantes, Service virologie, Nantes Université, Nantes
11h45	Des virus pour lutter contre les infections virales Nguyet-Thanh Ha Duong, MCF Univ. Paris Cité, ITODYS – UMR 7086, Paris
12h	From Bemnifosbuvir to Its Active Triphosphate: An In-Depth Look at the Enzymes Involved in the Activation Pathway Karine Alvarez, DR CNRS, laboratoire AFMB, AMU, CNRS, UMR 7257, Marseille
12h15	6 « Flash » Communications de 2 min par poster FC : P9 – P10 – P11 – P12 – P16 – P17
12h30	Pause déjeuner et Session Poster
14h	Conférence Plénière 3 1,2,3-TRIAZOLYL-C-Riboside SRO-91 : structures and conformations Nadège Lubin-Germain, professeur, BioCis, CY Tech, Cergy-Pontoise
14h40	Résistance aux antiviraux : anticiper, détecter et évaluer Franck Touret, chaire CPJ, UMR IRD 190, Inserm 1207, « Unité des virus émergents » Aix-Marseille Université
14h55	Exploration of biodiversity for the discovery and design of antiviral cyclopeptides Sandy Desrat, chercheur CNRS, ICSN CNRS, Gif-sur-Yvette

15h10	Activité antivirale et simulation de dynamique moléculaire des composés du houblon contre le virus Oropouche (<i>Peribunyaviridae</i>, <i>Bunyavirales</i>) Tsvetelina Mandova Demetrio, Senior Scientist, Gilson SAS, Villiers-Le-Bel (95)
15h25	<i>In situ</i> and <i>in crystals</i> click chemistry, a potent tool to accelerate antiviral drug discovery against <i>Bunyavirales</i> Médéric Dégardin, doctorant, laboratoire AFMB, AMU, CNRS, UMR 7257, Marseille
15h40	Pause-Café & Session Poster
16h	Conférence Plénière 4 LAVR-289, a new orally bioavailable inhibitor of dsDNA viruses <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i> Franck Gallardo, CEO NeoVir Tech, Toulouse
16h40	Exploring the antiviral properties of hyperforin and hypericin from St. John's Wort against human coronaviruses Imelda Raczkiwicz, Post-Doc, CIIL, University of Lille, CHU, Institut Pasteur, INSERM U1019, UMR CNRS 9017
16h55	In vitro and pre-clinical screenings of antiviral compounds against SARS-CoV-2 reveal potent chemical inhibitors enhanced by combination and validation in vivo Delphine Muriaux, DR CNRS, CEMIPAI et IRIM CNRS, Montpellier
17h10	Synthèse de C-nucléosides originaux pour la lutte contre les virus (ré)émergents Axelle Berrou, doctorante, laboratoire CEISAM, Nantes Université, UMR CNRS 6230, Nantes
17h30	Clôture et fin de la journée

Organisé par :



Listing
des
posters :

- Identification et caractérisation de la lycorine comme un candidat antiviral contre le Virus Respiratoire Syncytial (FC : A. Pizzorno)
- Un continuum de modèles précliniques in vitro et in vivo d'infections virales respiratoires dédié à l'identification et la validation de composés innovants thérapeutiques
- Développement de modèles cellulaires pour le criblage à haut contenu de molécules antivirales (FC : A. Tarricone)
- Les plateformes lilloises ARIADNE-Criblage et ARIADNE-ADME
- Développement d’analogues de la ribavirine : des nucléosides polyazole-spirooxétanes comme nouvelles molécules à activité antivirale (FC : H. Chamereau)
- Synthesis and evaluation against RNA viruses of C5-substituted-(1,3-diyne)-uridine nucleoside prodrugs (FC : E. Saillard)
- LAVR-289, a broadly active acyclonucleoside phosphonate prodrug is highly effective against VZV and HCMV in humanized mouse models
- Synthèse d’analogues du LAVR-289, un nouvel acyclonucléoside phosphonate à large spectre antiviral
- Mise en place d’une plateforme d’identification de composés antiviraux à large spectre basée sur des cultures 2D/3D du système nerveux central (FC : F. Piumi)
- Inhibition of 3CLpro enzymes of four coronaviruses: from High Throughput Screening to positive confirmation (FC : P. Carré)
- Antiviral platform for evaluation of new therapeutics against native respiratory viruses and arboviruses (FC : E. Giraud)
- Activity of natural plant extracts on the replication of hepatitis E virus (HEV) (FC : C. Montpellier)
- Marseille Screening Center (MaSC)
- In situ and in crystals click chemistry, a potent tool to accelerate antiviral drug discovery against Bunyavirales
- Adaptation de l’approche LIBRA-seq/BEAM aux particules entières du polyomavirus BK pour l’identification d’anticorps monoclonaux humains à large spectre
- Synthèse d'hétérocycliques fonctionnalisés et leur évaluation sur la protéine STING et la voie de l'interféron (FC : M. Le Foll)
- A custom synthesis platform of organic compounds for chemistry-biology program (FC : A. Tessier)

Conférences Plénières

Risque zoonotique, voire épidémique et pandémique associé aux virus influenza aviaires

Nadia HADDAD

Anses, INRAE, École nationale vétérinaire d'Alfort, Laboratoire de Santé Animale, BIPAR, Maisons-Alfort, F-94700, France

La crainte d'une pandémie de « grippe aviaire », causée par des virus Influenza issus d'oiseaux, devient de plus en plus présente, même si les cas humains restent sporadiques en l'absence de transmission interhumaine détectée à ce jour et pour beaucoup d'entre eux bénins. Elle est notamment alimentée par la diffusion intercontinentale des virus en cause, qui tous appartiennent au clade 2.3.4.4b, ainsi que par la notification de plusieurs dizaines de cas humains aux USA depuis mars 2024 qui, lorsque la source d'infection est identifiée, sont survenus soit à partir de volailles domestiques, soit, de façon beaucoup plus inattendue, à partir de bovins. En parallèle, un nombre croissant de mammifères de différentes espèces sont atteints de formes graves. L'OMS a fait état du caractère préoccupant de la situation, même si le risque reste à ce jour considéré comme très faible pour la population générale.

Pour éclairer la situation présente et tenter d'estimer le risque épidémique voire pandémique, il est utile de se pencher sur plusieurs éléments :

- L'historique de la découverte du caractère zoonotique de virus Influenza aviaires, étroitement associée au lignage Gs/GD (ancêtre du clade 2.3.4.4b) : ce lignage a émergé en 1996 en Chine mais son potentiel zoonotique a été révélé en 1997 à Hong Kong en même temps que l'extrême virulence de ce virus pour les volailles domestiques (virus IAHP pour Influenza hautement pathogène), puis a réémergé en 2003 au Vietnam, conduisant à la formalisation du concept de santé globale (One Health),
- Les circonstances et la temporalité de la genèse de clades successifs, aboutissant *in fine* à l'émergence du clade 2.3.4.4b ainsi qu'à sa propagation intercontinentale, d'une ampleur jamais décrite jusqu'alors pour un virus Influenza aviaire, et à sa diffusion chez de nombreuses espèces d'oiseaux et de mammifères, avec des conséquences très graves cliniquement et écologiquement pour certaines d'entre elles. Il est important de noter aussi la situation aux USA, avec notamment l'atteinte de bovins laitiers et d'êtres humains,
- les facteurs adaptatifs qui pourraient être à l'œuvre.

Tous ces éléments confirment la nécessité d'utiliser une approche centrée sur le concept One Health pour enrayer ou a minima limiter les risques pour les espèces sensibles, dont l'espèce humaine.

Bibliographie¹² à insérer en note de bas de page SVP

¹ Aranda AJ, Aguilar-Tipacamú G, Perez DR, Bañuelos-Hernandez B *et al.* Emergence, migration and spreading of the high pathogenicity avian influenza virus H5NX of the Gs/Gd lineage into America. J Gen Virol. 2025 Apr;106(4):002081. doi: 10.1099/jgv.0.002081

¹ Krammer F, Hermann E, Rasmussen AL. Highly pathogenic avian influenza H5N1: history, current situation, and outlook. J Virol. 2025 Apr 15;99(4):e0220924. doi: 10.1128/jvi.02209-24

³ Liu M, van Kuppeveld FJ, de Haan CA, de Vries E. Gradual adaptation of animal influenza A viruses to human-type sialic acid receptors. Curr Opin Virol. 2023 Jun;60:101314. doi: 10.1016/j.coviro.2023.101314

Etapes de découvertes d'Edurant (rilpivirine – TMC278) pour le traitement du VIH-1

J. Guillemont

Affiliation : NOVALIX, Val de Reuil

L'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) reste un problème majeur de santé publique à travers le monde et est toujours considéré comme pandémie. Les transmissions continuent et ne faiblissent pas. Depuis plus de 40 ans, les chercheurs du monde entier travaillent sur la réplication du virus, ses mécanismes de résistances, sur la localisation de réservoirs qui l'aide à échapper au système immunitaire, aux traitements antiviraux et sur de potentiels vaccins. Aujourd'hui, ils proposent aux patients et au corps médical des traitements plus puissants, plus faciles à administrer avec une toxicité réduite.

Les antiviraux disponibles représentent 6 classes médicamenteuses : les inhibiteurs de fusion, les inhibiteurs antagonistes du corécepteur CCR5, les inhibiteurs nucléosidiques / nucléotidiques de la transcriptase inverse, les inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse, les inhibiteurs d'intégrase et les inhibiteurs de la protéase.

Notre discussion s'orientera autour de la transcriptase inverse du VIH-1 (TI VIH-1) qui est considérée comme l'une des cibles les plus efficaces pour la mise au point d'un traitement anti-VIH. Les inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse (INNTI) ont acquis une place importante en raison de leur puissance antivirale unique, de leur spécificité élevée et de leur faible toxicité dans les thérapies antirétrovirales combinées utilisées pour traiter les patients. Plus de 50 classes de composés structurellement divers ont été décrites dans la littérature comme étant des INNTI. Parmi elles, six INNTI ont été approuvées pour le traitement du VIH-1 : la névirapine (NVP), la delavirdine (DLV), l'efavirenz (EFV), l'étravirine (ETR), la rilpivirine (RPV) et la doravirine (DOR).

Nous nous concentrerons sur la rilpivirine (RPV-TMC278) avec son histoire, sa synthèse, ses caractéristiques pharmacologiques, sa barrière génétique contre le développement de résistances *in vitro*. Grâce à sa puissance et à une dose fixe journalière de 25mg, la rilpivirine entre dans plusieurs combo thérapies (Complera, Odefsey, Juluca). Plus récemment, une formulation injectable à longue durée d'action de la rilpivirine avec le cabotégravir (inhibiteur d'intégrase), a été approuvée en 2021 par l'Union Européenne et par les Etats-Unis pour une administration (bi)mensuelle dans le traitement de l'infection par le VIH-1.

1,2,3-TRIAZOLYL-C-Riboside SRO-91 : structures and conformations

Quentin Joachim^{1,2,3}, Nina Bozinovic^{1,2}, Bartosz Godlewski^{1,2}, Olivier Monasson^{1,2}, Florian Gallier^{1,2}, Angélique Ferry^{1,2,4}, Jacques Uziel^{1,2}, Nadege Lubin-Germain^{1,2}

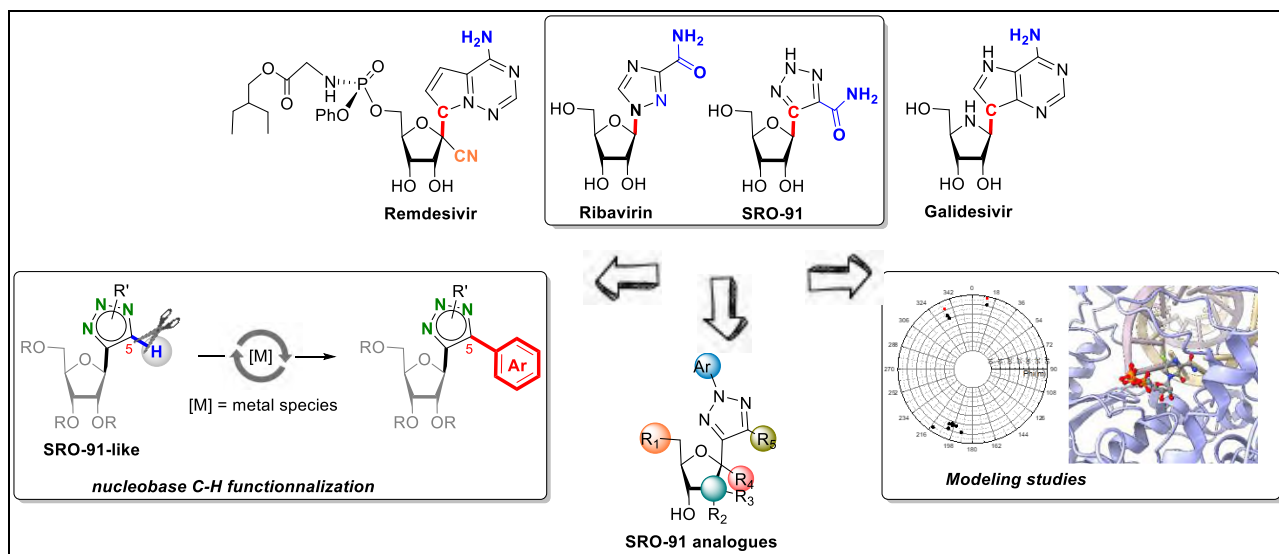
¹CY Cergy Paris Université, BioCIS, CNRS, 95000 Cergy-Pontoise cedex, France

²Université Paris-Saclay, BioCIS, CNRS, Orsay, France

³Université de Poitiers, Organic Synthesis Team, IC2MP, CNRS, 86073 Poitiers Cedex 9, France

⁴Institut Universitaire de France (IUF)

The emergence of viral infections (Zika, Dengue, Covid-19, Chikungunya, etc.) reactivates the need to find new broad-spectrum antivirals, in addition to vaccine approaches. In the arsenal of therapeutic tools, we are interested in C-nucleosides, small molecules analogous to natural nucleosides that exhibit metabolic stability. Their interest has been highlighted recently and illustrated by **Remdesivir** et **le Galidesivir**¹ As for us, we have established a development program for C-nucleoside analogs of **Ribavirin**, a non-natural 1,2,4-triazolylriboside presenting broad-spectrum antiviral activities. It has recently been in clinical development as an antitumor agent (ALL, CLL).² We have thus developed access to the **SRO-91** analogues, presenting a 1,2,3 triazole as a nucleobase linked by a carbon-carbon bond with ribose and a carboxamide as a pharmacophore.³ We then focused on the pharmacomodulation of ribose (quaternization at C2', cyanation at C1'), triazole (N-arylation, carboxamide). Some nucleosides have been derived into proTide prodrugs to improve their activity



Our more recent work deals with the functionalization of triazole through metal-catalyzed C-H activation (MCF), a methodology rarely used on nucleosides.⁴ Our strategy involves using a non-pre-functionalized **SRO-91** type structure, bearing a targeted C-H bond at position 5, to form artificial C-C bonds *via* MCF reactions. We present here the introduction of aryl groups through a palladium-catalyzed process.

Furthermore, since the biological activities are significantly different between **SRO-91** and **Ribavirin**, we are interested in the mechanisms of action, the conformational aspect of these compounds and their ability to interact with known targets.

¹ K. Temburnikar, K.L. Seley-Radtke *Beilstein J. Org. Chem.* **2018**, *14*, 772–785.

² J. Casaos, N.L. Gorelick, S. Huq, Y. Xia, R. Serra, R. Felder, T. Lott, R. E. Kast, I. Suk, H. Brem, B. Tyler, N. Skuli *Mol Cancer Ther* **2019**, *18*, 1185–1194.

³ (a) N. Sabat, E. Migianu-Griffoni, T. Tudela, M. Lecouvey, S. Kellouche, F. Carreiras, F. Gallier, J. Uziel, N. Lubin-Germain, *Eur. J. Med. Chem.* **2020**, *188*, 112009. (b) N. Sabat, A. Ouarti, E. Migianu-Griffoni, M. Lecouvey, O. Ferraris, F. Gallier, C. Peyrefitte, N. Lubin-Germain, J. Uziel, *Bioorganic Chemistry*, **2022**, *122*, 105723.

⁴ (a) Z. Ruan, D. Ghorai, G. Zannoni, L. Ackermann, *Chem. Commun.* **2017**, *53*, 9113. (b) Y. Liang, S.F. Wnuk, *Molecules* **2015**, *20*, 4874. (c) S. Allu, K.C.K. Swamy, *RSC Adv.* **2015**, *5*, 92045

LAVR-289, a new orally bioavailable inhibitor of dsDNA viruses *in vitro* and *in vivo*.

Elie Marcheteau^a, Estelle Mosca^{b,c}, Gaelle Frenois-Veyrat^{b,c}, Sandrine Kappler-Gratias^a, Laetitia Boutin^{b,c}, Sokunthea Top^a, Thomas Mathieu^d, Cyril Colas^d, Patrick Favetta^d, Tony Garnier^e, Peggy Barbe^f, Mathilde Keck^f, Daniel Gillet^f, Alicia Mas^g, Ali Alejo^h, Yinyi Yuⁱ, Ann Tollefson^j, Anna Cline-Smith^j, Karoly Toth^j, Getahun Abateⁱ, Vincent Roy^d, Janet Skerry^k, Kelly S Wetzel^k, Shamblin D Joshua^k, Golden W Joseph^k, Rekha G Panchal^k, José Fernandez^{l,m}, David Boutolleau^{l,m}, Nicolas Landreinⁿ, Harald Wodrichⁿ, Eric M Mucker^k, Rajini Mudhasani^k, Luigi A. Agrofiglio^d, Frederic Iseni^b and Franck Gallardo^a

Affiliation : ^a NeoVirTech SAS, Toulouse, France ^b Virology Unit, Microbiology and Infectious Diseases Department, Institut de Recherche Biomédicale des Armées (IRBA), Brétigny-sur-Orge, France, ^c National Reference Center for Orthopoxviruses (CNR Orthopoxvirus), Institut de Recherche Biomédicale des Armées Brétigny-sur-Orge, France, ^d Institute of Organic and Analytical Chemistry (ICOA UMR 7311), University of Orleans, CNRS, F-45067 Orléans, France, ^e Syntivia SAS, Toulouse, France, ^f Université Paris-Saclay, CEA, Département Médicaments et Technologies pour la Santé (DMTS), SIMoS, 91191 Gif-sur-Yvette, France, ^g INMIVET, Animal Health Department, School of Veterinary Medicine, Complutense University of Madrid, 28040 Madrid, Spain, ^h Centro de Investigación en Sanidad Animal (CISA); Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, 28130 Valdeolmos, Madrid, Spain, ⁱ Saint Louis University School of Medicine, Division of Infectious Diseases, Allergy and Immunology, MO 63110, Saint Louis, USA. ^j Saint Louis University, School of Medicine, Department of Molecular Microbiology and Immunology MO 63110, Saint Louis, USA. ^k United States Army Medical Research Institute of Infectious Diseases, Molecular Biology Division, MD 21702, Frederick, USA ^l Sorbonne Université, INSERM U1136, Pierre Louis Institute of Epidemiology and Public Health (IPLESP), THERAVIR team, Paris, France ^m AP-HP. Sorbonne Université, National Reference Center for Herpesviruses (associated laboratory), Virology Department, Pitié-Salpêtrière Hospital, Paris, France. ⁿ CNRS UMR 5234, Microbiologie Fondamentale et Pathogénicité, Université de Bordeaux, Bordeaux, France.

Viruses hijack cell replication machinery to ensure their own replication and propagation. Therefore, inhibiting virus replication without impacting cell biology remains challenging to date. Among all antivirals available on the market, a strong proportion targets viral polymerases but lead to side effects such as toxicity, lack of efficacy and apparition of resistance. For this, new generation of antiviral molecules are needed. We have developed a collection of autofluorescent ANCHORTM tagged viruses where infection and replication can be visualized in living cells. This virus collection is combined with high content microscopy approaches to validate the efficacy of antiviral products in pre-clinical phases. Over the past ten years, we have developed and patented a new generation of multiple pro-drug acyclonucleoside phosphonates. Our lead compound, LAVR-289, displayed nanomolar activity on the replication of all dsDNA viruses tested so far in the human, veterinary and defense markets. LAVR-289 activity is maintained on clinical isolates resistant to gold standards and resistance generation highlight a new specific domain in the viral polymerase. Mechanistic studies as shown that LAVR-289 blocks virus replication early in the viral infection cycle without preventing viral genome release and transcription activation. *In vivo* studies in mice and hamsters using different route of administration has shown the safety and absence of toxicity of the product, displaying pharmacokinetics profile compatible with once-a-day treatment regimen. Efficacy studies has shown that compound can trigger 100% survival in lethal challenge on two different viral models and is orally bioavailable. Of specific interest, delayed treatment several days post-infection is also efficient in preventing mortality. Altogether our results highlight the potency of LAVR-289 to become the next gold standard in the treatment of dsDNA virus infection in the clinic and its capacity to be stockpiled as a medical countermeasure in case of virus outbreak.

Communications Orales

Nanofitins: A Scalable and Effective Therapeutic Platform for Emerging Viral Outbreaks.

Sebastien Viollet¹, Perrine Jacquot¹, Marine Tanou¹, Léna Noël¹, Mathieu Cinier¹ and Olivier Kitten¹

Affiliation : 1 Affilogic SAS, Nantes France

Respiratory viral infectious diseases represent a persistent and evolving global health threat. The rapid mutation and adaptation of viruses, combined with their high transmissibility, particularly in the case of respiratory pathogens, facilitate rapid dissemination across populations¹. In an era of globalization, these factors significantly increase the risk of epidemics and pandemics, highlighting the urgent need for antiviral solutions that are not only effective but also stable, affordable, and deployable in resource-limited healthcare settings².

Historically, small-molecule antiviral drugs have played a central role in addressing these challenges due to their cost-effectiveness, stability, and scalability for global health applications. However, despite their broad accessibility, small molecules often face limitations in target selectivity and resistance development³. Conversely, monoclonal antibodies offer high specificity and potent neutralization⁴ but remain costly, difficult to formulate for non-parenteral administration, and largely inaccessible for rapid pandemic response.

The emergence of alternative protein scaffold technologies bridges this gap, combining the selectivity and efficacy of antibodies with the stability and cost-effectiveness of small molecules. Nanofitins are a novel class of affinity proteins that can be engineered entirely *in vitro* to generate high-affinity binders^{5,6} against viral targets⁷ in a rapid and cost-effective manner. Their intrinsic hyperstability allows for easy formulation and administration, including nebulization⁷, making them particularly suited for respiratory infections where local delivery offers significant therapeutic advantages. Additionally, their modularity enables the design of multispecific constructs with extended pan-specificity.

Here, we present the development of inhalable Nanofitins against SARS-CoV-2 and Influenza A virus, demonstrating their potent antiviral activity upon intranasal administration in infected mice. By leveraging their stability, affordability, and ease of formulation, Nanofitins represent a promising new class of antiviral therapeutics that align with global health priorities—offering an alternative to small molecules with the added benefit of enhanced specificity. This next-generation approach paves the way for novel therapeutic strategies capable of addressing emerging viral threats in both high- and low-resource healthcare settings.

¹Bibliography

1. Gray, G. C., Robie, E. R., Studstill, C. J. & Nunn, C. L. Mitigating future respiratory virus pandemics: New threats and approaches to consider. *Viruses* 13, 637 (2021).
2. He, Y., Liu, W. J., Jia, N., Richardson, S. & Huang, C. Viral respiratory infections in a rapidly changing climate: the need to prepare for the next pandemic. *EBioMedicine* 93, 104593 (2023).
3. Sargsyan, K., Mazmanian, K. & Lim, C. A strategy for evaluating potential antiviral resistance to small molecule drugs and application to SARS-CoV-2. *Scientific Reports* 2023 13:1 13, 1–12 (2023).
4. Pantaleo, G., Correia, B., Fenwick, C., Joo, V. S. & Perez, L. Antibodies to combat viral infections: development strategies and progress. *Nature Reviews Drug Discovery* 2022 21:9 21, 676–696 (2022).
5. Garlich, J. et al. Discovery of APL-1030, a Novel, High-Affinity Nanofitin Inhibitor of C3-Mediated Complement Activation. *Biomolecules* 12, 432 (2022).
6. Michot, N. et al. Albumin binding Nanofitins, a new scaffold to extend half-life of biologics - a case study with exenatide peptide. *Peptides (N.Y.)* 152, 170760 (2022).
7. Viollet, S. et al. Inhalable Nanofitin demonstrates high neutralization of SARS-CoV-2 virus via direct application in respiratory tract. *Mol Ther* 31, 2861–2871 (2023).

Combination with host-targeted inhibitors enhances antiviral activity and resistance barrier of direct acting antivirals against Influenza A virus and SARS-CoV-2

Blandine Padey^{1#}, Clément Droillard^{1,2,3#}, Victoria Dulière^{1,2,3}, Julien Fouret^{1,2,3,4}, Claire Nicolas de Lamballerie¹, Cédrine Milesi^{1,2}, Emilie Laurent^{1,3,3}, Pauline Brun^{1,2,3}, Aurélien Traversier^{1,2,3}, Thomas Julien^{1,2,3}, Olivier Terrier¹, Manuel Rosa-Calatrava^{1,2,3,4,5*}, Andrés Pizzorno^{1,3*}

1-CIRI, Centre International de Recherche en Infectiologie, Team VirPath, Université de Lyon, Inserm, U1111, Université Claude Bernard Lyon 1, CNRS, UMR5308, ENS de Lyon, F-69007 Lyon, France.

2-Virnext, Faculté de Médecine RTH Laennec, Université Claude Bernard Lyon 1, Université de Lyon, 69008 Lyon, France.

3-International Research Laboratory RespiVir France - Canada, Centre de Recherche en Infectiologie, Faculté de Médecine RTH Laennec 69008 Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, Université de Lyon, INSERM, CNRS, ENS de Lyon, France, Centre Hospitalier Universitaire de Québec - Université Laval, QC G1V 4G2, Québec, Canada.

4-Nexomis, Faculté de Médecine RTH Laennec, Université Claude Bernard Lyon 1, Université de Lyon, Lyon, 69008, France.

5-Centre de Recherche en Infectiologie, Centre Hospitalier Universitaire de Québec, Université Laval, Québec, QC G1V 4G2, Canada.

Viral respiratory infections remain a major and recurrent public health threat. Among them, influenza viruses are responsible for ~500,000 deaths worldwide and a high economic burden. The recurrent threat of emerging zoonotic or pandemic viruses worsens this scenario, being SARS-CoV-2 and the millions of COVID-19 deaths the most recent example¹. The rapid evolution of circulating influenza and SARS-CoV-2 viruses allows the emergence and dissemination of variant strains carrying mutations resulting in suboptimal vaccine protection and/or reduced efficacy of current limited therapeutic arsenal². In this context, host-targeted approaches constitute a promising antiviral strategy aiming to achieve broad-spectrum activity and mitigate the emergence of viral resistance against classic direct acting antivirals^{3,4,5}.

Here, we demonstrated that diltiazem, a calcium channel blocker currently used to treat angor, induces an interferon (IFN)-stimulated gene expression profile characteristic of an antiviral cellular state mainly driven by IFN- λ . Using a combination of specific respiratory cell lines and the highly biologically relevant human airway epithelium model of viral infections, we demonstrated the broad-spectrum antiviral activity of diltiazem against Influenza A and SARS-CoV-2 viruses. As expected from a host-targeted antiviral, the inhibitory activity of diltiazem was maintained even against the PA I38T baloxavir-resistant influenza strain and several SARS-CoV-2 variants of concern. Most importantly, both diltiazem-baloxavir and diltiazem-molnupiravir combinations resulted in at least comparable but mostly superior and synergistic antiviral efficacy compared to the best of the two monotherapies, with the former also inhibiting or at least delaying the emergence of antiviral resistance to baloxavir. Overall, our results highlight the major interest in combining direct acting and host-targeted agents as a promising strategy against circulating and emerging viruses.

¹ World Health Organization (WHO), 2024. The top 10 causes of death. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>.

² Zumla, A. et al., 2016. Host-directed therapies for infectious diseases: current status, recent progress, and future prospects. *Lancet Infect. Dis.* 16, e47-63. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)00078-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)00078-5).

³ Pizzorno, A. et al., 2019. Repurposing of Drugs as Novel Influenza Inhibitors From Clinical Gene Expression Infection Signatures. *Front. Immunol.* 10. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00060>.

⁴ Pizzorno, A. et al., 2020. In vitro evaluation of antiviral activity of single and combined repurposable drugs against SARS-CoV-2. *Antiviral Res.* 181, 104878. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2020.104878>.

⁵ Pizzorno, A. et al., 2020. Characterization and Treatment of SARS-CoV-2 in Nasal and Bronchial Human Airway Epithelia. *Cell Rep. Med.* 1, 100059. <https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2020.100059>.

Design and synthesis of chalcones with anti-Herpesviridae activity

François-Xavier Toublet¹, Maeve-Carmen Malanda-Samba¹, Manon Rouge², Sébastien Hantz², Sophie Alain² and Christelle Pouget¹

Affiliation : 1- Univ. Limoges, LABC/S, UR 22722, Limoges, France, francois-xavier.toublet@unilim.fr;

2- Univ. Limoges, INSERM, CHU Limoges, RESINFIT, UMR 1092, Limoges, France

Flavonoids are natural compounds present in the plant kingdom and in our diet. They have numerous biological properties, including antioxidant, anti-infectious, anti-inflammatory and anticancer activities^{1,2}. They comprise several classes, including chalcones which are the biosynthetic source of other flavonoids. Our research focuses on the design of new antiviral agents, against Herpes simplex virus (HSV) and *Cytomegalovirus* (CMV), from a chalcone base scaffold (Figure 1).

Currently the treatment of herpesvirus infections primarily relies on viral polymerase inhibitors. These molecules can have adverse effects, and their use can also lead to the emergence of resistance mutations. The recent development of antivirals such as letermovir and maribavir against CMV, or pritelivir and amenamevir against HSV, provides avenues for research into the pharmacomodulation of chalcones by inhibiting other stages of the viral replication cycle.

Many studies on flavonoids and chalcones (natural and synthetic) have demonstrated their effectiveness against Herpesviruses (including CMV and HSV)^{3,4}. Thus, preliminary work carried out by the LABC/S team, in collaboration with the RESINFIT laboratory, enabled us to identify interesting groups on chalcone scaffold against the development of CMV⁵. Based on our previous results, tests involving the introduction of other substituents on the two aromatic rings are underway in order to identify key compounds that would be more active on HSV and/or CMV (Figure 1).

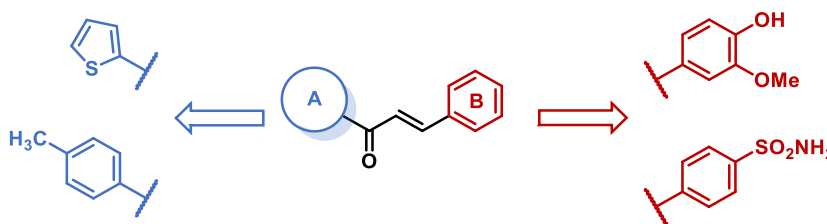


Figure 1. Pharmacomodulation of chalcones

Authors are greatly thankful to University of Limoges for funding this project.

¹ Letulle, C.; Toublet, F.-X. *et al.* Synthesis and Antiproliferative Effect of 3,4,5-Trimethoxylated Chalcones on Colorectal and Prostatic Cancer Cells. *Pharmaceuticals* **2024**, 17 (9), 1207. <https://doi.org/10.3390/ph17091207>

² Sun, Z.-G. *et al.* Recent Developments of Flavonoids with Various Activities. *Curr Top Med Chem* **2022**, 22 (4), 305–329. <https://doi.org/10.2174/1568026622666220117111858>

³ Cotin, S.; Calliste, C.-A. *et al.* Eight Flavonoids and Their Potential as Inhibitors of Human Cytomegalovirus Replication. *Antiviral Res.* **2012**, 96 (2), 181–186. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2012.09.010>

⁴ Patil, V.; Patil, S. A. *et al.* Exploration of (Hetero)Aryl Derived Thienylchalcones for Antiviral and Anticancer Activities. *Med. Chem.* **2019**, 15 (2), 150–161. <https://doi.org/10.2174/1573406414666180524074648>

⁵ Andouard, D.; Gueye, R. *et al.* Impact of New Cyclooxygenase 2 Inhibitors on Human Cytomegalovirus Replication in Vitro. *Antivir. Ther.* **2021**, 26 (6–8), 117–125. <https://doi.org/10.1177/13596535211064078>

Adaptation de l'approche LIBRA-seq/BEAM aux particules entières du polyomavirus BK pour l'identification d'anticorps monoclonaux humains à large spectre.

Listes des auteurs (authors) : Sarah Marchand^{1,2}, Manon Loirat¹, Laurence Delbos¹, Martin Braud¹, Lucas Brusselle¹, Cynthia Fourgeux¹, Agathe Trochel¹, Laetitia Gautreau Rolland¹, Xavier Saulquin¹, Jeremie Poschmann¹, Gilles Blancho¹, Céline Bressollette-Bodin^{1,2}, Dorian McIlroy¹

Affiliation : 1- Nantes Université, INSERM, Center for Research in Transplantation and Translational Immunology, UMR 1064, ITUN2, F-44000, Nantes, France ; 2- Nantes Université, CHU Nantes, Service de Virologie, F-44000, Nantes, France

Les données concernant les répertoires de lymphocytes B (BCRep) dirigés contre les virus non enveloppés, tels que le polyomavirus BK (BKPv), restent encore limitées. L'objectif de cette étude était donc de développer et valider une méthode de double marquage — combinant fluorescence et oligonucleotides — des particules pseudo-virales (VLPs), en vue d'appliquer l'approche LIBRA-seq/BEAM à ces virus (1).

Des VLPs doublement marquées ont été produites à partir de cellules de mammifères, en utilisant un système de couplage streptavidine-biotine reposant sur les réactifs BEAM de 10X Genomics. Leur caractérisation a été réalisée par SDS-PAGE et par microscopie électronique en contraste négatif. Les propriétés antigéniques ainsi que la capacité de liaison aux récepteurs de ces VLPs ont été validées par ELISA et cytométrie en flux, sur cellules 293TT et PBMCs.

Trois expériences de séquençage single cell (scRNA-seq) ont ensuite été menées sur des PBMCs provenant de 14 patients transplantés rénaux, marquées avec des VLPs BKPv (géotypes Ib2, II, III, IV) et des VLPs de polyomavirus murin. L'analyse des données scRNA-seq BEAM a permis d'identifier des groupes de lymphocytes B partageant des profils de reconnaissance antigénique similaires, grâce à un clustering basé sur l'algorithme Leiden et visualisé par UMAP.

Les complexes VLP-streptavidine-oligonucleotide ont conservé leurs propriétés antigéniques ainsi que leur capacité de liaison aux récepteurs viraux sur les cellules 293TT. Au total, les séquences appariées des chaînes légères et lourdes des récepteurs des lymphocytes B spécifiques du BKPv ont été obtenues pour 5 336 cellules. L'analyse de ces données a permis d'attribuer une spécificité antigénique à chaque cellule. La majorité des lymphocytes B montraient une spécificité dirigée vers un seul géotype, tandis que des sous-ensembles présentant une réactivité croisée ont été identifiés, notamment pour les couples glb2-gII, glb2-gIV, et le triplet glb2-gII-gIV. Certaines cellules affichaient même une réactivité croisée couvrant l'ensemble des quatre géotypes de VLP BKPv, suggérant que les anticorps qu'elles produisent pourraient posséder un potentiel neutralisant à large spectre.

En conclusion, nous avons démontré que des VLPs entières — et non uniquement des protéines virales isolées — peuvent être efficacement doublement marquées par fluorescence et oligonucleotides. Nous avons également développé une approche bioinformatique dédiée à l'analyse de ces données. Cette méthodologie est transposable à d'autres virus nus, et offre une solution robuste pour l'étude du répertoire B contre divers polyomavirus et papillomavirus à partir d'un unique échantillon de PBMC.

¹ Setliff I, Shiakolas AR, Pilewski KA, Murji AA, Mapengo RE, Janowska K, et al. High-Throughput Mapping of B Cell Receptor Sequences to Antigen Specificity. Cell. 2019 Dec;179(7):1636-1646.e15.

Des virus pour lutter contre les infections virales

Shivani Kessavdjee-Djouma,^{1,2} Haziq Naseer Khan,² Nicolas Desbois,¹ Claude P. Gros,¹ Nguyet-Thanh Ha Duong²

1- ICMUB - UMR CNRS 6302, Université Bourgogne Europe, 9 avenue Alain Savary - BP 47870 - 21078 DIJON cedex

2- ITODYS – UMR 7086, 15 rue Jean-Antoine de Baïf, 75013 Paris

Les virus des plantes sont de plus en plus utilisés en nanomédecine. Leurs capsides, composées de sous-unités protéiques auto-assemblées, sont stables et ont des formes et des tailles uniformes. Grâce à une modification génétique ou chimique des protéines de la capside, différents groupes fonctionnels sont présents à leurs surfaces externes et internes ce qui permet d'y greffer des molécules, notamment des principes actifs, afin d'utiliser ces virus comme nanovecteurs. Dans ce travail, nous nous sommes intéressés plus particulièrement à la variole du singe ou Mpox qui est une maladie infectieuse causée par un orthopoxvirus (caractérisée notamment par de sévères éruptions cutanées). Cette infection virale a été déclarée par l'OMS comme une urgence de santé publique de portée internationale.¹ L'annonce a été faite à deux reprises, la première fois en mai 2022 et la seconde en août 2024. Début mai 2022, des cas de Mpox non directement liés à des voyages en Afrique Centrale ou de l'Ouest, où le virus est présent, ont été rapportés en Europe et dans le monde. Depuis, la maladie fait l'objet d'une surveillance renforcée en France et en Europe.

Nous avons utilisé le virus du Tabac (TMV) comme système de délivrance de principes actifs antiviraux. Ce virus est sous forme de bâtonnets de 300 nm de long et 18 nm de diamètre. Sa capside permet de charger un grand nombre d'agents thérapeutiques dans sa cavité, augmentant ainsi leur concentration et leur solubilité. Nous avons démontré que des corroles, dont certains ont montré des activités antivirales très prometteuses contre la famille des orthopoxvirus,² peuvent être encapsulés dans la cavité des virus de plantes (Figure 1A) dans un rapport élevé, sans affecter l'intégrité structurale du virus. Grâce au **projet d'initiation COLORS de l'ANRS**, l'activité antivirale vis-à-vis du virus de la vaccine VACV (le mimétique expérimental d'orthopoxvirus de laboratoire) a pu être testée par la société **NeoVirTech**. Nous avons montré qu'en présence des corroles encapsulés, le taux d'infection diminue par rapport aux corroles libres. Différents corroles ont également été synthétisés afin de les greffer sur la surface externe du TMV de façon covalente (Figure 1B). Enfin, nous présenterons des études préliminaires montrant l'activité antivirale de nanoparticules d'oxyde de fer.

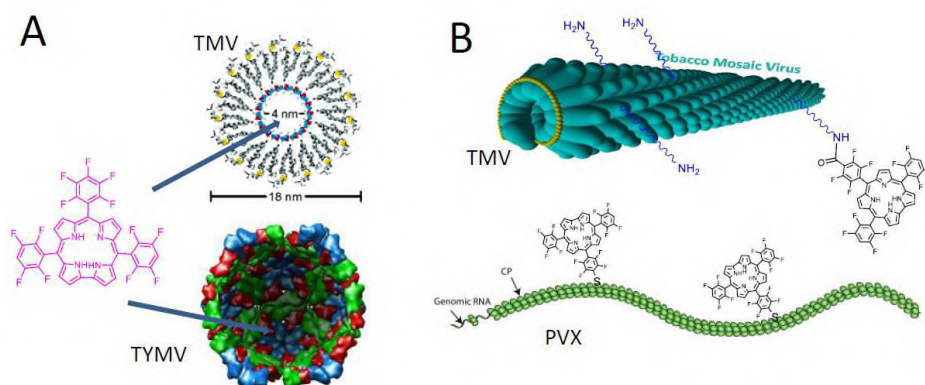


Figure 1. Stratégies pour la synthèse des nanovecteurs (A) par encapsulation (B) par greffage

¹ https://worldhealthorg.shinyapps.io/mpox_global/#3_Global_situation_update

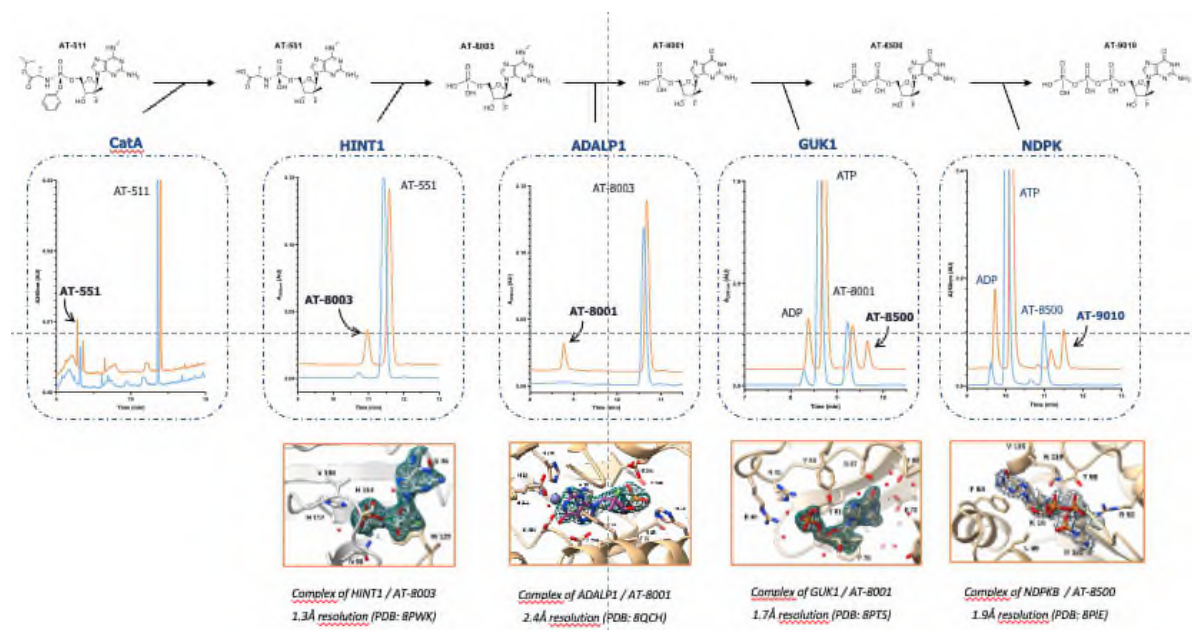
² S. Kappler-Gratias, et al., *ACS Infect. Dis.*, 2021, **7**, 2370–2382.

From Bemnifosbuvir to Its Active Triphosphate: An In-Depth Look at the Enzymes Involved in the Activation Pathway

Among the available antiviral therapies, nucleos(t)ides analogues (NAs) hold a place of choice, although certain clearly identified limitations are leading the scientific community to pursue efforts to improve their performance and expand their areas of application.

It is clear that today, the effective design of NA-based drugs requires an integrated vision from NA bioavailability to the inhibition of the viral target by its “activated 5'-triphosphate form”, which is responsible for the antiviral effect. Unfortunately, structural and functional knowledge of the cellular enzymes involved in the activation pathway of a given NA is rather fragmentary. The work presented here sheds comprehensive structural and functional light on the 5 cellular enzymes involved in the activation pathway of Bemnifosbuvir, a potent NA currently in clinical trials against several RNA viruses.

The tools developed for this work provide a framework for integrating the design of antiviral NAs, by confronting the requirements and constraints associated with enzymes along the activation chain.



The activation cascade of the broad-spectrum antiviral bemnifosbuvir characterized at atomic resolution. Aurélie Chazot, Claire Zimberger, Mikael Feracci, Adel Moussa, Steven Good, Jean-Pierre Sommadossi, Karine Alvarez, François Ferron et Bruno Canard. PLOS Biology, 27/08/2024. DOI : <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3002743>

Resistance aux antiviraux : anticiper, détecter et évaluer

Hawa Sophia Bouzidi¹, Xavier de Lamballerie¹, Raphaëlle Klitting¹ et Franck Touret¹

Affiliation : ¹UMR IRD 190, Inserm 1207 "Unité des Virus Émergents" Aix-Marseille Université – Université de Corse – Institut de Recherche pour le Développement – Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale – Institut de Recherche Biomédicale des Armées – Établissement Français du Sang – Institut Louis Malardé, Marseille, France franck.touret@univ-amu.fr

Il ne fait guère de doute que l'utilisation de molécules antivirales contre les virus émergents va s'intensifier dans les années à venir. Il est crucial de mettre en place dès maintenant des capacités d'étude, de suivi de l'activité antivirale et de la circulation de variants résistants, qu'ils soient naturels ou sélectionnés par l'usage des drogues. Dans deux études indépendantes, nous avons abordé cette problématique par deux approches distinctes :

i) dans une première étude, nous avons généré, en BSL-3 *in vitro*, des virus résistants à l'ensitrelvir¹, un inhibiteur de protéase en phase clinique. Nous avons obtenu une mutation d'intérêt : M49L-NSP5. Nous avons validé *in vitro* et *in vivo* la résistance induite par cette mutation avec virus répliatifs. La recherche de cette mutation dans les bases de données a permis de documenter une augmentation de sa prévalence au Japon, seul pays où l'ensitrelvir a été utilisé en population générale². Dans une deuxième étude ii), avec cette fois-ci la Dengue, nous avons détecté, grâce à la surveillance génomique du CNR, une mutation particulière dans la souche responsable de l'épidémie de 2023-2024 dans les Antilles françaises. Cette mutation, NS4B V91A, a déjà été décrite en réplicon comme induisant une résistance au Mosnodenvir/JNJ-1802, une molécule antivirale prometteuse pan-sérotipe/pan-génotype possédant une remarquable activité *in vitro* et *in vivo*³. Nous avons donc caractérisé la résistance des souches de l'épidémie au Mosnodenvir. Nous avons également validé l'effet de la mutation en l'introduisant par génétique inverse dans un autre génotype de DENV-2 ainsi que dans une DENV-3⁴. Ces deux études distinctes^{2,4} illustrent l'importance d'une approche globale ainsi que la complémentarité de l'approche en laboratoire couplée avec la surveillance génomique pour garantir la meilleure chance d'efficacité des traitements antiviraux, qu'ils soient administrés ou en cours d'évaluation.

Bibliographie¹²

¹. Sasaki M, Tabata K, Kishimoto M, Itakura Y, Kobayashi H, Ariizumi T, et al. S-217622, a SARS-CoV-2 main protease inhibitor, decreases viral load and ameliorates COVID-19 severity in hamsters. *Science Translational Medicine*. 3 nov 2022;15(679):eabq4064.

². Bouzidi HS, Driouich JS, Klitting R, Bernadin O, Piorkowski G, Amaral R, et al. Generation and evaluation of protease inhibitor-resistant SARS-CoV-2 strains. *Antiviral Research*. 1 févr 2024;222:105814.

³. Goethals O, Kaptein SJF, Kesteleyn B, Bonfanti JF, Van Wesenbeeck L, Bardiot D, et al. Blocking NS3–NS4B interaction inhibits dengue virus in non-human primates. *Nature*. mars 2023;615(7953):678-86.

⁴. Bouzidi HS, Sen S, Piorkowski G, Pezzi L, Ayhan N, Fontaine A, et al. Genomic surveillance reveals a dengue 2 virus epidemic lineage with a marked decrease in sensitivity to Mosnodenvir. *Nat Commun*. 9 oct 2024;15(1):8667.

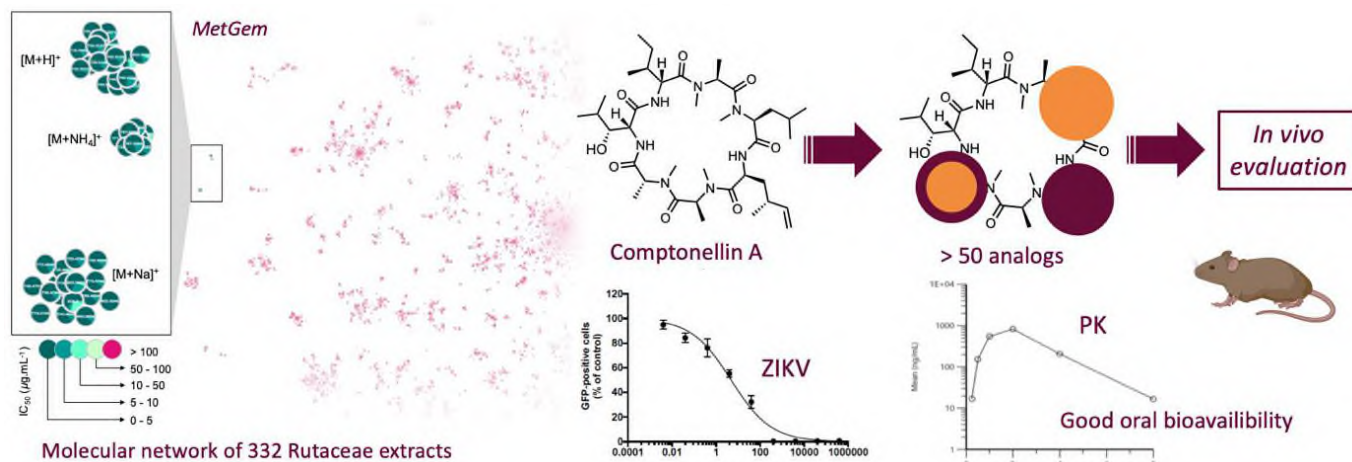
Exploration of biodiversity for the discovery and design of antiviral cyclopeptides

Sandy Desrat¹

¹ Université Paris-Saclay, CNRS, Institut de Chimie des Substances Naturelles, UPR 2301, 91198 Gif-sur-Yvette, France

Viral diseases represent a major public health concern. The emergence of new viruses, such as coronaviruses, and the re-emergence of pathogens like dengue¹ and Zika² viruses underline the urgent need to develop effective treatments. For decades, the chemical diversity of plant metabolites has generated significant interest, particularly in medicinal chemistry, but it requires the development and application of innovative approaches.

In this context, a screening of 824 plant extracts from the ICSN extract library was conducted to evaluate their ability to inhibit the Zika virus, in collaboration with C. El Kalamouni (UMR PIMIT). Among these, eight extracts from phylogenetically related species demonstrated remarkable inhibitory activities. These extracts were analyzed using LC-HRMS/MS, and their metabolite content was organized and visualized as molecular networks using MetGem.³ This analysis revealed a group of ions specific to the eight active extracts.⁴ Targeted isolation of these compounds led to the identification of eight novel cyclopeptides, named comptonellins.⁵ Some of these cyclopeptides exhibited remarkable antiviral activities, in the nanomolar range, and were active against several viruses. Supported by SATT Paris-Saclay, over 50 analogs were designed to identify a lead candidate that is orally bioavailable.



¹ <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>.

² <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/zika-virus>.

³ F. Olivon, N. Elie, G. Grelier, F. Roussi, M. Litaudon, D. Touboul, *Anal. Chem.* **2018**, *90*, 13900-13908. MetGem software for the generation of molecular networks based on t-SNE algorithm.

⁴ F. Olivon, P.-M. Allard, A. Koval, D. Righi, G. Genta-Jouve, J. Neyts, C. Apel, C. Pannecouque, L.-F. Nothias, X. Cachet, L. Marcourt, F. Roussi, V.L. Katanaev, D. Touboul, J.-L. Wolfender, M. Litaudon, *ACS Chem. Biol.* **2017**, *12*, 2644-2651. Bioactive natural products prioritization using massive multi-informational molecular networks.

⁵ C. Apel, C. El Kalamouni, M. Litaudon, J. Haddad, S. Desrat, F. Roussi, New ternatin-type cyclopeptides for use in therapy. **2023**, EP23305746, WO2024231530.

Activité antivirale et simulation de dynamique moléculaire des composés du houblon contre le virus Oropouche (*Peribunyaviridae*, *Bunyavirales*)

Tsvetelina Mandova Demetrio ^{1,2}, Marielena Vogel Saivish ^{3,4}, Gabriela de Lima Menezes ⁵, Katyanna Sales Bezerra ⁵, Umberto Laino Fulco ⁵, Roosevelt Alves da Silva ⁶, Fernando Batista Da Costa ¹, Maurício Lacerda Nogueira ^{3,7}

¹ AsterBioChem Research Team, School of Pharmaceutical Sciences of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Ribeirão Preto 14040-020, SP, Brazil

² Gilson Purification, 22 rue Bourseul, 56890 Saint Avé, France

³ Laboratórios de Pesquisas em Virologia, Departamento de Doenças Dermatológicas, Infecciosas e Parasitárias, Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, São José do Rio Preto 15090-000, SP, Brazil;

⁴ Brazilian Biosciences National Laboratory, Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM), Campinas 13083-100, SP, Brazil

⁵ Bioinformatics Multidisciplinary Environment, Programa de Pós Graduação em Bioinformática, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal 59078-400, RN, Brazil;

⁶ Núcleo Colaborativo de Biosistemas, Universidade Federal de Jataí, Jataí 75801-615, GO, Brazil;

⁷ Department of Pathology, University of Texas Medical Branch, Galveston, TX 77555, USA

Le virus Oropouche (OROV) est un membre de la famille *Peribunyaviridae* (ordre *Bunyavirales*) et est responsable d'une maladie fébrile de type dengue, transmise principalement par des moucherons piqueurs et des moustiques. Dans cette étude, nous avons exploré les acylphloroglucinols et la xanthohumol issus du houblon (*Humulus lupulus* L.) comme alternative prometteuse pour le développement de thérapies antivirales. L'évaluation du potentiel inhibiteur de ces composés sur le cycle viral de l'OROV a été réalisée selon deux approches complémentaires. La première repose sur des essais cellulaires post-inoculation afin d'évaluer l'inhibition des étapes tardives du cycle viral, telles que la traduction du génome, la réplication, l'assemblage des virions et leur libération à partir des cellules. La seconde approche s'appuie sur des méthodes *in silico* visant à analyser la capacité de ces composés à inhiber l'activité de la domaine endonucléase, essentielle à la transcription virale via le mécanisme de cap-snatching, c'est-à-dire la liaison et le clivage de l'ARN de la cellule hôte. Les résultats montrent que les acides bêta présentent le plus fort potentiel inhibiteur lors du test post-traitement, avec une EC₅₀ de 26,7 µg/mL. La xanthohumol a affiché la plus forte affinité pour l'endonucléase d'OROV, suivie de la colupulone et de la cohumulone. Toutefois, les analyses de docking et de MM/PBSA ont indiqué une affinité plus élevée pour la cohumulone. Enfin, parmi les trois ligands testés, les résidus Lys92 et Arg33 ont présenté les interactions les plus fortes avec la protéine.

Bibliographie¹

- ¹ Fernández-García, Y.; Ter Horst, S. Bassetto, M. Brancale, A. Neyts, J. Rogolino, D. Sechi, M. Carcelli, M. Günther, S. Rocha-Pereira, J. Diketo Acids Inhibit the Cap-Snatching Endonuclease of Several Bunyavirales. *Antivir. Res.* **2020**, 183, 104947.
- ¹ Mandova, T.; Saivish, M.V.; La Serra, L.; Nogueira, M.L.; Da Costa, F.B. Identification of Potential Antiviral Hops Compounds against Chikungunya Virus. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, 24, 3333.
- ³ Elliott, R.M. Orthobunyaviruses: Recent Genetic and Structural Insights. *Nat. Rev. Microbiol.* **2014**, 12, 673–685.
- ⁴ Olschewski, S.; Cusack, S.; Rosenthal, M. The Cap-Snatching Mechanism of Bunyaviruses. *Trends Microbiol.* **2020**, 28, 293–303.

In situ and *in crystals* click chemistry, a potent tool to accelerate antiviral drug discovery against *Bunyavirales*

Dégardin M.⁽¹⁾, Garlatti L.⁽¹⁾, Feracci M.⁽¹⁾, Canard B.⁽¹⁾, Ferron F.⁽¹⁾, Alvarez K.*⁽¹⁾

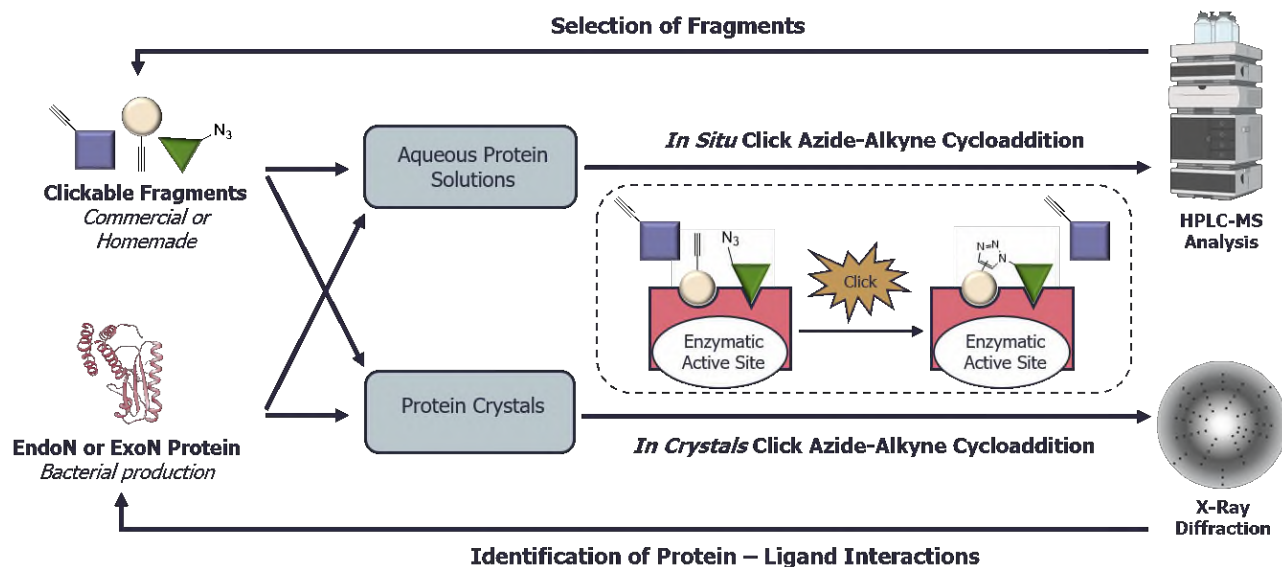
(1) AFMB, AMU, CNRS UMR 7257, 163 Avenue de Luminy, 13288 Marseille

Viruses from the *Bunyavirales* order currently are included in WHO's priority list since they represent a global public health threat. Despite their seriousness and the growing number of infections, therapeutic options available against these viruses are still limited. Developing effective and specific treatments against *Bunyavirales* is therefore a pressing issue.

The replication machinery of *Bunyavirales* viruses considerably relies on the Endonuclease activity (EndoN) of the L-protein, responsible for the host RNA cap-snatching via RNA hydrolysis¹. Additionally, the Exonuclease domain (ExoN) of the *Mammarenaviruses* N-protein - from the *Arenaviridae* family - is involved in the host innate immune system evasion². Both EndoN and ExoN are Mg²⁺ and/or Mn²⁺-dependent, with their respective enzymatic activities strictly relying on viral RNA chelation in the active sites. Thus, one strategy to design pan-genus antiviral medicines against *Bunyavirales* is to develop EndoN and/or ExoN inhibitors with specific metal-chelating properties.

Such inhibitors can hopefully be designed with the help of a rational Kinetic Target-Guided-Synthesis approach to accelerate antiviral candidates discovery, where the viral enzymes will assemble their own ligands from a pool of clickable fragments³. Here, we use azide- or alkyne-containing fragments to ensure their covalent assembly in aqueous media via click azide-alkyne cycloaddition. Each enzyme will act as a mold by catalyzing the cycloaddition between fragments showing affinity and specificity for its active site, by taking advantage of the metal-anchoring motif and one or more specificity motifs to reach specific pockets of the active site.

This auto-assembly strategy can be applied in aqueous solutions containing the enzyme (« *in situ* »)⁴ and enrichment can be monitored and validated by HPLC-MS. Additionally, the same strategy could be applied in protein crystals (« *in crystals* »)⁵, where the assembly of fragments in the enzymatic active site can be directly identified by X-ray diffraction.



¹ Olschewski, S. et al., *Trends in Microbiology*, **2020**, 28(4), 293-303

² Jian, X. et al., *Journal of Biological Chemistry*, **2013**, 288(23), 16949-16959

³ Bosc, D. et al., *Future Medicinal Chemistry*, **2016**, 8(4), 381-404

⁴ Manetsch, R. et al., *Journal of the American Chemical Society*, **2004**, 126(40), 12809-12818

⁵ Bourne, Y. et al., *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **2004**, 101(6), 1449-1454

Exploring the antiviral properties of hyperforin and hypericin from St. John's Wort against human coronaviruses.

Imelda Raczkiewicz¹, Céline Rivière², Peggy Bouquet¹, Lowiese Desmarets¹, Audrey Tarricone¹, Charline Camuzet¹, Jennifer Samaillie², Gabriel Lefèvre², Sevser Sahpaz², Jean Dubuisson¹, Sandrine Belouzard¹, Anne Goffard¹ and Karin Séron¹.

1- Center for Infection and Immunity of Lille (CIIL), University of Lille, CNRS, INSERM, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, U1019, UMR9017, Lille, France

2- Joint Research Unit 1158 BioEcoAgro, Univ. Lille, INRAE, Univ. Liège, UPJV, Junia, Univ. Artois, Univ. Littoral Côte d'Opale, ICV – Institut Charles Viollette, Villeneuve d'Ascq, France)

BACKGROUND: Despite the rich diversity of biological compounds found in plants, their antiviral capacity remains poorly understood. Our recent findings demonstrate that hyperforin, the major constituent of *Hypericum perforatum* L. (St. John's wort (SJW)), exhibits pan-coronavirus antiviral activity against human coronaviruses (HCoV)¹. The second major SJW molecule, hypericin, has already been described in the context of its activity against enveloped viruses. The objective of this project is to elucidate the mechanisms of action (MoA) of both hyperforin and hypericin against HCoV.

METHODS: Infection and time-of-addition assays were conducted with the compound added at varying time points during HCoV-229E and SARS-CoV-2 infections in Huh-7 and Vero81 cells, respectively. Viral entry assays were conducted in presence of the compounds by using particles pseudo-typed with the spike protein of HCoV-229E or SARS-CoV-2.

RESULTS AND PERSPECTIVES The results demonstrated that hypericin impeded the infection of both HCoV-229E and SARS-CoV-2. Pseudotyped virus experiments showed that hypericin inhibits viral entry by a direct action on viral particles in a light-dependent manner whereas hyperforin was observed to inhibit viral replication. Taken together our results indicate that the SJW extract contains two compounds, hyperforin and hypericin, active at distinct step of the viral infection cycle, replication and entry, respectively. Combination assays of hyperforin and hypericin are currently being conducted to ascertain if they exhibit a synergistic effect. Finally, to further elucidate hyperforin MoA, multi-omics assays and the selection of resistant mutants are being undertaken.

¹ Raczkiewicz I, et al. Front Microbiol. 2024 Aug 8;15:1443183. doi: 10.3389/fmicb.2024.1443183. PMID: 39176276

Consortium VIROCRIB: Criblage d'antiviraux

In vitro and pre-clinical screenings of antiviral compounds against SARS-CoV-2 reveal potent chemical inhibitors enhanced by combination and validation in vivo.

Authors

Nathalie Gros¹, Fanny Froment², Lisa Morichon^{1,4}, Sophia Rafasse¹, David Bracquemond¹, Capucine Guerry, Solène Mathieu, Manon Fabrègue, Hervé Luche, Yves Rouille³, Sandrine Belouzard³, John De Vos⁴, Ana Zarubica⁵, Jean Dubuisson³, Manuel Rosa Calatrava², Delphine Muriaux¹.

Affiliations

¹CEMIPAI & IRIM CNRS, Montpellier, ²VIRPATH, CIRI, Lyon, ³VMC, CIIL, Lille, ⁴IRMB, Montpellier, ⁵CIPHE, Marseille, France.

Abstract

The COVID-19 crisis has exposed our lack of preparedness to respond quickly to emerging infections with high pandemic potential. We cannot anticipate when and which coronavirus will emerge in the future and the development of effective therapies, other than vaccines, seems essential. Having access to immediately available antiviral drugs during the initial phase of an epidemic could play a major role in controlling the spread of a new virus and thus reduce the risk of evolution towards a pandemic phase. Here, we have characterized known antivirals that can be immediately used in the event of a new epidemic/pandemic linked to a new coronavirus. The complementary expertise of our VIROCRIB consortium was made optimal for the identification, characterization and in vitro and in vivo pre-clinical evaluations of these antivirals capable of fighting against SARS-CoV-2 and its variants. To do this, we have screened the MedChemExpress Antiviral library. We revealed 7 hits and 2 of which were confirmed in all infected cell line models available in our hands and in several preclinical models relevant to SARS-CoV-2 infection including primary bronchial epithelia (HAE) and airway epithelium derived from human stem cells (iALI). NGI-1 (O-glycosylation inhibitor) and Nelfinavir Mesylate (protease inhibitor) have been revealed and confirmed in these different cellular models with IC50/CCmax in the range of μM with low in vitro cytotoxicity. Further chemical modifications of these 2 drugs could lead to better second generation compounds in the nM range. Finally, these antiviral compounds were shown to be enhanced in combination to other known antiviral drugs and validated in an *in vivo* mice model infected by SARS-CoV-2. Considering the major risk of emergence of coronaviruses, this work validates the relevance of in vitro physiological pre-clinical models to test antivirals against respiratory viruses and reducing animal model testing to hit compounds.



Synthèse de C-nucléosides originaux pour la lutte contre les virus (ré)émergents

Axelle Berrou¹, Pierre Sierocki¹, Monique Mathé-Allainmat¹, Jacques Lebreton¹, Arnaud Tessier¹

Affiliation : 1- UMR CNRS 6230 CEISAM, 2 rue de la Houssinière – 44322 Nantes Cedex

Les 20 dernières années ont vu une hausse non négligeable des maladies virales, principalement causées par des virus à ARN. Un de ces exemples est la pandémie de CoViD-19 qui a touché la planète entière en 2019 : cet évènement a démontré le manque cruel de traitements antiviraux disponibles. Toutefois, un nucléotide a démontré de très bons résultats d'inhibition du SARS-CoV2 : le Remdesivir (**Figure 1-I**). En effet, son mode d'action implique la nécessité d'un groupement nitrile afin d'interagir avec la protéine cible.¹ À l'inverse, un antiviral à spectre large, principalement utilisé dans le traitement de l'Hépatite C mais non sans inconvénients n'a pas démontré de résultats probants contre le SARS-CoV2 : il s'agit de la Ribavirine (**Figure 1-I**). Bien que son activité antivirale soit déjà prouvée et étudiée, son mode d'action est encore flou et il est supposé que la fonction amide du triazole y joue un rôle clé.²

En 2021, un consortium national de chimistes a vu le jour : GAVO (« Génération d'Antiviraux Originaux »). Regroupant chimistes organiciens, théoriciens et biologistes, le but de ce consortium est l'ébauche, la synthèse et l'évaluation biologique d'analogues nucléosidiques originaux sur un panel de virus. Au sein du laboratoire CEISAM à Nantes, l'équipe Symbiose dispose d'une expertise dans la chimie des nucléosides et nucléotides.^{3,4} Les travaux présentés ici se concentrent sur la synthèse de C-nucléosides originaux combinant à la fois une fonction nitrile et un triazole décoré sur le squelette du ribose (**Figure 1-IIB**). Ces analogues ont pu être obtenus à partir de la ribonolactone benzylée **A** en 6 étapes successives incluant une cycloaddition [3+2] de Huisgen suivie d'une insertion du nitrile. Ces analogues nucléosidiques ont également pu être vectorisés sous forme de ProTides par le biais d'un groupement phosphoramidate (**Figure 1-IIC**).

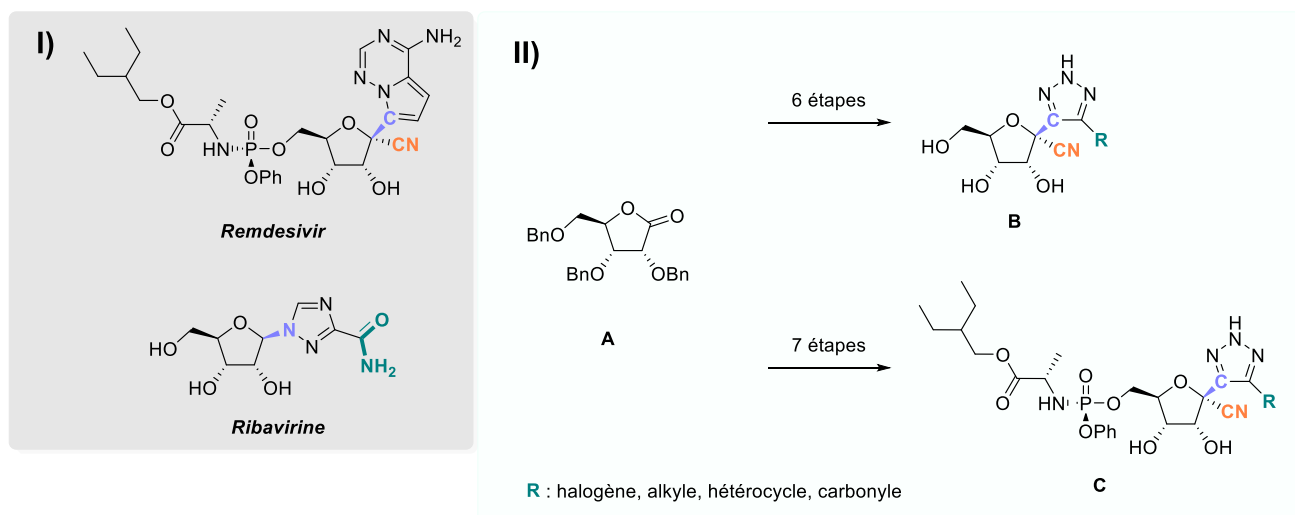


Figure 1 : I) Structures du Remdesivir et de la Ribavirine ; II) Squelettes originaux développés

¹ Byléhn F. et al, ACS Cent. Sci., 2021, 7, 164-174

² Khalili J. S. et al, J. Med. Virol., 2020, 92, 740-746

³ Arzel L. et al, J. Org. Chem., 2016, 81 (22), 10742-10758

⁴ Sierocki P. et al, Org. Biomol. Chem., 2022, 20, 2715-2728

Posters

Identification et caractérisation de la lycorine comme un candidat antiviral contre le Virus Respiratoire Syncytial

Rémi Pereira De Oliveira^{1,2,3#}, Maëlle Reitano^{1,2,3#}, Victoria Dulière^{1,2,3}, Blandine Padey^{1,2,3}, Marie Galloux⁴, Catalina Gonzales-Gomez^{1,2,3,5}, Julien Fouret^{1,2,3,5}, Jenna Fix⁴, Clément Droillard^{1,2,3}, Julia Dubois^{1,2,3}, Jean François Eleouet⁴, Andrés Pizzorno^{1,2,3*}, Manuel Rosa-Calatrava^{1,2,3,6*}

1-CIRI, Centre International de Recherche en Infectiologie, Team VirPath, Université de Lyon, Inserm, U1111, Université Claude Bernard Lyon 1, CNRS, UMR5308, ENS de Lyon, F-69007 Lyon, France.

2-International Research Laboratory RespiVir France - Canada, Centre de Recherche en Infectiologie, Faculté de Médecine RTH Laennec 69008 Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, Université de Lyon, INSERM, CNRS, ENS de Lyon, France, Centre Hospitalier Universitaire de Québec - Université Laval, QC G1V 4G2, Québec, Canada

3-Virnext, Faculté de Médecine RTH Laennec, Université Claude Bernard Lyon 1, Université de Lyon, 69008 Lyon, France.

4-Université Paris-Saclay, INRAE, UVSQ, VIM, Jouy-en-Josas, France

5-Nexomis, Faculté de Médecine RTH Laennec, Université Claude Bernard Lyon 1, Université de Lyon, 7 Rue Guillaume Paradin, 69008 Lyon, France

6-Centre de Recherche en Infectiologie, Centre Hospitalier Universitaire de Québec, Université Laval, Québec, QC G1V 4G2, Canada.

Le Virus Respiratoire Syncytial (VRS) est un pneumovirus responsable de la bronchiolite chez les enfants en bas âges¹ et de pneumonies sévères chez les personnes âgées². Malgré la récente mise sur le marché de deux vaccins et d'un nouvel anticorps prophylactique, comme pour d'autres virus respiratoires, notre arsenal préventif et thérapeutique reste limité, ce qui souligne la nécessité d'approches antivirales innovantes. Pour répondre à ce besoin, nous avons criblé notre banque de molécules privilégiées afin d'identifier des composés ayant une activité potentielle antivirale contre le VRS. La lycorine, un alcaloïde naturel aux propriétés pharmacologiques multiples³, est apparue comme une piste prometteuse. Nous avons évalué l'activité antivirale de la lycorine en lignées cellulaires A549 et Hep-2, ainsi que dans un modèle pré-clinique *in vitro* d'épithélium respiratoire humain reconstitué et cultivé en interphase air-liquide (MucilAir™, Epithelix), en utilisant des souches virales recombinantes et cliniques. Plusieurs autres tests fonctionnels ont également été réalisés dans le but d'explorer le Mode d'Action (MoA) de la lycorine.

Dans les modèles cellulaires A549 et Hep-2, la lycorine a démontré une activité antivirale avec une valeur d'IC₉₀ de 2.5 µM. En modèle MucilAir™, trois traitements post-infection à 24h d'intervalle (lycorine, 5 µM) permettent une réduction de 1000 fois du titre viral infectieux à 72h post-infection, sans impacter l'intégrité du tissu épithélial respiratoire. L'utilisation d'un système de « minigénome » a révélé une inhibition de 50 à 92% de l'activité de la polymérase virale par la lycorine à une concentration allant de 0.04 à 2.5 µM. Enfin, la caractérisation du profil d'expression de la nucléoprotéine (N) par immunofluorescence des cellules infectées par VRS a montré qu'un traitement à la lycorine (5µM) induisait une diminution significative du nombre et de la taille des usines virales caractéristiques du Virus Respiratoire Syncytial⁴.

Cette étude a identifié la lycorine comme un composé antiviral prometteur contre les infections par VRS et suggère un MoA sur l'activité de la polymérase et des usines virales. D'autres études visant à mieux caractériser ce MoA et à déterminer les propriétés de la lycorine en combinaison avec d'autres composés sont en cours de réalisation.

¹ Nair H, Nokes DJ, Gessner BD, Dherani M, Madhi SA, Singleton RJ, et al. Global burden of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in young children: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet*. 2010 May;375(9725):1545–55.

² Falsey AR, Walsh EE, Esser MT, Shoemaker K, Yu L, Griffin MP. Respiratory syncytial virus-associated illness in adults with advanced chronic obstructive pulmonary disease and/or congestive heart failure. *Journal of Medical Virology*. 2019 Jan;91(1):65–71.

³ Xiao H, Xu X, Du L, Li X, Zhao H, Wang Z, et al. Lycorine and organ protection: Review of its potential effects and molecular mechanisms. *Phytomedicine*. 2022 Sep 1;104:154266.

⁴ Rincheval V, Lelek M, Gault E, Bouillier C, Sitterlin D, Blouquit-Laye S, et al. Functional organization of cytoplasmic inclusion bodies in cells infected by respiratory syncytial virus. *Nat Commun*. 2017 Sep 15;8(1):563.

Un continuum de modèles précliniques *in vitro* et *in vivo* d'infections virales respiratoires dédié à l'identification et la validation de composés innovants thérapeutiques

Emilie Laurent^{1,2,3}, Clément Droillard^{1,2,3}, Pauline Brun^{1,2,3}, Rémi Pereira De Oliveira^{1,2,3}, Maëlle Reitano^{1,2,3}, Aurélien Traversier^{1,2,3}, Julia Dubois^{1,2,3}, Thomas Julien^{1,2,3}, Manuel Rosa-Calatrava^{1,2,3,4*}

1-CIRI, Centre International de Recherche en Infectiologie, Team VirPath, Université de Lyon, Inserm, U1111, Université Claude Bernard Lyon 1, CNRS, UMR5308, ENS de Lyon, F-69007 Lyon, France.

2-Virnext, Faculté de Médecine RTH Laennec, Université Claude Bernard Lyon 1, Université de Lyon, 69008 Lyon, France.

3-International Research Laboratory RespiVir France - Canada, Centre de Recherche en Infectiologie, Faculté de Médecine RTH Laennec 69008 Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, Université de Lyon, INSERM, CNRS, ENS de Lyon, France, Centre Hospitalier Universitaire de Québec - Université Laval, QC G1V 4G2, Québec, Canada.

4-Centre de Recherche en Infectiologie, Centre Hospitalier Universitaire de Québec, Université Laval, Québec, QC G1V 4G2, Canada.

La plateforme technologique Virnext de l'Université Claude Bernard Lyon 1 (UCBL1), créée au sein du laboratoire de recherche académique VirPath (CIRI U1111 INSERM, CNRS), offre une synergie d'expertises, de technologies, de logistiques BSL-2/BSL-3 et de modèles précliniques dédiée au développement et à l'évaluation de stratégies anti-infectieuses innovantes contre les virus respiratoires émergents et ré-émergents.

Grâce à sa virothèque étendue de souches virales cliniques circulantes (influenza^{1,2}, pneumovirus, coronavirus, SARS-CoV-2^{2,3,4}, adénovirus, rhinovirus) et de virus recombinants (gènes rapporteurs, mutations d'intérêt), la plateforme propose un continuum de services allant du criblage *in vitro* de composés dans différentes lignées cellulaires standards jusqu'à leur évaluation dans plusieurs modèles d'infection *in vivo*, visant à en caractériser l'efficacité antivirale, la cytotoxicité et le profil pharmacodynamique. Des modèles de co-infection³ (virus/virus ou virus/bactérie) et des approches de combinaison^{1,2,4} de composés (détermination statistique d'effet synergique, additif et antagoniste) ont également été développés.

Les modèles physiologiques d'infection *in vitro* sont basés sur des modèles physiologiques et calibrés d'épithéliums respiratoires humains d'origine nasale, bronchique et alvéolaire, cultivés à l'interface air-liquide (MucilAir™, SmallAir™, AlveolAir™, Epithelix)^{1,2,3,4}. Les modèles d'infection sont entièrement caractérisés en termes de cinétiques de répllication virale, d'intégrité tissulaire et de réponses immunes. Différents paramètres peuvent être monitorés, tels que la perméabilité épithéliale (mesure de la TEER), la fréquence de battement ciliaire, la charge virale par quantification génomique (qPCR) et dosage infectieux (PFU ou TCID50), la cytotoxicité induite (dosages LDH, MTS, mesure de la CC50), l'expression génique de l'hôte (RNAseq), ainsi que le profil d'expression cytokinique. Des virus recombinants exprimant des gènes rapporteurs (fluorescence ou luminescence) permettent également des mesures dynamiques de l'infection et une quantification en temps réel de l'effet des composés.

Pour les phases de validation *in vivo*, la plateforme a développé et calibré plusieurs modèles d'infection (souris¹, furet, hamster, primates non-humains) adaptés à l'évaluation de l'efficacité antivirale des composés candidats, par la mesure de la charge virale dans différents types de prélèvements respiratoires (nasal, nasopharyngé, liquide bronchoalvéolaire, poumon), l'analyse histopathologique, la mesure de la fonction respiratoire et le suivi clinique des animaux.

¹Pizzorno A, Terrier O, Nicolas de Lamballerie C, Julien T, Padey B, Traversier A, Roche M, Hamelin ME, Rhéaume C, Croze S, Escuret V, Poissy J, Lina B, Legras-Lachuer C, Textoris J, Boivin G, Rosa-Calatrava M. Repurposing of drugs as novel influenza inhibitors from clinical gene expression infection signatures. *Frontiers in Immunology*, 2019 Jan 29;10:60.

²Pizzorno A, Padey B, Julien T, Trouillet-Assant S, Traversier A, Errazuriz-Cerda E, Fouret J, Dubois J, Gaymard A, Lescure FX, Dulière, Brun P, Constant S, Poissy J, Lina, Yazdanpanah Y, Terrier O and Rosa-Calatrava M. Characterization and treatment of SARS-CoV-2 in nasal and bronchial human airway epithelia. *2020 Cell Reports Medicine* Volume 1, Issue 4, 21 July 2020, 100059

³Pizzorno A, Padey B, Mouton W, Oliva J, Trouillet-Assant S, Rosa-Calatrava M and Terrier O. Interactions Between SARS-CoV-2 Replication and Major Respiratory Viruses in Human Nasal Epithelium. *J Inf Diseases*. 2022 Aug 29;jiac357

⁴Padey B, Droillard C, Dulière V, Fouret J, Nicolas de Lamballerie C, Milesi C, Laurent E, Brun P, Traversier A, Julien T, Terrier O, Rosa-Calatrava M, Pizzorno A. Host-directed repurposed diltiazem enhances the antiviral activity of classic antivirals against influenza and SARS-CoV-2. Accepted in *Antiviral Research* 2025 March.

Développement de modèles cellulaires pour le criblage à haut contenu de molécules antivirales

Audrey Tarricone^{1,2}, Nathalie Callens¹, Claire Montpellier¹, Lowiese Desmarets¹, Jean Dubuisson¹, Cécile-Marie Aliouat-Denis¹, Yves Rouillé¹ et Sandrine Belouzard^{1,2}

1-Univ. Lille, CNRS, Inserm, Institut Pasteur de Lille, U1019 – UMR9017 – Center for Infection and Immunity of Lille (CIIL), Lille, France

2- Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, US 41 - UAR 2014 - PLBS, F-59000, Lille, France

Grâce au soutien du projet Virocrib (CNRS), l'équipe de virologie moléculaire et cellulaire développe et optimise des modèles cellulaires pour faciliter le criblage phénotypique de molécules antivirales ciblant notamment les infections par le SARS-CoV-2¹, le virus Zika et les virus des hépatites C et E en niveau de confinement 2 et 3 en minimisant les manipulations dans ces niveaux de confinement. Les lignées exprimant des sondes rapportrices permettant la détection des infections par le SARS-CoV-2¹ et le virus Zika que nous avons mises en place présentent l'avantage de pouvoir détecter les infections de différents variants dans un même système cellulaire. Une lignée rapportrice est aussi utilisée pour cribler des molécules contre le virus de l'hépatite C². Pour cribler des molécules inhibant la réplication du virus de l'hépatite E, nous avons développé une lignée stable exprimant un réplicon fluorescent. Le criblage de molécules dans ces systèmes cellulaires a été miniaturisé en plaque 384-puits et un workflow a été mis en place pour le criblage de molécules grâce aux équipements de la plateforme de criblage ARIADNE. Les cellules sont d'abord ensemencées puis les molécules sont transférées le lendemain sur les cellules par distribution acoustique (Echo acoustic liquid handler). Cette technologie permet aussi de réaliser des expériences de dose-réponses et des combinaisons de molécules. Les plaques sont alors transférées en BSL2 ou 3 pour être infectées. Les temps d'incubation varient en fonction du virus. Les lectures sont enfin réalisées sur cellules vivantes grâce aux microscopes confocaux automatisés.

Ces systèmes à haut-contenu automatisés fournissent des outils fiables, rapides, faciles et efficaces pour le criblage phénotypique d'antiviraux contre ces virus.

1

¹ Desmarets L., Callens N., Hoffmann E., Danneels A., Lavie M., Couturier C., et al. (2022). A reporter cell line for the automated quantification of SARS-CoV-2 infection in living cells. *Front. Microbiol.* 13:1031204. doi: 10.3389/fmicb.2022.1031204, PMID: [DOI] [PMC free article]

² Jones CT, Catanese MT, Law LM, Khetani SR, Syder AJ, Ploss A, Oh TS, Schoggins JW, MacDonald MR, Bhatia SN, Rice CM. Real-time imaging of hepatitis C virus infection using a fluorescent cell-based reporter system. *Nat Biotechnol.* 2010 Feb;28(2):167-71. doi: 10.1038/nbt.1604.

Les plateformes lilloises ARIADNE-Criblage et ARIADNE-ADME

Catherine Piveteau¹, Manoly Wacheux², Sandrine Belouzard³, Benoit Déprez¹, Alain Baulard³, Florence Leroux^{1,2}

1- U1177 - Drugs and Molecules for Living Systems, F-59000, Lille, France

2- US 41 - UAR 2014 - PLBS, F-59000, Lille, France

3- U1019 - UMR 9017 - CIIL - Center for Infection and Immunity of Lille, F-59000, Lille, France

ARIADNE regroupe deux plateformes académiques, ARIADNE-Criblage et ARIADNE-ADME, qui travaillent de manière indépendante mais complémentaire. Leur objectif est de contribuer à la découverte de petites molécules chimiques utiles en thérapeutique ou pour explorer le vivant, et d'étudier leur biodisponibilité.

ARIADNE-Criblage rassemble des expertises et des équipements dédiés au criblage de perturbateurs biologiques tels que des siRNA ou des petites molécules chimiques. En prestation ou en accès libre, la plateforme vous accompagne dans la réalisation de vos projets. Des collaborations sont envisageables.

ARIADNE-Criblage est constituée de trois plateaux localisés dans des environnements de sécurité biologique allant du niveau 1 au niveau 3. Le plateau HTS permet de miniaturiser des essais pharmacologiques cellulaires ou non et de cribler des bibliothèques chimiques à haut débit. Il gère une bibliothèque de 100 000 composés chimiques. Les plateaux HCS-L2 et HCS-L3 permettent de réaliser à haut débit et à haut contenu des criblages par microscopie quantitative.

ARIADNE-ADME permet quant à elle d'étudier la biodisponibilité des molécules, par des mesures in vitro ou in vivo de paramètres ADME (Absorption, Distribution, Métabolisme, Elimination).

Les deux plateformes lilloises font parties de l'Infrastructure Nationale ChemBioFrance et sont labélisées par le Gis IBISA.

Développement d'analogues de la ribavirine : des nucléosides polyazole-spirooxétanes comme nouvelles molécules à activité antivirale

Hugo Chamereau, Jérôme Guillemont, Jacques Lebreton, Arnaud Tessier

CEISAM, Nantes Université, UMR 6230

Les nucléosides sont une classe de molécules connues pour avoir des effets thérapeutiques intéressants, notamment antiviraux. Parmi les composés nucléosidiques, on peut y retrouver notamment la zidovudine et l'AICAR (figure 1) qui ont une activité contre le VIH¹ et la leucémie² respectivement. Cependant, le nombre d'infections virales ne cessent d'augmenter à l'image de l'émergence de la covid 19, des hépatite C et E ou encore le VIH. De ce fait, il devient urgent de synthétiser de nouvelles molécules afin de lutter contre ces virus.

La ribavirine est un antiviral qui a été découvert en 1972³ et qui est connu pour avoir un large spectre d'activité contre certains virus à ARN et ADN comme l'hépatite C ou la grippe (Influenza A et B)⁴. Cependant, son efficacité est limitée et provoque des effets secondaires graves comme l'anémie ou la toxicité fœtale. Notre ambition est d'investir un important travail de synthèse afin de préparer des nouveaux analogues de la ribavirine comme la ribavirine-2'-spirooxétane (figure 2) qui pourraient présenter un meilleur profil pharmacologique.

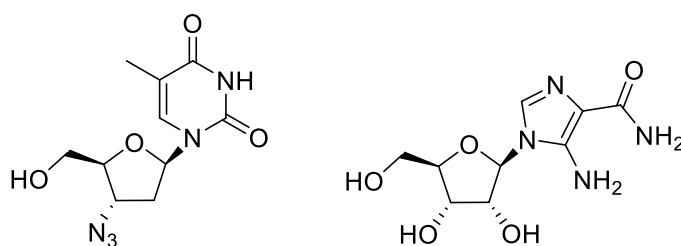


Figure 1 : structures de la zidovudine et de l'AICAR (de gauche à droite).

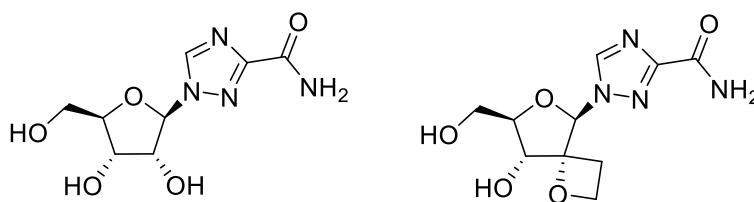


Figure 2 : structures de la ribavirine et de son analogue 2'-spirooxétane (de gauche à droite).

¹ Beilstein J. Org. Chem. **2024**, 20, 898-911.

² Eur. J. Med. Chem. **2015**, 97, 409-418.

³ J. Med. Chem. **1972**, 15(11), 1150-1154.

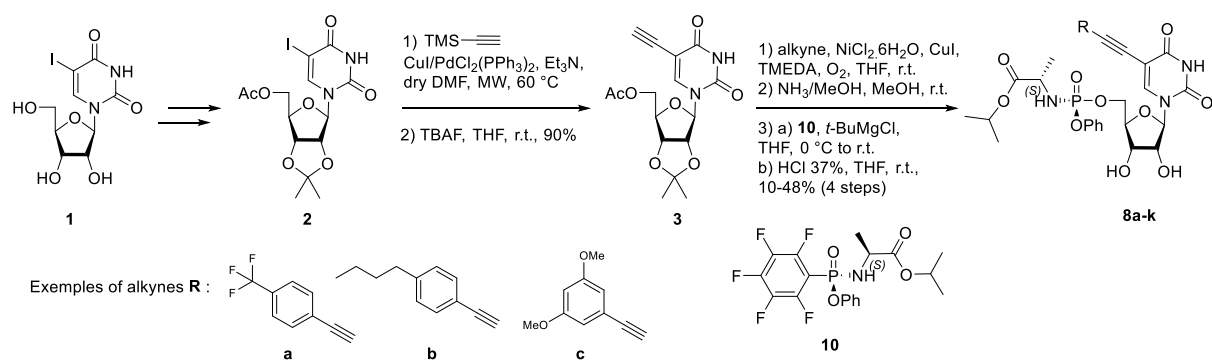
⁴ Digest. Liver Dis., **2011**, 43, 425-430.

Synthesis and evaluation against RNA viruses of C5-substituted-(1,3-diyne)-uridine nucleoside prodrugs

Evan Saillard¹, Otmane Bourzikat¹, Koffi Assa¹, Vincent Roy¹, Luigi A. Agrofoglio¹

ICOA, Université d'Orléans, CNRS UMR 7311, Orléans, France

With the world's population growing exponentially and estimated to reach 9.7 billion by 2050, commercial exchanges are increasing and the environment for wild animals is being reduced, new viruses are being discovered every year, particularly RNA viruses, for which only few drugs are available. Among them, nucleoside analogues remain a major tool in antiviral therapy. Starting from 5-iodouridine, eleven unknown C5-substituted-(1,3-diyne)-uridine nucleosides were synthesized as their phosphoramidate forms; key steps involve a palladium-catalysed Sonogashira-type cross-coupling reaction and a nickel-copper catalyzed C-H activation between various terminal alkynes and C5-ethynyl protected uridine (*Cadiot-Chodkiewicz coupling*). Furthermore, the obtained nucleosides were converted to their phosphoramidate analogs at the 5' hydroxyl position. Their antiviral activities have been measured against a large number of RNA viruses. Detailed synthesis and biological data will be discussed.



Authors thank the French Defense Innovation Agency (AID) and CNRS (GAVO project) for financial support of this work and ViroCrib platforms (CNRS) for antiviral evaluation. ES thanks AID and CNRS (GAVO project) for PhD salary.

LAVR-289, a broadly active acyclonucleoside phosphonate prodrug is highly effective against VZV and HCMV in humanized mouse models

Luigi Agrofoglio¹, Megan Lloyd², Dongmei Liu², Vincent Roy¹, Franck Gallardo³, Jennifer Moffat²

1- ICOA, Université d'Orléans, CNRS UMR 7311, Orléans, France; 2- SUNY Upstate Medical University, Syracuse, New York, USA;

3- NeoVirTech SAS, Toulouse, France

The double-stranded DNA viruses are major pathogens. Broad-spectrum antiviral drugs are urgently needed that are safe, potent, and effective against viruses resistant to the currently approved treatments. We recently reported the synthesis and in vitro antiviral activity of LAVR-289, an acyclic pyrimidine nucleoside phosphonate prodrug with a 4-(2,4-diaminopyrimidin-6-yl)oxy-but-2-enyl]phosphonic acid skeleton with nanomolar range activity against human herpesviruses, poxviruses, and adenovirus. The EC₅₀ of LAVR-289 is approximately 10 nM for varicella zoster virus (VZV), 211 nM for clinical herpes simplex 1 (HSV1), and 40 nM for human cytomegalovirus (HCMV TB40/E). Its CC₅₀ is approximately 3 µM. Notably, LAVR-289 is more potent than the approved drugs and is effective against drug-resistant variants. In this study, we evaluated LAVR-289 against VZV and HCMV in vivo. We found that LAVR-289 prevented VZV spread in human skin organ culture (>1 µM) and HSV1 spread in reconstituted human skin. LAVR-289 prevented VZV and HCMV spread in humanized mice with skin xenografts (N=10-20 mice per group). Treatment schedules and doses that significantly reduced VZV spread: 6.5 mg/kg sc QD (p<0.05); 26 and 13 mg/kg sc every other day (EOD, p<0.01); 26 and 50 mg/kg po QD (p<0.01). The effects were durable at 7+ days post-treatment. LAVR-289 50 mg/kg sc EOD prevented HCMV spread (p<0.05). LAVR-289 was well tolerated and did not cause weight loss. LAVR-289 is a promising, orally bioavailable compound with potential for development as a novel broad-spectrum antiviral drug against the human herpesviruses and other dsDNA viruses.

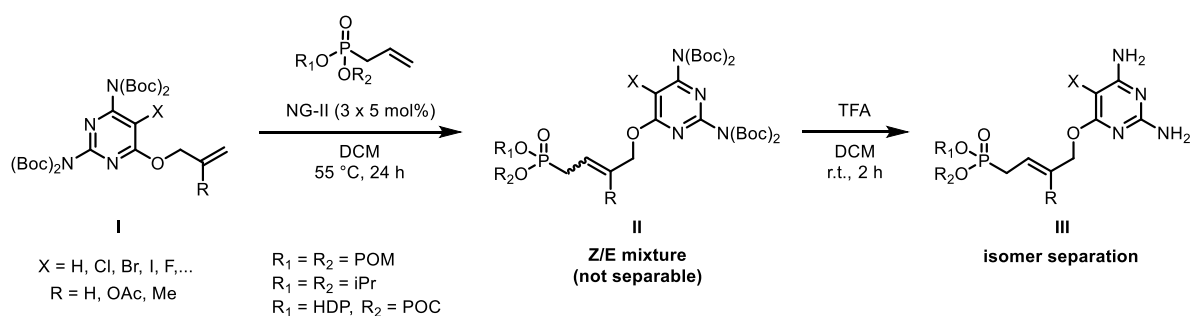
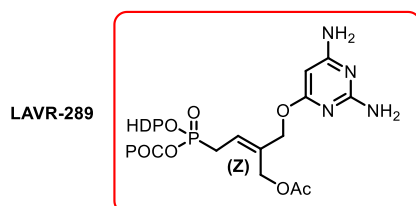
This work was funding in part by NIAID DMID Preclinical Models of Infectious Disease, HHSN272201700030I (JM) and by French ANR PreCyVir ANR-22-CE18-0016-01 (LA)

Synthèse d'analogues du LAVR-289, un nouvel acyclonucléoside phosphonate à large spectre antiviral

Clément Wahl¹, Vincent Roy¹, Franck Gallardo², Luigi A. Agrofoglio¹

1- ICOA, Université d'Orléans, CNRS UMR 7311, Orléans, France ; 2- NeoVirTech SAS, Toulouse, France

Les virus à ADN et ARN appartiennent à plusieurs familles, pouvant provoquer soit des infections aiguës engageant le pronostic vital, soit des infections persistantes. Parmi les composés ciblant les polymérases virales, les acyclonucléosides phosphonates (ANP) et leurs prodrogues représentent aujourd'hui une famille incontournable dans la chimiothérapie antivirale. Le cidofovir, développé par Antonín Holý¹ est un analogue de la cytidine ayant une activité contre le cytomégalovirus humain (HCMV) ($EC_{50} = 0.73 \mu\text{M}$). Le ténofovir et l'adéfovir sous forme de prodrogues sont utilisés dans les traitements du VIH et VHB. Toutefois, leur utilisation peut être limitée par leur toxicité (néphrétique) et l'émergence rapide de résistances, soutenant le développement de nouvelles molécules antivirales. Nous avons récemment décrit la synthèse du LAVR-289,² un nouvel ANP possédant un squelette de type 4-(2,4-diaminopyrimidin-6-yl)oxy-but-2-ényl]phosphonique, avec des activités antivirales remarquables *in vitro* et *in vivo* contre le HCMV ($EC_{50} = 0.021 \mu\text{M}$) et les virus de l'herpès (HSV-1 et HSV-2),³ l'adénovirus⁴ et le virus de la vaccine.⁵ La synthèse convergente repose sur une métathèse croisée d'oléfines comme étape clé. La synthèse du LAVR-289 et de nouveaux analogues susceptibles d'inhiber des virus émergents à ARN et autres virus à ADN, sera présentée et discutée.



Le programme LAVR-289 a été financé en partie par l'AID (#192906106), le NIH/NIAID, ainsi que par l'ANR (ANR-22-CE18-0016-01). CW remercie la Région Centre Val de Loire et l'ANR pour leur soutien financier, permettant le financement de son salaire doctoral.

¹ A. Holý. Antiviral acyclic nucleoside phosphonates structure activity studies. *Antiviral. Res.* **2006**, 71,248-53.

² M. Bessi res *et al.* Synthesis of LAVR-289, a new [(Z)-3-(acetoxymethyl)-4-(2,4-diaminopyrimidin-6-yl)oxy-but-2-enyl]phosphonic acid prodrug with pronounced antiviral activity against DNA viruses. *Eur. J. Med. Chem.* **2024**, 271, 116412.

³ S. Kappler-Gracias *et al.* LAVR-289, a new acyclo-nucleoside phosphonate having broad-spectrum activity against herpesviruses. *BioRxiv* **2025** doi: <https://doi.org/10.1101/2025.02.20.639249>

⁴ C. Quentin-Froignant *et al.* « LAVR-289, a New Orally Bioavailable Inhibitor of Adenovirus Replication *in vitro* and *in vivo* » *BioRxiv* **2025** doi: <https://doi.org/10.1101/2025.02.20.639236>

⁵ E. Marcheteau *et al.* « *In vitro* and *in vivo* Antiviral Activity of the Acyclic Nucleoside Phosphonate Prodrug LAVR-289 against Poxvirus and African Swine Fever Virus Replication » *BioRxiv* **2025** doi: <https://doi.org/10.1101/2025.02.20.634468>

Mise en place d'une plateforme d'identification de composés antiviraux à large spectre basée sur des cultures 2D/3D du système nerveux central.

François Piumi¹, Noémie Berry², Valentine Chaillot³, Théo La Rosa⁴, Kamila Gorna⁵, Aurélie Magniez⁶, Bertrand Pain⁷, Anne Danckaert⁸, Nathalie Aulner⁹, Muriel Coulpier¹⁰

1- UMR 1161 Virologie, Anses (Laboratoire de Santé Animale), INRAE, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Université Paris-Est, Maisons-Alfort ; 2- UMR 1161 Virologie, Anses (Laboratoire de Santé Animale), INRAE, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Université Paris-Est, Maisons-Alfort ; 3- UMR 1161 Virologie, Anses (Laboratoire de Santé Animale), INRAE, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Université Paris-Est, Maisons-Alfort ; 4- Stem-Cell and Brain Research Institute, U1208 INSERM, USC1361 INRA, Bron ; 5- UMR 1161 Virologie, Anses (Laboratoire de Santé Animale), INRAE, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Université Paris-Est, Maisons-Alfort ; 6- UMR 1161 Virologie, Anses (Laboratoire de Santé Animale), INRAE, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Université Paris-Est, Maisons-Alfort ; 7- Université Lyon 1, INSERM, INRAE, U1208, USC1361, Stem Cell and Brain Research Institute, Bron ; 8- UtechS PBI - C2RT, Institut Pasteur, Université Paris Cité, Paris ; 9- UtechS PBI - C2RT, Institut Pasteur, Université Paris Cité, Paris ; 10- UMR 1161 Virologie, Anses (Laboratoire de Santé Animale), INRAE, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Université Paris-Est, Maisons-Alfort

Les infections virales du système nerveux sont des affections souvent gravissimes qui peuvent être responsables d'encéphalites mortelles ou de séquelles neurologiques fortement invalidantes. Chez l'homme, de nombreux virus sont capables d'infecter le système nerveux ; certains d'entre eux étant également responsables d'encéphalites chez le cheval. Pourtant, il n'existe actuellement que très peu de traitements antiviraux ; il n'en existe aucun pour bloquer la réplication des arbovirus neurotropes (virus transmis par les moustiques et tiques) et limiter les dommages occasionnés dans le cerveau. Nous avons pour objectif d'identifier des antiviraux à large spectre qui seront efficaces contre plusieurs familles virales, aussi bien chez l'homme que chez le cheval. En comparant l'efficacité antivirale de plusieurs composés chimiques, nous avons démontré que leur activité antivirale est dépendante du type cellulaire, soulignant ainsi la nécessité d'utiliser des modèles in vitro physiologiquement pertinents afin de sélectionner rigoureusement des composés ayant une forte probabilité d'être efficaces dans le système nerveux des individus infectés. Ce poster montrera les différents modèles d'infection basés sur des cultures 2D/3D de cellules du système nerveux central que nous avons développé ces dernières années et notre stratégie pour identifier des composés antiviraux à large spectre actifs dans le système nerveux. Les composés identifiés pourraient permettre de traiter les nombreux patients infectés avec des virus connus mais ils fourniront aussi des principes actifs disponibles en cas d'émergence de nouveaux virus neurotropes.

Inhibition of 3CLpro enzymes of four coronaviruses : from High Throughput Screening to positive confirmation.

Paul Carré¹, Valerie Landry¹⁻², Hugo Hennequin¹, Xavier Hanouille³, Julie Charton¹, Benoit Deprez¹⁻², Florence Leroux¹⁻²

¹U1177 - Drugs and Molecules for Living Systems. Institut Pasteur de Lille, Université de Lille, Inserm, F-59000 Lille, France

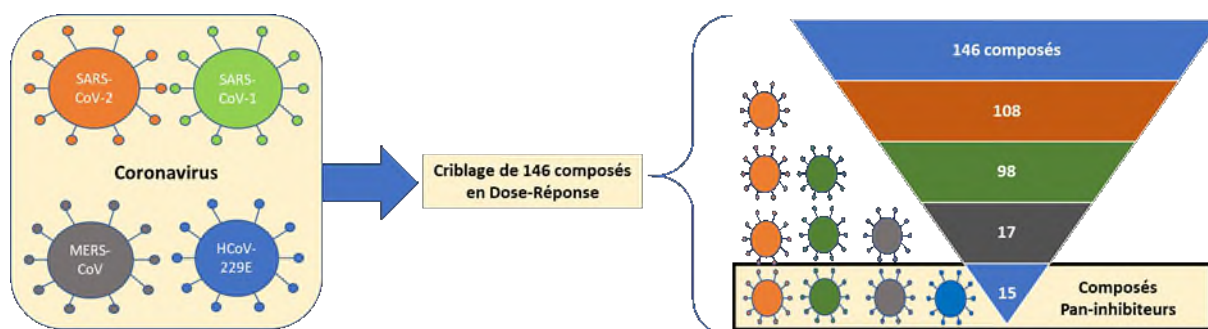
²UAR2014-US41-ARIADNE Criblage. Plateformes Lilloises en Biologie et Santé, 59000 Lille, France

³EMR9002 – Biologie Structurale Intégrative. CNRS, F-59000, Lille, France

Le virus SARS-CoV-2 est responsable de la pandémie de COVID-19 et d'infections potentiellement mortelles qui continuent d'affecter des millions de personnes dans le monde. La protéase 3CLpro est une protéase à cystéine impliquée dans le clivage des polyprotéines virales constituant une étape cruciale de la réplication virale. Cette protéase est conservée parmi les autres coronavirus comme le SARS-CoV-1 ; MERS-CoV et HCoV-229E. Elle constitue ainsi une cible thérapeutique pertinente pour le développement d'antiviraux à large spectre et de lutte contre l'émergence de futurs coronavirus¹².

Nous avons optimisé puis réalisé un criblage à haut-débit de 146 composés sur les 4 enzymes 3CLpro des coronavirus SARS-CoV-2 ; SARS-CoV-1 ; MERS-CoV et HCoV-229E en dose-réponse. Nous avons obtenu 108 composés sur le criblage 3CLpro SARS-CoV-2 pour lesquels nous avons déterminé une valeur de pIC₅₀ correspondant à plus de 70% d'inhibition de l'activité enzymatique. 98 produits sur 3CLpro SARS-CoV-1 ont des pIC₅₀ comparables avec les résultats sur 3CLpro SARS-CoV-2. Nous avons ensuite confirmé 17 composés sur 3CLpro MERS-CoV en utilisant deux protocoles³. Enfin, nous avons identifié 15 composés avec des pIC₅₀ sur 3CLpro HCoV-229E.

Pour conclure, ce sont 15 analogues qui ont été identifiés comme composés pan-inhibiteurs, avec un composé (Δ 262) comme étant l'analogue le plus actif sur les 4 enzymes virales.



¹ Brier, L. et al. Novel dithiocarbamates selectively inhibit 3CL protease of SARS-CoV-2 and other coronaviruses. *Eur. J. Med. Chem.* 250, 115186 (2023).

² Chaibi, F.-Z. et al. N-acylbenzimidazoles as selective Acylators of the catalytic cysteine of the coronavirus 3CL protease. *Eur. J. Med. Chem.* 276, 116707 (2024).

³ Tomar, S. et al. Ligand-induced Dimerization of Middle East Respiratory Syndrome (MERS) Coronavirus nsp5 Protease (3CLpro). *J. Biol. Chem.* 290, 19403–19422 (2015).

Antiviral platform for evaluation of new therapeutics against native respiratory viruses and arboviruses.

Emilie Giraud^{1,2}, Jeanne Chiaravalli¹, Salomé Guez^{1,2}, Lucas Facchinetti¹, Cyrielle Durand¹, Fabrice Agou^{1,2}

1-Plate-Forme de Criblage Chemogénomique et Biologique, Centre de Ressources et

Recherches Technologiques (C2RT), Institut Pasteur, CNRS UMR 3523, Paris, France

2 - Consortium Emergen, Santé Publique France, ANRS0148 Maladies infectieuses émergentes

Our platform (PF-CCB) provides expertise and technical support to researchers by developing robust screening bioassays, identifying lead compounds, and elucidating drug targets.

During the COVID-19 pandemic, we rapidly adapted to implement screening strategies for identifying active molecules against the native SARS-CoV-2 virus. A robust medium-throughput screening assay in a 384-well format was established in a BSL3 environment, enabling the evaluation of antiviral efficacy (IC₅₀ and CC₅₀) for over 400 compounds across 24 intra- and extra-campus collaborations¹⁻². Potent antiviral candidates were identified in collaboration with various research units at Institut Pasteur³⁻⁴. To further assess their efficacy, we established an *in vivo* model using Syrian hamsters, evaluating antiviral activity against multiple SARS-CoV-2 variants in both preventive and therapeutic settings via different administration routes⁵. This screening pipeline successfully translated antiviral candidates from *in vitro* assays to human clinical trials.

Building on this success, the platform expanded its expertise to other therapeutic targets, particularly *Orthoflavivirus*. The established medium-throughput screening assay supports the evaluation of approximately 200 compounds per week across five concentrations in triplicate. This platform is compatible with different human cell types and is currently available for screening against Zika virus, Dengue virus, West Nile virus, yellow fever virus, 39 SARS-CoV-2 variants, and other respiratory viruses such as hCoV-OC43. Ongoing developments include adaptation for respiratory syncytial virus (A and B), hCoV-229E, human metapneumovirus, and tick-borne encephalitis virus.

By continuously refining bioassays and screening strategies, these approaches contribute to the rapid identification of antiviral candidates, supporting pandemic preparedness and the development of treatments against emerging and re-emerging viral threats.

¹Kham S., Partuk EO., Chiaravalli J., Kozer N., Shurrush KA., Elbaz-Alon Y., Scher N., Giraud E., Tran-Rajau J., Agou F., Barr HM., Avinoam O. High-throughput screening identifies broad-spectrum Coronavirus entry inhibitors. *iScience*, 2024, 21 June, 110019

²Touret F.*, Giraud E.*, Bourret J., Donati F., Tran-Rajau J., Chiaravalli J., Lemoine F., Agou F., Simon-Lorière E., van der Werf S., de Lamballerie X. Enhanced neutralization escape to therapeutic monoclonal antibodies by SARS-CoV-2 omicron sub-lineages. * co-first-authors. *iScience*, 2023, 26, 106413.

³Planchais C., Fernandez I., Bruel T., Dias de Melo G., Prot M., Beretta M., Guardado-Calvo P., Dufloo J., Molinos-Albert L., Backovic M., Chiaravalli J., Giraud E., *et al.*, Mouquet H., Potent human broadly SARS-CoV-2-neutralizing IgA and IgG antibodies effective against Omicron BA.1 and BA.2. *J Exp Med.*, 2022; Jul. Vol. 219, N°.7.

⁴Facchinetti L, Boullé M., Giraud E. & Agou F. *Antisense oligonucleotides as novel pan-antiviral therapeutic agents*. 2025, European patent (EP24307237) on going.

⁵Blachier S., Fernandez I., Conquet L., Giraud E., Staropoli I., Michel V., Szilagyi F., Guez S., Boucharlat A., Chiaravalli J., Tran-Rajau J., Dufour E., Petres S., Planas D., Montagutelli X., Agou F., Rey F., Lafaye P., Enninga J., Ayme G., Schwartz O., Brelot A. Intranasal delivery of a broadly neutralizing single domain antibody targeting ACE2 protects against SARS-CoV-2 infection. 2024, BiorXiv and under revision.

Activity of natural plant extracts on the replication of hepatitis E virus (HEV)

Montpellier Claire¹, Tarricone Audrey¹, Samaillie Jennifer², Roumy Vincent², Akissi Zachée², Drouet Benjamin¹, Alexandre Virginie¹, Lecoeur Cécile¹, Mézière Léa¹, Rouillé Yves¹, Sahpaz Sevser², Dubuisson Jean¹, Belouzard Sandrine¹, Cocquerel Laurence¹, Séron Karin¹, Rivière Céline², Aliouat-Denis Cécile-Marie¹

1- University of Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, U1019—UMR9017—Center for Infection and Immunity of Lille (CIIL), F-59000 Lille, France ; 2- BioEcoAgro, Joint Research Unit 1158, University of Lille, INRAE, University of Liège, UPJV, YNCREA, University of Artois, University Littoral Côte d'Opale, ICV—Institut Charles Viollette, F-59650 Villeneuve d'Ascq, France

BACKGROUND & AIMS: Hepatitis E virus (HEV) is the leading cause of acute hepatitis worldwide. It is responsible for 20 million infections annually, including 3.3 million symptomatic infections, and leads to approximately 70,000 deaths each year, especially among pregnant women and immunocompromised individuals. Four genotypes (gt) are pathogenic to humans. Gt1 and gt2 are transmitted through the fecal-oral route in low-income countries through ingestion of contaminated water, while gt3 and gt4 are mainly found in animals (zoonotic) in industrialized countries, and are transmitted to humans by eating undercooked meat such as pork and deer. To date, no specific antivirals exist for treating HEV infection and the sole licensed vaccine (Hecolin®) is only available in China and Pakistan. Ribavirin and pegylated alpha interferon are often used as therapies for chronic HEV infections but treatment failure is common and accompanied by severe side effects. Therefore, further research is needed to identify safe and effective antivirals to treat HEV patients. In addition, a large portion of the world's population does not have access to medication and often uses natural plant products for healthcare. That's why we decided to focus on identifying natural plant extracts or derived compounds that show activity against HEV replication. To this end, extracts from Peruvian plants and halophytes plants from the Hauts-de-France region, as well as plants and natural compounds identified as having hepatoprotective properties were screened.

METHODS: A HEV pSK-p6-GFP-puro replicon plasmid was constructed, based on a human genotype 3 HEV infectious clone (p6), of which the ORF2 capsid gene was partly replaced by a green fluorescent protein (GFP) and a puromycin (puro) resistance genes. After *in vitro* transcription, HEV RNA transcripts were electroporated in PLC3 (a sub clone of the PLC/PRF5 hepatoma cell line) and Huh-7 hepatoma cells. Following puromycin selection, the most fluorescent PLC3 and Huh-7 cells were sorted by fluorescence-activated cell sorting (FACS), a specialized type of flow cytometry. A screening of approximately 150 crude plant extracts at 25 µg/ml and natural purified compounds at 10 µM was performed to evaluate their antiviral properties. The products were dispensed onto the cells using an Echo 550 acoustic dispenser. Ribavirin, sofosbuvir and NITD008 were used as reference molecules. Replication inhibition was assessed after 48 hours of contact with extracts/compounds and plates were imaged using an IN CELL Analyzer 6000 (Molecular Devices) automated high-throughput confocal fluorescence microscope.

RESULTS: About ten plant extracts were identified as having potential antiviral properties in both cell types, including both crude extracts and purified compounds.

CONCLUSION & OUTLOOK: We have developed a robust system relying on HEV replication allowing the screening of natural plant extracts. In the near future, a bioguided fractionation approach will be conducted on crude extracts to identify active compounds. Their activity will be first confirmed in infectious system. Then, dose-response curves (IC50) will be performed for the most active extracts or compounds and their cytotoxicity (CC50) will be evaluated to calculate the selectivity index. Furthermore, their effectiveness will be tested against other HEV genotypes and across diverse experimental models.

Marseille Screening Center (MaSC)

B.Coutard¹, C.Derviaux², C. Eydoux³, J.-C. Guillemot³,

X. Morelli², F.Touret¹ (Par ordre alphabétique)

¹ UMR IRD 190, Inserm 1207 PCVMT "Unité des Virus Émergents" Aix-Marseille Université – Université de Corse – Institut de Recherche pour le Développement – Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale – Institut de Recherche Biomédicale des Armées – Établissement Français du Sang – Institut Louis Malardé, Marseille, France

² CNRS/INSERM/AMU/ Institut Paoli-Calmettes, HiTS CRCM CS30059, 13273 Marseille cedex 09

³ CNRS/AMU PCML AFMB UMR 7257, Polytech case 925 bât B, 163 av. de Luminy, 13288 Marseille

Marseille Screening Center (MaSC) est une plateforme de criblage rassemblant trois sites spécialisés dans le développement et la mise en œuvre de nouvelles technologies dédiées au drug design, à la découverte et la caractérisation de nouvelles molécules bioactives et au criblage de chimiothèques. Labellisée IBISA en 2022 et plateforme technologique Aix-Marseille en 2023, MaSC se positionne comme un acteur majeur dans la recherche de composés antiviraux, anticancéreux et d'inhibiteurs d'interactions protéine-protéine ou protéine-ligand. MaSC se compose de 1) la plateforme de criblage Marseille Luminy (PCML), pour l'identification et la caractérisation de molécules à potentiel antiviral par tests biochimiques 2) la plateforme de criblage haut débit du CRCM (HiTS), pour les inhibiteurs d'interactions protéine-protéine et protéine-ligand 3) la plateforme de criblage viral Marseille Timone (PCVMT), pour le criblage et la validation de molécules antivirales en modèles infectieux *in vitro* et *in vivo*, en environnement confiné BSL3. La complémentarité des expertises crée une interface dynamique, favorable notamment au développement de molécules antivirales pour le monde académique et industriel, illustré sur ce poster par quelques exemples de travaux réalisés récemment.

Bibliographie¹² à insérer en note de bas de page SVP

¹ Ref en calibri 9

²

In situ and *in crystals* click chemistry, a potent tool to accelerate antiviral drug discovery against *Bunyavirales*

Dégardin M.⁽¹⁾, Garlatti L.⁽¹⁾, Feracci M.⁽¹⁾, Canard B.⁽¹⁾, Ferron F.⁽¹⁾, Alvarez K.*⁽¹⁾

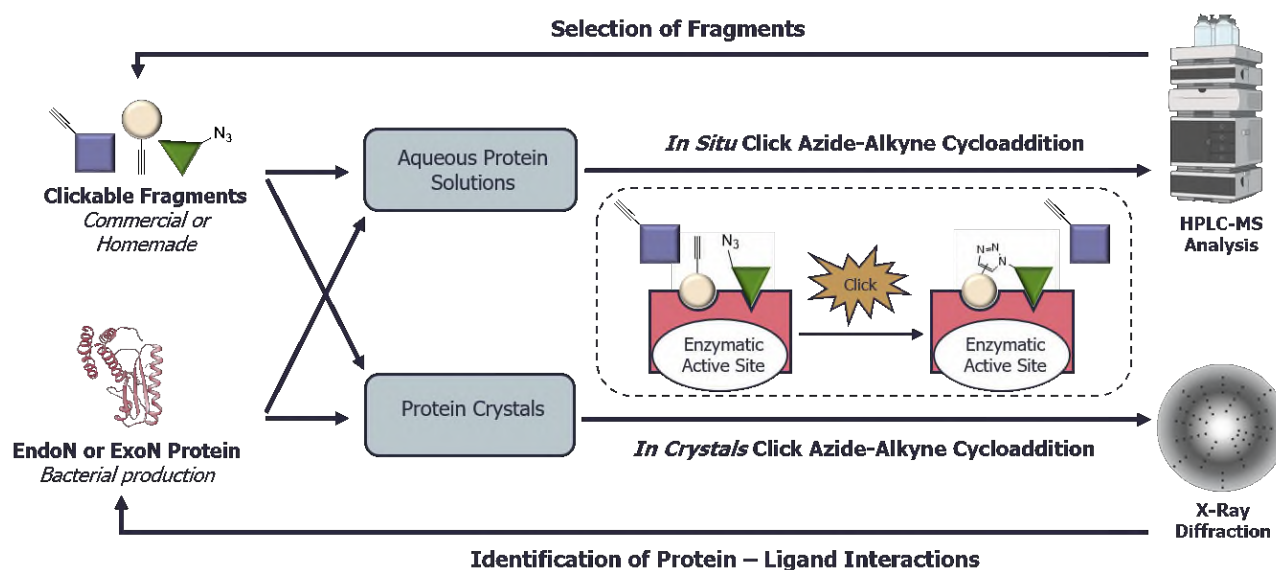
(1) AFMB, AMU, CNRS UMR 7257, 163 Avenue de Luminy, 13288 Marseille

Viruses from the *Bunyavirales* order currently are included in WHO's priority list since they represent a global public health threat. Despite their seriousness and the growing number of infections, therapeutic options available against these viruses are still limited. Developing effective and specific treatments against *Bunyavirales* is therefore a pressing issue.

The replication machinery of *Bunyavirales* viruses considerably relies on the Endonuclease activity (EndoN) of the L-protein, responsible for the host RNA cap-snatching via RNA hydrolysis¹. Additionally, the Exonuclease domain (ExoN) of the *Mammarenaviruses* N-protein - from the *Arenaviridae* family - is involved in the host innate immune system evasion². Both EndoN and ExoN are Mg²⁺ and/or Mn²⁺-dependent, with their respective enzymatic activities strictly relying on viral RNA chelation in the active sites. Thus, one strategy to design pan-genus antiviral medicines against *Bunyavirales* is to develop EndoN and/or ExoN inhibitors with specific metal-chelating properties.

Such inhibitors can hopefully be designed with the help of a rational Kinetic Target-Guided-Synthesis approach to accelerate antiviral candidates discovery, where the viral enzymes will assemble their own ligands from a pool of clickable fragments³. Here, we use azide- or alkyne-containing fragments to ensure their covalent assembly in aqueous media via click azide-alkyne cycloaddition. Each enzyme will act as a mold by catalyzing the cycloaddition between fragments showing affinity and specificity for its active site, by taking advantage of the metal-anchoring motif and one or more specificity motifs to reach specific pockets of the active site.

This auto-assembly strategy can be applied in aqueous solutions containing the enzyme (« *in situ* »)⁴ and enrichment can be monitored and validated by HPLC-MS. Additionally, the same strategy could be applied in protein crystals (« *in crystals* »)⁵, where the assembly of fragments in the enzymatic active site can be directly identified by X-ray diffraction.



¹ Olschewski, S. et al., *Trends in Microbiology*, **2020**, 28(4), 293-303

² Jian, X. et al., *Journal of Biological Chemistry*, **2013**, 288(23), 16949-16959

³ Bosc, D. et al., *Future Medicinal Chemistry*, **2016**, 8(4), 381-404

⁴ Manetsch, R. et al., *Journal of the American Chemical Society*, **2004**, 126(40), 12809-12818

⁵ Bourne, Y. et al., *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **2004**, 101(6), 1449-1454

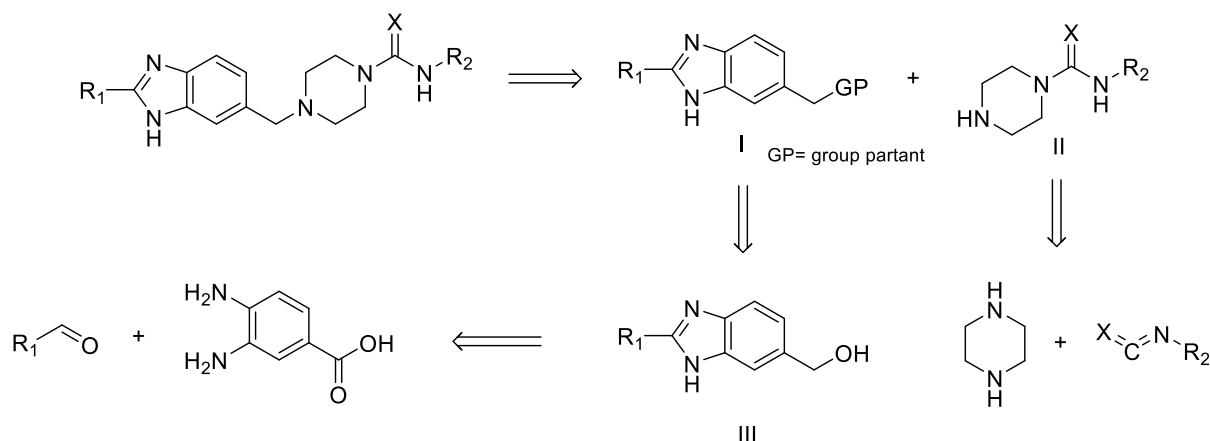
Synthèse d'hétérocycliques fonctionnalisés et leur évaluation sur la protéine STING et la voie de l'interféron

Mathis Le Foll¹, Jérémy Magand¹, Vincent Roy¹, Stéphanie Rose², Nicolas Riteau^{2,3}, Valérie Quesniaux², Luigi A. Agrofoglio¹

1- ICOA, Université d'Orléans, CNRS UMR 7311 Orléans, France; 2- INEM Université d'Orléans, CNRS UMR 7355 Orléans, France ; 3- IMMune HEAlth international laboratory (IRL2029), University of Sao Paulo, Campus Ribeirão Preto – SP, Brazil

La voie de signalisation cGAS-STING est une étape clé de l'immunité innéeⁱ ; elle est activée par la détection d'ADN cytosolique lors d'inflammations dues notamment à une infection bactérienne ou virale.ⁱⁱ Si la stimulation de cette voie par des agonistes est une stratégie prometteuse dans la lutte antivirale,ⁱⁱⁱ une sur-activation peut engendrer des effets secondaires conduisant à des maladies de types auto-immun ou inflammatoire.^{iv} C'est pour cela que le développement d'antagonistes de cette voie de signalisation est tout aussi important.

Sur la base de l'Etat de l'Art et de travaux antérieurs de notre équipe, nous avons développé une librairie de petites molécules possédant comme squelette un benzimidazole et une pipérazine dont la rétrosynthèse est présentée ci-dessous. Plusieurs dérivés ont été obtenus par cette synthèse convergente, qui sera présentée ; les résultats biologiques permettant de déterminer l'efficacité agoniste ou antagoniste des composés seront discutés.



Ce programme a été financé en partie par la Région Centre Val de Loire et les Fonds Européens de Développement Régional (Projet FEDER - EX10233 EUROFERI ; Exposome & Inflammation 2024-00012066). MLF remercie le CNRS (programme MITI) pour le soutien financier permettant le financement de son salaire doctoral.

ⁱ Motwani M, Pesiridis S, Fitzgerald KA. DNA sensing by the cGAS-STING pathway in health and disease. *Nat. Rev. Genet.* **2019**, 20, 657-674.

ⁱⁱ Amurri L, Horvat B, Iampietro M. Interplay between RNA viruses and cGAS/STING axis in innate immunity. *Front. Cell Infect. Microbiol.* **2023**, 13, 1172739.

ⁱⁱⁱ Phelan T, Little MA, Brady G. Targeting of the cGAS-STING system by DNA viruses. *Biochem. Pharmacol.* **2020**, 174, 113831.

^{iv} Dimitrov G, Ryffel B, Togbe D, Quesniaux V. cGAS-STING DNA-sensing in inflammatory bowel diseases. *Trends Mol. Med.* **2025**, 31, 165-180.

CHEM-Symbiose :

A custom synthesis platform of organic compounds for chemistry-biology program

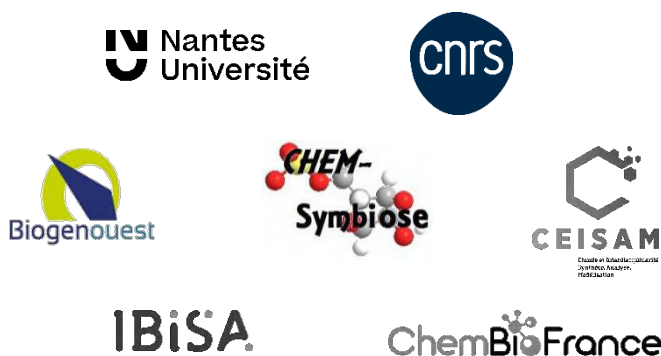
M. Rivière^{a*}, J. Lebreton^a, M. Mathé-Allainmat^a, A. Tessier^{*,a}

Affiliation : Plateforme CHEM-Symbiose, CEISAM UMR 6230, 2 rue de la Houssinière, 44322 NANTES

* Correspondance : arnaud.tessier@univ-nantes.fr

Open to new collaboration/opportunities ?

Located at CEISAM laboratory (Nantes Université, UMR CNRS 6230), CHEM-Symbiose is a fully equipped platform dedicated to the elaboration of simple or advanced organic molecules (milligram to gram preparation scale) for academic research programs in life sciences and health, ^{1,2,3} food and nutrition, and agriculture and environment, including marine environment. Thanks to its expertise in lots of chemistry fields, beyond its role as a supplier of organic molecules based on the state of the art, CHEM-Symbiose platform also supports collaborative works with biologist partners for establishing proof of concept of innovative research projects. CHEM-Symbiose is labeled by regional and national scientific networks Biogenouest and IBiSA. This platform is also a member of ChemBioFrance.



Keywords: multistep synthesis; isotope labelling; medicinal chemistry; chemical-biology

¹ N. Lagneau, L. Terriac, P. Tournier, J-J. Helesbeux, G. Viault, D. Séraphin, B. Halgand, F. Loll, C. Garnier, C. Jonchère, M. Rivière, A. Tessier, J. Lebreton, Y. Maugars, J. Guicheux, C. Le Visage and V. Delplace. A new boronate ester-based crosslinking strategy allows the design of nonswelling and long-term stable dynamic covalent hydrogels, *Biomater. Sci.* **2023**, *11*, 2033-2045.

² D. Rupérez, M. Rivière, J. Lebreton, M. Aznar, F. Silva, A. Tessier, R. Cariou, C. Nerín, Synthesis and quantification of oligoesters migrating from starch-based food packaging materials, *Journal of Hazardous Materials*, **2024**, *476*, 135202

³ F. Dilasser; L. Rose; A. Quemener; Y. Ferrandez; D. Hassoun; M. Rousselle; S. Marionneau-Lambot; C. Trouillet; G. André; M. Maillasson; M. Croyal; M. Rivière; D. Dubreuil; S. Collet; F. Souaze; M. Campone; A. Patsouris; E. Mortier; P. Juin; J. Lebreton; A. Tessier; J. Cherfils. ; G. Loirand; V. Sauzeau* A Rac GTPase-Specific Small molecule Inhibitor targets metastasis in triple negative breast cancer. *Cell Reports Medecine*, **2025** En cours de révision.

Liste des participants au colloque

NOM	Prénom	Adresse mail	Site de rattachement	Fonction	Ville
AGROFOGLIO	Luigi	luigi.agrofoglio@univ-orleans.fr	Université d'Orléans	Professeur - responsable d'équipe	Orleans
ALIOUAT-DENIS	Cécile-Marie	cecile.aliouat@univ-lille.fr	Centre d'Infection et d'Immunité de Lille	Enseignante-Chercheure	Lille
ALVAREZ	Karine	karine.alvarez@univ-amu.fr	AMU, CNRS, UMR 7257	DR CNRS	Marseille
ARZEL	Laurence	Laurence.arzel@univ-nantes.fr	CNRS CEISAM 6230	Ingénieure d'Etudes	Nantes
BARAN	Vincent	vincent.baran@univ-orleans.fr	ICOA UMR CNRS 7311	Chercheur post-doctoral	Orleans
BELOUZARD	Sandrine	sandrine.belouzard@ibl.cnrs.fr	Centre d'Infection et d'Immunité de Lille	DR	Lille
BERROU	Axelle	axelle.berrou@univ-nantes.fr	Laboratoire CEISAM - UMR CNRS 6230	Doctorante	Nantes
BOUQUET	Peggy	peggy.bouquet@pasteur-lille.fr	CIIL molecular and cellular virology	Assistant de recherche	Lille
CAILLE	Nathalie	nat_borderon@yahoo.fr	UMR 1089	Tech de labo	Nantes
CALLENS	NATHALIE	nathalie.callens@cnrs.fr	CIIL	IR	Lille
CARRE	Paul	paul.carre@univ-lille.fr	U1177 - M2SV	Ingénieur d'études en techniques biologiques	Lille
CHAMEREAU	Hugo	chamereau.hugo@gmail.com	Nantes Université	Agent contractuel	Nantes
DEGARDIN	Médéric	mederic.degardin@univ-amu.fr	Architecture et Fonction des Macromolécules Biologiques	Etudiant en Thèse	Marseille
DÉGARDIN	Elina	elina.degardin@gmail.com	Oniris	Etudiante	Nantes
DESRAT	Sandy	sandy.Desrat@cnrs.Fr	CNRS - ICSN	Chargé de Recherche	Gif-Sur-Yvette
DROUET	Benjamin	benjamin.drouet.etu@univ-lille.fr	CIIL	stagiaire étudiant en Master 2	Lille
DUBUISSON	Jean	jean.dubuisson@cnrs.fr	Centre d'Infection et d'Immunité de Lille (UMR9017 - U1019)	Directeur de Recherche CNRS	Lille
DUONG	Adam	adam.duong@u-picardie.fr	UPJV/LG2A	Professeur	Amiens
EL HINDI	Rita	ritahindi96@gmail.com	CNRS	post -doctorante	Strasbourg
FRANCK	Touret	franck.touret@univ-amu.fr	IRD/Unité des virus émergents	Prof Jr	Marseille
GALLARDO	Franck	fgallardo@neovirtech.com	NeoVirTech SAS	CEO	Toulouse

GIRAUD	Emilie	emilie.giraud@pasteur.fr	PF criblage chémogénomique et biologique /Institut Pasteur	Ingénieure de Recherche	Paris
GOUIN	Sebastien	sebastien.gouin@univ-nantes.fr	Nantes Université	DR CNRS	Nantes
GUILLEMONT	Jérôme	Jerome.guillemont1@gmail.com	NOVALIX (Janssen on site)	Directeur scientifique	Val De Reuil
GUILLEMOT	Jean Claude	jean-claude.guillemot@univ-amu.fr	MaSC/AFMB	Pr	Marseille
HA DUONG	NGUYET-THANH	thanh.haduong@u-paris.fr	Université Paris Cité	Maitre de conférence	Paris
HADDAD	Nadia	nadia.haddad@vet-alfort.fr	Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort	Chercheuse	Alfort
HUE	Erika	erika.hue@laboratoire-labeo.fr	Labéo	Ingénieur de recherche	Caen
IMBERT	Isabelle	isabelle.imbert@univ-amu.fr	Laboratoire LISM UMR7255 - Aix Marseille Université & CNRS	Professeur d'université	Marseille
IZOPET	Jacques	izopet.j@chu-toulouse.fr	CHU de Toulouse	Chef de service de virologie, PU-PH	Toulouse
LABOUCHEIX	Emma	laboucheixemma@gmail.com	INSERM INFINITY	Ingénieur d'études	Toulouse
LE FOLL	Mathis	mathis.le-foll@etu.univ-orleans.fr	Université d'Orléans / ICOA UMR CNRS 7311	doctorant	Orleans
LEBRETON	Jacques	Jacques.Lebreton@univ-nantes.fr	CEISAM Nantes Université	PR	Nantes
LHOMME	Sébastien	lhomme.s@chu-toulouse.fr	Infinity- CHU Toulouse	PU-PH	Toulouse
LOQUET	Denis	denis.loquet@univ-nantes.fr	Laboratoire CEISAM	ingénieur	Nantes
LUBIN-GERMAIN	Nadège	nadege.lubin-germain@cyu.fr	CY Cergy-Paris Université Laboratoire BioCIS	Enseignante-Chercheure	Cergy-Pontoise
MANDOVA DEMETRIO	TSVETELINA	tmandova@gilson.com	Gilson Group team Innovation R&D	Senior scientist	Paris
MARCHAND	Sarah	sarah.marchand@chu-nantes.fr	Laboratoire de Virologie CHU Nantes + CR2TI Nantes Université	Assistante hospitalo-universitaire et doctorante	Nantes
MARTIS	Elvis	Elvis.Martis@univ-nantes.fr	US2B, Nantes	Agent contractuel Post Doc	Nantes
MATHÉ-ALLAINMAT	Monique	monique.mathe@univ-nantes.fr	CEISAM UMR-CNRS6230, Nantes Université	CR-CNRS	Nantes
MCILROY	Dorian	dorian.mcilroy@univ-nantes.fr	Nantes Université	MCU	Nantes
MÉDEBIELLE	Maurice	maurice.medebielle@univ-lyon1.fr	ICBMS UMR 5246, Université Claude Bernard Lyon 1	DR CNRS	Villeurbanne

MONTPELLIER	Claire	claire.montpellier@ibl.cnrs.fr	Centre d'Infection et d'Immunité de Lille	Ingénieur de Recherche	Lille
MURIAUX	Delphine	delphine.muriaux@cemipai.cnrs.fr	CNRS Montpellier	Directrice de recherche	Montpellier
NATHALIE	Gros	nathalie.gros@cemipai.cnrs.fr	CEMIPAI UAR3725 CNRS/UM	Ingénieur d'études	Montpellier
PEYROTTE	Suzanne	suzanne.peyrottes@umontpellier.fr	IBMM, UMR5247 CNRS-UM-ENSCM	Directrice de Recherche CNRS	Montpellier
PIELIER	Muriel	muriel.pielier@univ-nantes.fr	CEISAM UMR CNRS 6230 UFR S et T Nantes	Pr	Nantes
PIUMI	François	francois.piumi@vet-alfort.fr	INRAE	IE	Maisons-Alfort
PIZZORNO	Andrés	mario-andres.pizzorno@univ-lyon1.fr	RESPIVIR CIRI U1111 INSERM	Chargé de recherche INSERM	Lyon
PRONOST	Stéphane	stephane.pronost@laboratoire-labeo.fr	LABÉO/Biotargen UNICAEN/IMPEDANCE UNICAEN	Responsable unité recherche	Caen
RACZKIEWICZ	Imelda	imelda.raczkiewicz@ibl.cnrs.fr	Centre d'Infection et d'Immunité de Lille	Post Doctorante	Lille
ROSA-CALATRAVA	Manuel	manuel.rosa-calatrava@univ-lyon1.fr	RESPIVIR CIRI U1111 INSERM	Directeur de recherche INSERM	Lyon
ROUILLE	Yves	yves.rouille@ibl.cnrs.fr	CIIL - Institut Pasteur de Lille	Chercheur	Lille
ROY	vincent	vincent.roy@univ-orleans.fr	C.N.R.S. - ICOA- Université d'Orléans	Enseignant-Chercheur	Orléans
SAILLARD	Evan	evan.saillard@univ-orleans.fr	ICOA UMR CNRS 7311	Doctorant	Orleans
SAMIR	Messaoudi	samir.messaoudi@polytechnique.edu	CNRS-Ecole Polytechnique	Directeur de Recherche	Palaiseau
SERON	Karin	karin.seron@ibl.cnrs.fr	Centre d'Infection et d'Immunité de Lille CNRS UMR9017 - INSERM U1019	Chargé de recherche CNRS	Lille
TARRICONE	Audrey	audrey.tarricone@cnrs.fr	CNRS - CIIL UMR9017	Ingénieur d'études	Lille
TÉLETCHÉA	Stéphane	stephane.teletchea@univ-nantes.fr	US2B, Nantes Université, CNRS, UMR 6296	Maître de conférences	Nantes
TESSIER	Arnaud	arnaud.tessier@univ-nantes.fr	Laboratoire CEISAM _ UMR6230	Chargé de recherche CNRS	Nantes
TOUBLET	François-Xavier	francois-xavier.toublet@unilim.fr	Université de Limoges / LABCiS	Maître de conférences	Limoges
TRAVERSIER	Aurélien	aurelien.traversier@univ-lyon1.fr	RESPIVIR CIRI U1111 INSERM	Lab Manager	Lyon
VOITENKO	Zoia	zoia.voitenko@lcc-toulouse.fr	LCC CNRS	ingenier	Toulouse

WAHL	Clément	clement.wahl@univ-orleans.fr	Université d'Orléans / ICOA UMR CNRS 7311	doctorant	Orleans
ZAYENE	Mayssa	mayssa.zayene@polytechnique.edu	Ecole Polytechnique	Post Doc	Palaiseau