

**THESE  
POUR LE DIPLOME D'ETAT  
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**Soutenue publiquement le 07/01/2026  
Par M. Paul Blanchart**

---

**Utilisation de la synthèse guidée par la cible de manière cinétique en chimie  
médicinale**

---

**Membres du jury :**

**Président :** Dr. Jamal El Bakali (MCU-HDR) INSERM UMR-S1172.

**Directeur, conseiller de thèse :** Pr. Rebecca Deprez-Poulain (PharmD, HDR)  
INSERM U1177.

**Assesseur(s) :** Dr. Vasileios Fougiaxis (PharmD, PhD) INSERM U1177, Dr. Robin  
Dufosse (PharmD, MCU) INSERM UMR-1322.

## Université de Lille

Président  
Premier Vice-président  
Vice-présidente Formation  
Vice-président Recherche  
Vice-président Ressources Humaine  
Directrice Générale des Services

Régis BORDET  
Bertrand DÉCAUDIN  
Corinne ROBACZEWSKI  
Olivier COLOT  
Jean-Philippe TRICOIT  
Anne-Valérie CHIRIS-FABRE

## UFR3S

Doyen  
Premier Vice-Doyen, Vice-Doyen RH, SI et Qualité  
Vice-Doyenne Recherche  
Vice-Doyen Finances et Patrimoine  
Vice-Doyen International  
Vice-Doyen Coordination pluriprofessionnelle et Formations sanitaires  
Vice-Doyenne Formation tout au long de la vie  
Vice-Doyen Territoire-Partenariats  
Vice-Doyen Santé numérique et Communication  
Vice-Doyenne Vie de Campus  
Vice-Doyen étudiant

Dominique LACROIX  
Hervé HUBERT  
Karine FAURE  
Emmanuelle LIPKA  
Vincent DERAMECOURT  
Sébastien D'HARANCY  
Caroline LANIER  
Thomas MORGENROTH  
Vincent SOBANSKI  
Anne-Laure BARBOTIN  
Victor HELENA

## Faculté de Pharmacie

Vice - Doyen  
Premier Assesseur et  
Assesseur à la Santé et à l'Accompagnement  
Assesseur à la Vie de la Faculté et  
Assesseur aux Ressources et Personnels  
Responsable de l'Administration et du Pilotage  
Représentant étudiant  
Chargé de mission 1er cycle  
Chargée de mission 2eme cycle  
Chargé de mission Accompagnement et Formation à la Recherche  
Chargé de mission Relations Internationales  
Chargée de Mission Qualité  
Chargé de mission dossier HCERES

Pascal ODOU  
  
Anne GARAT  
  
Emmanuelle LIPKA  
Cyrille PORTA  
Honoré GUISE  
Philippe GERVOIS  
Héloïse HENRY  
Nicolas WILLAND  
Christophe FURMAN  
Marie-Françoise ODOU  
Réjane LESTRELIN

## Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers (PU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie et Santé publique	81
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie	82
M.	DÉCAUDIN	Bertrand	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
M.	DINE	Thierry	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie	82
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie - Virologie	82
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	ODOU	Pascal	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80

Mme	POULAIN	Stéphanie	Hématologie	82
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	STAELS	Bart	Biologie cellulaire	82

### Professeurs des Universités (PU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	ALIOUAT	Cécile-Marie	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Biophysique - RMN	85
M.	BERLARBI	Karim	Physiologie	86
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie	87
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie	87
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques	87
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Biophysique - RMN	85
Mme	DEPREZ	Rebecca	Chimie thérapeutique	86
M.	DEPREZ	Benoît	Chimie bio inorganique	85
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire	87
M.	ELATI	Mohamed	Biomathématiques	27
M.	FOLIGNÉ	Benoît	Bactériologie - Virologie	87
Mme	FOULON	Catherine	Chimie analytique	85
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie et Santé publique	86
M.	GOOSSENS	Jean-François	Chimie analytique	85
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie	86
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique	86
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques	26
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie cellulaire	87

Mme	LESTRELIN	Réjane	Biologie cellulaire	87
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie analytique	85
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie physique	85
M.	MILLET	Régis	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	MOREAU	Pierre-Arthur	Sciences végétales et fongiques	87
Mme	MUHR-TAILLEUX	Anne	Biochimie	87
Mme	PERROY	Anne-Catherine	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	RIVIÈRE	Céline	Pharmacognosie	86
Mme	ROMOND	Marie-Bénédicte	Bactériologie - Virologie	87
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie	86
M.	SERGHERAERT	Éric	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	WILLAND	Nicolas	Chimie organique	86

#### Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers (MCU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	CUVELIER	Élodie	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
Mme	DANEL	Cécile	Chimie analytique	85
Mme	DEMARET	Julie	Immunologie	82
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie et Santé publique	81
Mme	GENAY	Stéphanie	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
Mme	GILLIOT	Sixtine	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
M.	GRZYCH	Guillaume	Biochimie	82
Mme	HENRY	Héloïse	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
M.	LANNOY	Damien	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	MASSE	Morgane	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
Mme	ODOU	Marie-Françoise	Bactériologie - Virologie	82

**Maîtres de Conférences des Universités (MCU)**

<b>Civ.</b>	<b>Nom</b>	<b>Prénom</b>	<b>Service d'enseignement</b>	<b>Section CNU</b>
M.	ANTHÉRIEU	Sébastien	Toxicologie et Santé publique	86
M.	BANTUBUNGI-BLUM	Kadiombo	Biologie cellulaire	87
M.	BERTHET	Jérôme	Biophysique - RMN	85
M.	BEDART	Corentin	ICPAL	86
M.	BOCHU	Christophe	Biophysique - RMN	85
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie	86
M.	BOSC	Damien	Chimie thérapeutique	86
Mme	BOU KARROUM	Nour	Chimie bioinorganique	
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie	87
Mme	CARON-HOUDE	Sandrine	Biologie cellulaire	87
Mme	CARRIÉ	Hélène	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	CHARTON	Julie	Chimie organique	86
M.	CHEVALIER	Dany	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques	85
M.	DHIFLI	Wajdi	Biomathématiques	27
M.	EL BAKALI	Jamal	Chimie thérapeutique	86
M.	FARCE	Amaury	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	FLIPO	Marion	Chimie organique	86
M.	FRULEUX	Alexandre	Sciences végétales et fongiques	
M.	FURMAN	Christophe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie	87
Mme	GOOSSENS	Laurence	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie et Santé publique	86
M.	HAMONIER	Julien	Biomathématiques	26

Mme	HAMOUDI-BEN YELLES	Chérifa-Mounira	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie	86
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie	87
M.	KAMBIA KPAKPAGA	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	KARROUT	Younes	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie	87
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie analytique	85
Mme	LEHMANN	Hélène	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	LELEU	Natascha	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	LIBERELLE	Maxime	Biophysique - RMN	
Mme	LOINGEVILLE	Florence	Biomathématiques	26
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie	86
M.	MARTIN MENA	Anthony	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	
M.	MENETREY	Quentin	Bactériologie - Virologie	87
M.	MORGENROTH	Thomas	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques	85
M.	PIVA	Frank	Biochimie	85
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie et Santé publique	86
M.	POURCET	Benoît	Biochimie	87
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques / Innovations pédagogiques	85
Mme	RAVEZ	Séverine	Chimie thérapeutique	86
Mme	ROGEL	Anne	Immunologie	
M.	ROSA	Mickaël	Hématologie	87
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie	86
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie	87

Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie - Virologie	87
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie	87
M.	VILLEMAGNE	Baptiste	Chimie organique	86
M.	WELTI	Stéphane	Sciences végétales et fongiques	87
M.	YOUS	Saïd	Chimie thérapeutique	86
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques	85

#### Professeurs certifiés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
Mme	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	HUGES	Dominique	Anglais
Mme	KUBIK	Laurence	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

#### Professeurs Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	BAILLY	Christian	ICPAL	86
M.	DAO PHAN	Haï Pascal	Chimie thérapeutique	86
M.	DHANANI	Alban	Droit et Economie pharmaceutique	86

#### Maîtres de Conférences Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M	AYED	Elya	Pharmacie officinale	
M.	COUSEIN	Etienne	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	
Mme	CUCCHI	Malgorzata	Biomathématiques	85
Mme	DANICOURT	Frédérique	Pharmacie officinale	
Mme	DUPIRE	Fanny	Pharmacie officinale	
M.	DUFOSSEZ	François	Biomathématiques	85
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	85

Mme	GEILER	Isabelle	Pharmacie officinale	
M.	GILLOT	François	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	MITOUMBA	Fabrice	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	86
M.	PELLETIER	Franck	Droit et Economie pharmaceutique	86
M	POTHIER	Jean-Claude	Pharmacie officinale	
Mme	ROGNON	Carole	Pharmacie officinale	

#### Assistants Hospitalo-Universitaire (AHU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	BOUDRY	Augustin	Biomathématiques	
Mme	DERAMOUDT	Laure	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	
M.	GISH	Alexandr	Toxicologie et Santé publique	
Mme	NEGRIER	Laura	Chimie analytique	

#### Hospitalo-Universitaire (PHU)

	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	DESVAGES	Maximilien	Hématologie	
Mme	LENSKI	Marie	Toxicologie et Santé publique	

#### Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherche (ATER)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	BERNARD	Lucie	Physiologie	
Mme	BARBIER	Emeline	Toxicologie	
Mme	COMPAGNE	Nina	Chimie Organique	
Mme	COULON	Audrey	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	
M.	DUFOSSEZ	Robin	Chimie physique	
Mme	FERRY	Lise	Biochimie	
M	HASYEOUI	Mohamed	Chimie Organique	
Mme	HENRY	Doriane	Biochimie	

Mme	KOUAGOU	Yolène	Sciences végétales et fongiques	
M	LAURENT	Arthur	Chimie-Physique	
M.	MACKIN MOHAMOUR	Synthia	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	
Mme	RAAB	Sadia	Physiologie	

#### Enseignant contractuel

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
Mme	DELOBEAU	Iris	Pharmacie officinale
M	RIVART	Simon	Pharmacie officinale
Mme	SERGEANT	Sophie	Pharmacie officinale
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques

#### LRU / MAST

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
Mme	FRAPPE	Jade	Pharmacie officinale
M	LATRON-FREMEAU	Pierre-Manuel	Pharmacie officinale
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique

#### CYCLE DE VIE DU DOCUMENT

Version	Modifié par	Date	Principales modifications
1.0		20/02/2020	Création
2.0		02/01/2022	Mise à jour
2.1		21/06/2022	Mise à jour
2.2		01/02/2024	Mise à jour
2.3		15/11/2024	Mise à jour
2.4		18/02/2025	Mise à jour

**L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs.**

# Remerciements

Pour commencer, je souhaite remercier Pr. Rebecca Deprez-Poulain, qui m'a guidé pour ce travail. Ses conseils avisés et son expertise ont permis à ce travail de gagner en qualité. Je la remercie pour ses remarques constructives et sa relecture sur cette revue. Ma collaboration avec Pr. Deprez-Poulain s'étend également à une thèse de sciences, je suis honoré de pouvoir réaliser ces travaux avec elle.

Je remercie également Dr. Damien Bosc, qui m'a apporté ses avis et remarques. Nos discussions autour de la KTGS m'ont été précieuses pour la construction de figures et la clarification de concepts. Depuis mon tout premier stage de recherche dans son équipe en juillet 2021, Dr. Bosc a fait partie des personnes qui m'ont donné envie de poursuivre mon parcours en recherche.

Cette thèse d'exercice représente une étape majeure dans mon parcours académique, bien que n'étant pas une fin en soi. Pour cela, je souhaite remercier l'ensemble des enseignants ayant intervenu dans mon cursus, chacun apportant sa part dans la personne que je suis aujourd'hui. Parmi ces personnes, je souhaite citer certaines qui m'ont marqué : Pr. Benoit Deprez, Dr. Marion Flipo, Pr. Nicolas Lebègue, Pr. Philippe Chavatte. Je remercie également l'ensemble des personnes m'ayant encadré durant mes différents stages.

Ce travail ainsi que mon parcours n'auraient été possibles sans ma famille qui m'a transmis ses valeurs. Leur présence dans les moments de doute ou de difficultés, m'a permis de traverser de multiples épreuves.

# Utilisation de la KTGS en chimie médicinale

## Table des matières

1	KTGS : définition, principes et positionnement.....	12
1.1	Définition de la KTGS .....	12
1.2	Fondement théorique et méthodologique de la KTGS.....	13
1.3	Positionnement de la stratégie de KTGS dans un projet de chimie médicinale.....	17
2	Expériences de KTGS de 2019 à 2025, une analyse critique.....	20
2.1	Vers une diversification des réactions biocompatibles utilisées .....	20
2.2	Les cibles explorées par KTGS répondent à un besoin médical .....	22
2.3	Le design d'expériences de KTGS : modalité, taille, cible et détection .....	26
2.3.1	Le design binaire prédomine toujours.....	26
2.3.2	L'utilisation de cibles isolées reste la norme .....	28
2.3.3	Détection des ligands : de la LC-MS vers de nouvelles stratégies.....	28
2.4	Points d'ancrage en KTGS : origines et propriétés physico-chimiques.....	30
2.5	Propriétés physico-chimiques des ligands issus de KTGS.....	33
3	Études de cas de KTGS .....	35
3.1	La KTGS combinée à une réaction de photochimie .....	35
3.2	La KTGS en cellule ciblant des ARNs et utilisant la fluorescence.....	38
3.3	La KTGS combinée à une chimiothèque encodée par ADN (DECL) .....	41
3.4	La chimie click réalisée <i>in vivo</i> en clinique .....	44
4	Conclusion.....	48
	Bibliographie.....	50
	Annexes.....	52

# 1 KTGS : définition, principes et positionnement

## 1.1 Définition de la KTGS

La KTGS (*kinetic target-guided synthesis*) pour « synthèse guidée par la cible de manière cinétique » est une stratégie utilisée en chimie médicinale pour découvrir de nouveaux ligands de cibles thérapeutiques, qu'il s'agisse de protéines ou d'autres biomolécules. La cible thérapeutique, à partir de précurseurs biocompatibles assemble ses propres ligands. Ceux qui disposent de la meilleure affinité vont pouvoir se placer au sein de la cible thérapeutique. Si ces précurseurs sont dans une bonne orientation et à proximité les uns des autres, ils pourront réagir selon une réaction biocompatible. La réaction biocompatible la plus favorable est donc catalysée par la cible thérapeutique (voir **Figure 1**). Dans le cadre de la KTGS, il s'agit d'une approche cinétique qui met en jeu une réaction irréversible. Ainsi les précurseurs dont la réaction biocompatible se produit le plus rapidement produira le plus grand nombre de ligands qui seront ensuite détectés par des techniques analytiques. La grande majorité des stratégies de KTGS utilise la spectrométrie de masse<sup>1</sup> pour détecter ces ligands issus de la KTGS. Cependant, des exemples récents ont montré la mise en œuvre d'approche par fluorescence<sup>2</sup> ou encore par utilisation de tests biochimiques<sup>3</sup>.

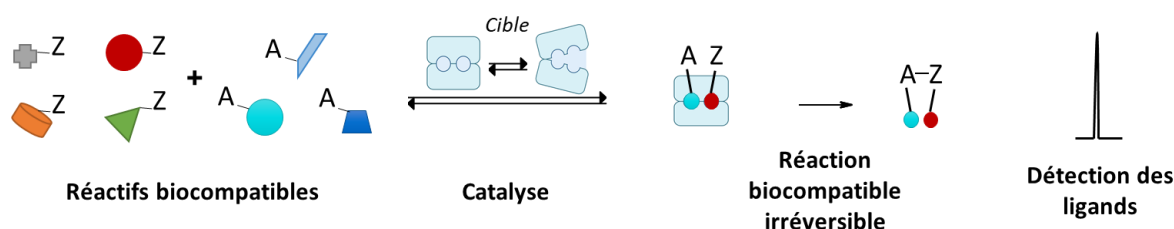


Figure 1 : Principe général de la KTGS.

Une chimiothèque de précurseurs biocompatibles est mise en contact avec la cible. Certains précurseurs selon leurs affinités, orientations et proximités au sein de la cible réagissent selon une réaction biocompatible irréversible. Des ligands sont ensuite détectés par des méthodes analytiques. Ce schéma présente la cycloaddition entre un alcyne (A) et un azoture (Z) formant un triazole pour illustrer la stratégie KTGS. Utilisation de contenus de Biorender©.

<sup>1</sup> Bosc, *et al.*, *J. Med. Chem.*, 2020, 63, 3817-3833.

<sup>2</sup> Angelbello, *et al.*, *ACS Chemical Biology*, 2020, 15, 1820-1825. Cui, *et al.*, *Analytical Chemistry*, 2024, 96, 15414-15421. Du, *et al.*, *Chem. Sci.*, 2019, 10, 10343-10350.

<sup>3</sup> Wamser, *et al.*, *Chem. Eur. J.*, 2024, 30, e202303940. Tauber, *et al.*, *Angew Chem. Int. Ed.*, 2021, 60, 13294-13301. Du, *et al.*, *Chem. Sci.*, 2019, 10, 10343-10350. Miyake, *et al.*, *ACS Catalysis*, 2020, 10, 5383-5392.

## 1.2 Fondement théorique et méthodologique de la KTGS

Dans une majorité des expériences de KTGS, une partie des **précurseurs biocompatibles** utilisés possède une certaine affinité au site thérapeutique de la cible afin d'augmenter les chances d'obtenir une catalyse de la réaction biocompatible spécifique de la cible. Ils possèdent des motifs connus pour se lier à la cible, appelés *warheads*. Ces *warheads* peuvent être dérivés de ligands connus, de médicaments commercialisés ou de précédentes études sur la cible. Cependant, une récente approche *shotgun*<sup>4</sup> montre qu'il est parfois possible de découvrir des ligands en utilisant des précurseurs dépourvus d'*a priori*.

La **réaction chimique** entre les précurseurs est l'un des critères déterminant de la mise en œuvre de la KTGS<sup>5</sup>. Cette réaction doit être biocompatible, c'est-à-dire pouvant se réaliser dans un contexte biologique compatible avec la cible thérapeutique : dans un milieu aqueux, à pH physiologique et dans des températures ne dénaturant pas la cible thérapeutique. Cette réaction doit également se produire qu'avec la présence d'une catalyse. Il faut donc une barrière énergétique suffisante à la formation du produit<sup>6</sup>, pour limiter la formation de produits en l'absence de cible (voir **Figure 2.1**), mais suffisamment basse pour que la cible puisse réaliser la catalyse. Les paramètres de concentration en précurseurs et de température sont essentiels à explorer pour optimiser la cinétique de la réaction bioorthogonale mise en jeu.

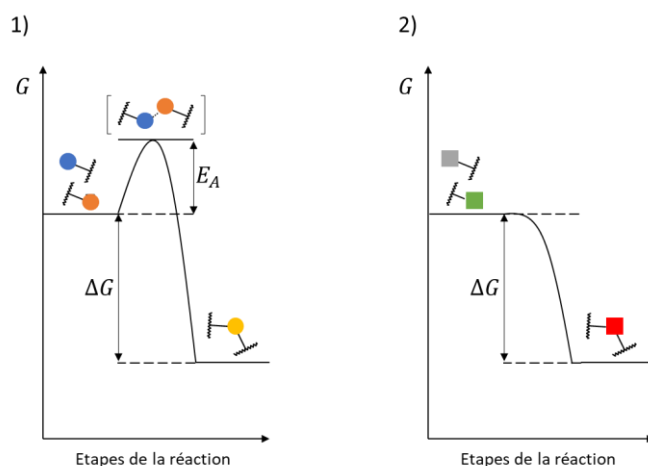


Figure 2 : Diagrammes d'énergie de deux types de réactions.

À gauche (1) le diagramme d'une réaction utilisable en KTGS, disposant d'une barrière énergétique  $E_a$ . À droite (2) le diagramme d'une réaction rapide non utilisable en KTGS car ne nécessitant pas de catalyse.

<sup>4</sup> Kassu, *et al.*, ACS Infectious Diseases., 2023, 9, 2190-2201.

<sup>5</sup> Parvatkar, *et al.*, Trends in Chemistry., 2023, 5, 657-671.

<sup>6</sup> Puteaux *et al.*, Angew. Chem. Int. Ed., 2024, 63, e202407888.

Il est important de prendre en compte **l'effet de la formation de la liaison** entre les deux précurseurs. Dans certains cas, le lien entre les précurseurs participe à l'affinité pour la cible en créant de nouvelles interactions moléculaires, l'affinité du produit de la KTGS sera, dans ce cas, supérieure au produit de l'affinité de ses précurseurs. Cependant, ce lien peut également être détrimentaire pour l'affinité à la cible, dû à la diminution du degré de liberté du système (paramètre d'entropie) ou à des interactions moléculaires défavorables, dans ce cas l'affinité du produit de la KTGS sera inférieure au produit de l'affinité de ses précurseurs. L'aspect favorable ou défavorable dépend en effet de la variation et de la compensation des paramètres enthalpiques et entropiques à une température donnée avec et sans cette liaison.

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

Si  $< 0$  : liaison à la cible spontanée
Reflet de la variation du degré de liberté du système

Reflet de la variation des interactions moléculaires avec la cible et le solvant

Figure 3 : Expression de la variation d'enthalpie libre en fonction de la température  $T$ , de la variation d'enthalpie  $H$  et de la variation d'entropie  $S$ .

Ainsi, l'affinité du produit de la KTGS peut être approché par les formules suivantes.

On pose  $\Delta G_{1-2} \text{ théor.}$  la différence d'énergie libre théorique du complexe formé par la cible et le ligand issu de la KTGS,  $K$  la constante d'équilibre cible-molécule (paramètre d'affinité),  $K_1$  et  $K_2$  les deux précurseurs KTGS,  $\alpha$  l'effet de la liaison entre les deux précurseurs,  $R$  la constante des gaz parfaits et  $T$  la température.

$$\Delta G_{1-2} \text{ théor.} \approx \Delta G_1 + \Delta G_2 = -RT \ln K_1 - RT \ln K_2$$

$$\Rightarrow \ln K_{1-2} \approx \ln K_1 + \ln K_2$$

$$\Rightarrow K_{1-2} \approx e^{(\ln K_1 + \ln K_2)} = K_1 \times K_2$$

L'effet de la liaison entre les précurseurs pondère ce produit en fonction des paramètres thermodynamiques expliqués plus haut. Ainsi l'affinité du produit de KTGS peut être approchée par le produit suivant :

$$K_{1-2} \approx K_1 \times K_2 \times \alpha$$

Des **contrôles analytiques** (voir **Figure 4**) utilisant un tampon<sup>7</sup>, une protéine différente de la cible<sup>8</sup>, la dénaturation de la cible, la mutagenèse du site thérapeutique ou la présence d'inhibiteur du site thérapeutique<sup>9</sup> permettent de s'assurer de la spécificité de la catalyse par la cible. Ces contrôles négatifs sont réalisés en parallèle de la KTGS, parfois accompagnés de contrôles synthétiques (échantillons authentiques de produits<sup>10</sup>, catalyse métallique<sup>11</sup>) afin de faciliter l'identification de ligands.

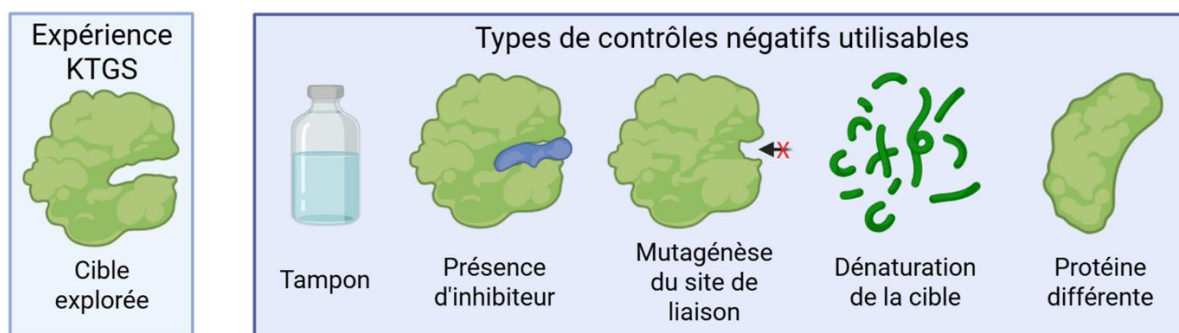


Figure 4 : Schéma des différents types de contrôles négatifs utilisables en KTGS. Réalisé avec Biorender©.

Plusieurs **designs de KTGS** sont possibles<sup>1</sup> : la KTGS binaire, la KTGS multicomposante et la KTGS orthogonale.

- Le plus simple d'entre eux est le **design binaire** (voir **Figure 5.1**). La cible sera mise en présence d'une seule combinaison de précurseurs biocompatibles, il n'y a pas de phénomènes de compétitions entre les précurseurs. La KTGS binaire est parfois utilisée pour confirmer l'obtention d'un ligand de KTGS lors de l'utilisation d'un design multicomposante, où plusieurs précurseurs sont en compétition les uns avec les autres pour former des ligands (voir **Figure 5.2**).
- Le **design d'expérience multicomposante** est intéressant, car il représente un gain d'efficacité logistique et en termes de consommation de cible (plusieurs précurseurs et combinaisons sont testés au sein d'un même puits). Cependant, il est parfois inadapté, car il peut éclipser la formation d'une petite quantité de produit à cause de la compétition entre précurseurs. En effet, si une combinaison est majoritaire, ses précurseurs correspondants seront consommés rapidement et ne pourront réagir au sein des autres combinaisons. Sur la

<sup>7</sup> Camberlein *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2022, 61, e202203560. Cui *et al.*, *Analytical Chemistry.*, 2024, 96, 15414-15421.

<sup>8</sup> Kugler *et al.*, *RSC Med. Chem.*, 2023, 14, 144-153. Petrilli *et al.*, *Cell Chemical Biology.*, 2020, 26, 32-40.

<sup>9</sup> Mancini *et al.*, *Chem. Eur. J.*, 2020, 26, 14585-14593. Puteaux *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2024, 63, e202407888.

<sup>10</sup> Huang *et al.*, *Chem. Commun.*, 2024, 60, 12722-12725. Molęda *et al.*, *Bioorg. Med. Chem.*, 2021, 42, 116269.

<sup>11</sup> Miyake *et al.*, *ACS Catalysis.*, 2020, 10, 5383-5392. Zhou *et al.*, *Nat. Chem.*, 2024, 16, 543-555.

**Figure 5.2**, la combinaison ‘bleu-rouge’ n’est pas observable, car l’azoture ‘bleu’ est consommé majoritairement par la combinaison ‘bleu-jaune’.

- Afin de combiner les avantages du design binaire et celui de design multicomposante, un **design par clusters orthogonaux** est parfois utilisé. Il s’agit de la création de plusieurs clusters de précurseurs. Chaque précurseur est présent dans plusieurs clusters, réduisant ainsi le risque d’occulter certaines combinaisons (voir **Figure 5.3**). En effet, si dans un puits une combinaison est occultée par la formation majoritaire d’une autre combinaison (cas de la combinaison ‘bleu-rouge’ occultée dans le puits à droite par la combinaison ‘bleu-jaune’), dans un autre puits cette combinaison pourra être observée en l’absence de l’un des précurseurs de la combinaison majoritaire (cas de l’absence de l’alcyne ‘jaune’ dans le puits à gauche).

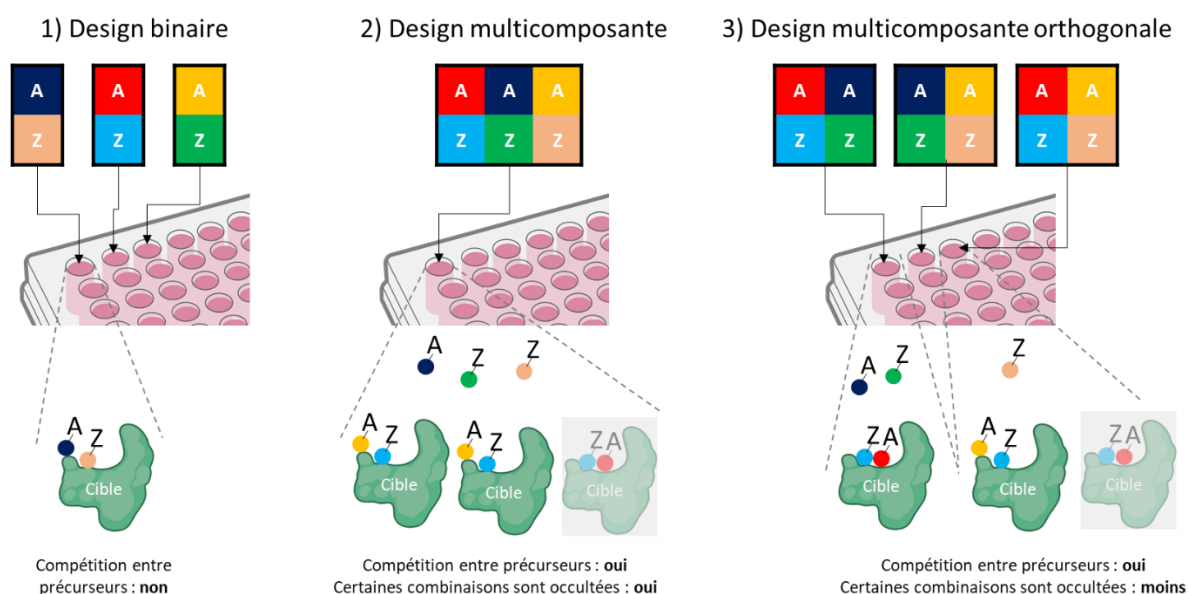


Figure 5 : Différents designs d’expériences de KTGS, illustrés par l’exemple de la cycloaddition entre un azoture et un alcyne. Z représente des azotures et A des alcynes. À droite (1) le design binaire : une combinaison de précurseurs par puits (absence de compétition). Au centre (2) le design multicomposante : plusieurs combinaisons par puits impliquent une compétition entre précurseurs, certaines combinaisons sont occultées comme la combinaison ‘bleu-rouge’. À gauche (3) le design multicomposante orthogonale : chaque précurseur est présent dans plusieurs puits. Il y a moins de chance d’occulter une combinaison dans chacun des puits : la combinaison ‘bleu-rouge’ est observable dans un puits en l’absence de l’alcyne ‘jaune’. Réalisé avec Biorender©.

### 1.3 Positionnement de la stratégie de KTGS dans un projet de chimie médicinale

La KTGS permet de réaliser des « criblages » de chimiothèques focalisées ou généralistes de précurseurs. C'est une stratégie qui peut être utilisée en amont d'une campagne d'optimisation pour découvrir de nouveaux pharmacophores<sup>12</sup> ou encore lors de l'optimisation de hits pour explorer rapidement les relations structure-activité<sup>13</sup>. Il s'agit avant tout d'une approche à l'interface de la biologie, à l'étape préclinique *in vitro* dans la plupart des cas.

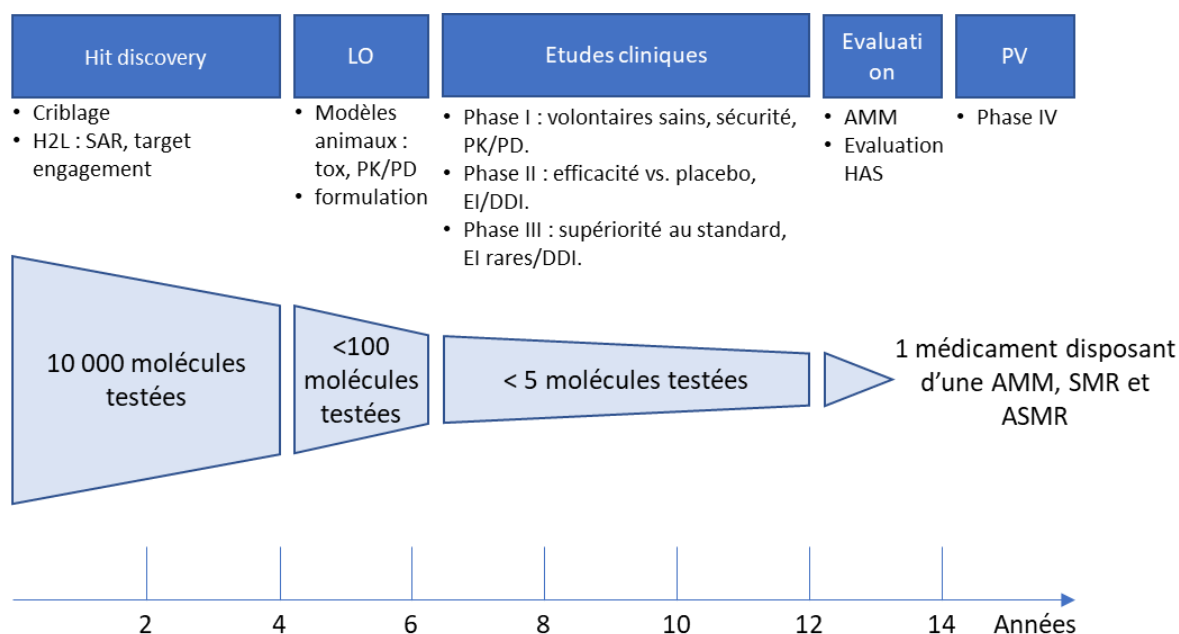


Figure 6 : Grandes étapes de la découverte et du développement du médicament.

La KTGS est utilisée au niveau du drug discovery dans les premières étapes de la découverte du principe actif.

H2L : Hit à lead, SAR : relations structure-activité, LO : optimisation de leads, tox : toxicologie, PK/PD : pharmacocinétique-pharmacodynamie, EI : effets indésirables, DDI : interactions médicament-médicament, AMM : autorisation de mise sur le marché, HAS : Haute Autorité de Santé, PV : pharmacovigilance. Adapté du site web « Synergie Lyon Cancer ».<sup>14</sup>

Parmi les avantages de l'utilisation de cette stratégie, on compte la possibilité de mettre en évidence des ligands de conformations minoritaires ou non cristallisées de cibles thérapeutiques. Effectivement, un grand nombre de macromolécules ciblées par les petites molécules thérapeutiques sont flexibles (voir **Figure 7**). Utiliser uniquement une approche rationnelle par des données cristallographiques occulte une grande partie des interactions potentielles avec la cible thérapeutique. La KTGS est une approche en solution qui permet

<sup>12</sup> Camberlein *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2022, 61, e202203560.

<sup>13</sup> Petrilli *et al.*, *Cell Chemical Biology.*, 2020, 26, 32-40.

<sup>14</sup> Synergie Lyon Cancer (2013) - "Le parcours du médicament" Publié en ligne à [synergielyoncancer.fr](https://www.synergielyoncancer.fr). Récupéré de : '<https://www.synergielyoncancer.fr/les-enjeux/le-parcours-du-medicament>' [Ressource en ligne].

d'explorer l'ensemble des conformations potentielles de la cible par les précurseurs biocompatibles de la KTGS.

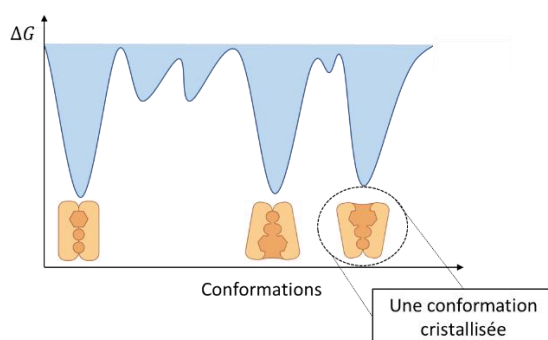


Figure 7 : Diagramme d'énergie des différentes conformations potentielles d'une cible. L'une des conformations a été cristallisée, toutes les conformations sont accessibles en solution ou dans le contexte physiologique. Réalisé avec Biorender©.

De plus, la KTGS fait appel à des précurseurs pouvant produire un grand nombre de combinaisons. Ceci permet d'explorer une diversité chimique de ligands importante sans devoir isoler chacune des combinaisons par synthèse chimique ou développer un test biochimique à haut débit. La KTGS représente donc une stratégie innovante permettant aussi un gain d'efficacité, car c'est la cible thérapeutique qui sélectionne ses propres ligands.

Bien que présentant de nombreux avantages, la KTGS présente des **challenges** en termes de production/stabilité de la cible d'intérêt, d'analyse et de transposition de la formation du ligand en activité biologique.

- Dans beaucoup des découvertes par KTGS, **la cible est utilisée en grande quantité**, parfois équimolaire aux précurseurs afin de garantir une réponse suffisante. Cela pose un frein lorsque la cible est difficile à produire ou à isoler. On compte néanmoins un certain nombre de KTGS utilisant des quantités catalytiques de cible thérapeutique.<sup>15</sup> La quantité de cible nécessaire est variable suivant la nature de celle-ci. De plus, certaines cibles ne sont pas toujours compatibles avec les conditions de la KTGS (température, pH, ...). Ces propriétés nécessitent des étapes d'optimisation. Par exemple, l'utilisation de la séléno-click, permet de réaliser avec efficacité une KTGS à 4°C.<sup>16</sup>

<sup>15</sup> Camberlein, *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2022, 61, e202203560. Cui, *et al.*, *Analytical Chemistry*, 2024, 96, 15414-15421. Molęda, *et al.*, *Bioorg. Med. Chem.*, 2021, 42, 116269. Nozal, *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2021, 60, 19344-19354. Tauber, *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2021, 60, 13294-13301.

<sup>16</sup> Huang, *et al.*, *Chem. Commun.*, 2024, 60, 12722-12725.

- **La détection de ligands** peut parfois représenter un challenge. L'utilisation de spectrométrie de masse de haute résolution permet très souvent d'obtenir des limites de détection suffisantes pour mettre à l'identification des ligands.

- Il faut également rappeler que la KTGS met en évidence des ligands, ces derniers ne disposent pas toujours d'activités pharmacologiques. Cette **différence entre la formation du ligand** par la cible d'intérêt et **son activité biologique** peut s'expliquer par :

- L'affinité n'est pas toujours corrélée avec l'activité. Par exemple, la liaison du ligand à sa cible n'occasionne pas de changement de conformation de celle-ci.
- Le site dans lequel se réalise la formation du ligand peut être un site n'ayant pas d'impact pharmacologique désiré, formant par exemple des activateurs au lieu d'inhibiteurs.
- Dans le cas des enzymes par exemple, un état de transition de la réaction dispose de l'activité, mais pas le produit de la réaction en lui-même.

D'autres stratégies guidées par la cible existent, la plus connue est la DCC (*dynamic combinatorial chemistry*) pour « chimie combinatoire dynamique ». Dans ce cas, la formation du ligand ne fait plus appel à une réaction irréversible, mais réversible. On observe l'apparition du ligand par enrichissement du milieu grâce au déplacement de l'équilibre thermodynamique entre précurseurs biocompatibles et produits finis, médié par la cible d'intérêt (voir **Figure 8.2**). La DCC met en évidence les produits de réaction thermodynamiquement les plus stables.

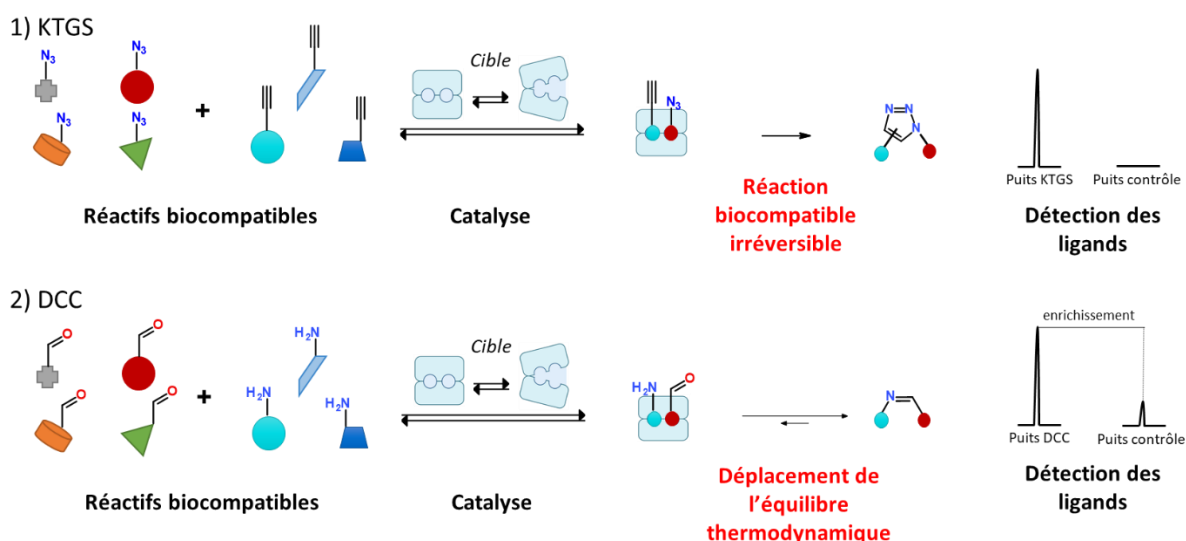


Figure 8 : Comparaison de la stratégie KTGS (1) à la DCC (2).

L'exemple de la cycloaddition entre un alcyne et un azoture formant un triazole a été choisi pour illustrer la KTGS. L'exemple de la formation d'imines à partir d'amines et d'aldéhydes a été choisi pour illustrer la DCC. Dans le cadre de la KTGS, les précurseurs utilisés réagissent selon une réaction irréversible, la cinétique de la réaction est mise en évidence. Dans le cadre de la DCC, les précurseurs utilisés réagissent selon une réaction réversible, un déplacement de l'équilibre thermodynamique est mis en évidence. Utilisation de contenus de Biorender©.

## 2 Expériences de KTGS de 2019 à 2025, une analyse critique

La réaction qui a popularisé l'utilisation de la KTGS est une expérience réalisée sur l'acétylcholinestérase publiée en 2002<sup>17</sup>. L'équipe de Pr. B. K. Sharpless a mis en évidence que cette protéine est capable d'assembler des précurseurs afin de former un dérivé triazole ayant un  $K_d$  pour cette cible de l'ordre du femtomolaire, permettant ainsi la découverte d'inhibiteurs de forte affinité. La stratégie employée dans ce projet est la fusion de deux précurseurs, chacun ayant une affinité sur une partie différente de la protéine, permettant de multiplier leurs affinités. Depuis les premières expériences de KTGS publiées, plusieurs innovations ont été réalisées. On compte par exemple l'application de cette stratégie à un contexte *in vivo*<sup>18</sup>, l'évolution du format binaire à un format multicomposante<sup>19</sup>, la découverte de nouvelles réactions biocompatibles utilisables<sup>16</sup> ainsi que les progrès de détection de ligands par l'utilisation de la spectrométrie de masse à haute résolution.

De 2019 à 2025, 26 articles décrivant une KTGS ont été publiés dans des journaux à comité de lecture. Il faut cependant noter l'utilisation de cuivre dans les puits contenant la cible pour trois publications<sup>20</sup>. L'utilisation de ce métal est parfois justifiée, tel que dans l'article de l'équipe du Pr. X. Qu<sup>21</sup> le cuivre reproduisant ici les conditions physiopathologiques de la maladie d'Alzheimer. Dans les deux autres cas, ce choix a été réalisé du fait de l'absence de formation de ligands dans les conditions standards. Ce métal possède des propriétés catalytiques intrinsèques, l'assemblage des précurseurs KTGS n'est donc plus totalement réalisé par la cible thérapeutique.

### 2.1 Vers une diversification des réactions biocompatibles utilisées

Différentes réactions biocompatibles sont utilisables en KTGS. La réaction utilisée doit disposer de propriétés thermodynamiques adaptées ainsi que d'être compatible avec la mise en œuvre de la KTGS, en contact avec la cible thérapeutique. Selon l'espace disponible au sein du site thérapeutique, il est possible de former des hétérocycles ainsi que des bicycles (en bleu

---

<sup>17</sup> Lewis, *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2002, 41, 1053-1057.

<sup>18</sup> Xie, *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2024, e202421713.

<sup>19</sup> Krasinski, *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, 127, 6686-6692.

<sup>20</sup> Cui *et al.*, *Analytical Chemistry*, 2024, 96, 15414-15421. Du *et al.*, *Chem. Sci.*, 2019, 10, 10343-10350. Pomeislová *et al.*, *ChemistryOpen*, 2020, 9, 1236-1250.

<sup>21</sup> Du *et al.*, *Chem. Sci.*, 2019, 10, 10343-10350.

dans la **Figure 9**). Ces approches utilisent la réaction de Diels-Alder à demande électronique inverse ou la cycloaddition entre un azoture et un alcyne. Selon le type de substrat utilisé, il est ainsi possible d'avoir au sein de ces précurseurs 2 à 3 points d'introduction de diversité chimique.

D'autres réactions sont également utilisées, permettant l'introduction d'une diversité chimique et d'une réactivité différente (en vert dans la **Figure 9**) : réaction de séléno-click, réaction de Ugi à quatre composantes, condensation de Knoevenagel, photochimie.

- La **réaction de séléno-click**<sup>16</sup> a été récemment utilisée en KTGS pour la première fois. L'un de ses intérêts réside dans les conditions de sa mise en œuvre, cette réaction pouvant être utilisée en KTGS à 4°C. Les cibles thérapeutiques pouvant dans certains cas se dégrader à température ambiante, cette réaction rend accessible l'exploration par KTGS de telles cibles thérapeutiques.
- La **réaction de Ugi à quatre composantes**, a récemment été utilisée lors d'expériences de KTGS explorant trois cibles thérapeutiques (endothiapepsine et DnaN<sup>22</sup>, Mpro de SARS-CoV-2<sup>23</sup>). Elle permet de disposer de quatre points d'introduction de diversité chimique et donc de déployer au sein de la poche du site thérapeutique quatre points d'ancrage.
- La **condensation de Knoevenagel** a été utilisée pour explorer la protéase 3C de l'entérovirus D68<sup>24</sup>, cette réaction permet de réaliser une liaison carbone-carbone, formant un alcène. Le lien entre les deux précurseurs est ici très court (deux atomes) par rapport à la réaction de Ugi à quatre composantes (cinq atomes). L'usage d'un lien court ou d'un bicycle dépend essentiellement de la poche du site thérapeutique et de sa tolérance stérique.
- L'utilisation de la **photochimie** au sein de la KTGS a récemment été mise en œuvre<sup>6</sup> permettant de réduire les temps d'incubation à quelques minutes. Cette approche est particulièrement utile dans le cas de l'exploration d'une cible disposant d'une stabilité limitée lors d'incubations.

Dans les publications d'expériences de KTGS, la cycloaddition entre un azoture et un alcyne est utilisée dans presque la moitié des cas du fait de sa grande efficacité et de la grande quantité d'expériences décrites. La tendance actuelle est cependant à la diversification des réactions biocompatibles utilisées afin d'apporter de la diversité chimique supplémentaire ou de dépasser des limitations techniques pour atteindre des cibles thérapeutiques jusqu'alors

---

<sup>22</sup> Mancini *et al.*, Chem. Eur. J., 2020, 26, 14585-14593.

<sup>23</sup> Wamser *et al.*, Chem. Eur. J., 2024, 30, e202303940.

<sup>24</sup> Tauber *et al.*, Angew. Chem. Int. Ed., 2021, 60, 13294-13301.

difficilement explorables en KTGS. En effet, en 2019, la revue publiée par l'équipe de Bosc *et al.*<sup>1</sup> rapportait l'utilisation de la cycloaddition 1,3 dipolaire entre un azoture et un alcyne dans 76% des cas, ce qui représente ainsi une différence de 20% avec les études publiées entre 2019 et 2025.

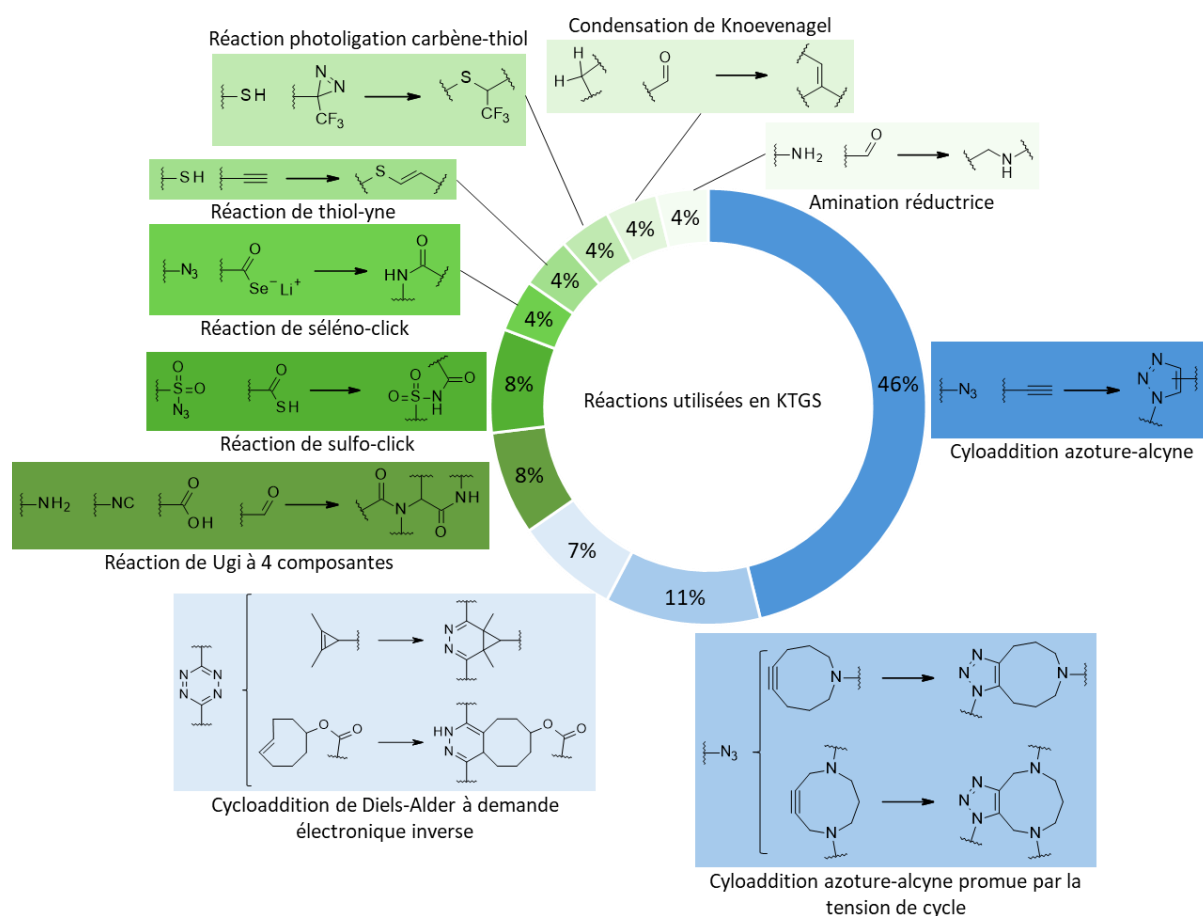


Figure 9 : Ensemble des réactions biocompatibles utilisées dans les publications d'expériences de KTGS de 2019 à 2025. En bleu les réactions formant des hétérocycles, en vert le reste des réactions utilisées en KTGS.

## 2.2 Les cibles explorées par KTGS répondent à un besoin médical

Dans la moitié des cas, les cibles explorées par KTGS sont des enzymes (en vert sur la **Figure 10**). L'exploration de cibles difficilement accessibles par les petites molécules telles que les interfaces protéine-protéine et les acides nucléiques représente l'autre moitié des cibles explorées par KTGS. Cette tendance est à mettre en comparaison avec les cibles explorées par les molécules disposant d'une autorisation de mise sur le marché<sup>25</sup>. L'une des différences notables est l'absence d'exploration de récepteurs par la KTGS, ces derniers étant difficilement

<sup>25</sup> Bakan, *et al.*, *Curr. Med. Chem.*, 2008, 15, 2536-2544.

explorables par KTGS sur cible isolée du fait de contraintes techniques. La KTGS a tendance, de façon plus importante, à être utilisée pour explorer des cibles innovantes difficilement accessibles par design traditionnel (interfaces protéine-protéine et acides nucléiques). Si l'on compare cette tendance aux données publiées par l'équipe de Bosc *et al.*<sup>1</sup> on observe que les enzymes étaient également la part majoritaire des cibles explorées par KTGS (73% jusqu'en 2019) mais que cette proportion a diminué de 2019 à 2025 (52%) face à l'augmentation de l'exploration d'interface protéine-protéine (8% jusqu'en 2019 à 33% de 2019 à 2025) et l'augmentation de l'exploration d'acides nucléiques (4% jusqu'en 2019 à 15% de 2019 à 2025). De plus, de 2019 à 2025, il n'y a pas eu d'études de KTGS ciblant des canaux ou des facteurs de transcriptions.

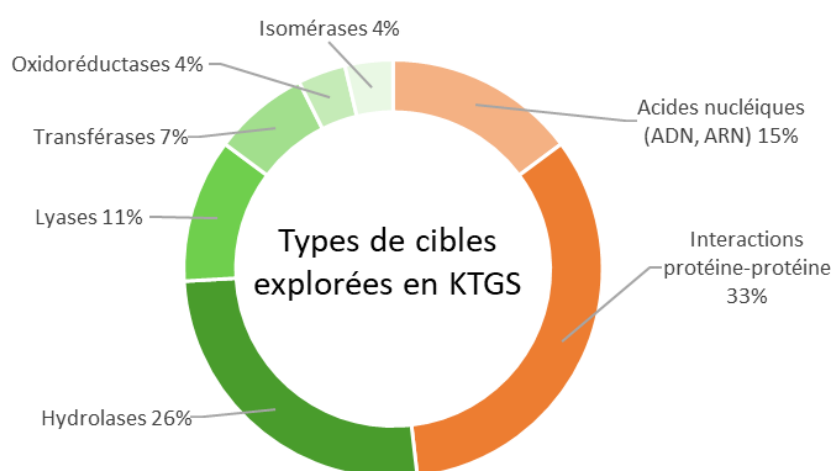


Figure 10 : Répartition des types de cibles explorées en KTGS.  
En vert la répartition des classes d'enzymes.

Plusieurs cibles thérapeutiques ont été explorées par KTGS par le passé et incluses dans une précédente revue<sup>1</sup>. Certaines de ces cibles ont récemment été réexplorées par KTGS, avec l'apport d'innovations : l'anhydrase carbonique II (bCAII), l'endothiapepsine, hBcl-XL, BACE1, STAT5.

- **L'anhydrase carbonique II (bCAII)** avait été explorée en utilisant la cycloaddition 1,3 dipolaire entre un azoture et un alcyne<sup>26</sup> permettant la formation de liens triazoles et en utilisant la réaction d'addition de thiol-Michael<sup>27</sup> permettant la formation de thioéthers.

<sup>26</sup> Mocharla, *et al.*, *Angew. Chem.*, 2005, Int. Ed. 44, 116-120. Mocharla, *et al.*, *ChemMedChem.*, 2013, 8, 43-48. Nguyen, *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2001, 40, 1774-1776. Antti, *et al.*, *ACS Med. Chem. Lett.*, 2018, 9, 4, 351-353.

<sup>27</sup> Oueis, *et al.*, *Chem. Commun.*, 2014, 50, 2043-2045.

Récemment, bCAII a été explorée utilisant la réaction de thiol-yne permettant la formation de sulfure d'alcényles<sup>28</sup> et par photoligation avec des précurseurs carbènes permettant la formation de thioéthers<sup>6</sup>.

- Dans le cas de **l'endothiapsine**, une première KTGS avait été réalisée utilisant la cycloaddition 1,3 dipolaire entre un azoture et un alcyne<sup>29</sup> permettant la formation de triazoles. En 2020, cette même cible a été réexplorée utilisant la réaction de Ugi à quatre composants, permettant l'introduction de liens *dipeptide-like*<sup>22</sup>.
- **hBcl-XL** avait été explorée par une réaction de sulfoclick<sup>30</sup> en utilisant des précurseurs dérivés d'inhibiteurs connus. La même équipe de recherche a poursuivi ses travaux en utilisant hBcl-XL comme modèle d'optimisation pour réaliser une KTGS multicomposante (criblage de 190 combinaisons par puits) sur Mcl-1<sup>31</sup>. Une autre équipe de recherche a également étudié hBcl-XL dans le cadre d'une KTGS par cycloaddition alcyne-azoture régiosélective promue par tension de cycle (iSPAAC) par l'utilisation de précurseurs azacyclonon-5-yne formant des bicycles dérivés du triazole<sup>32</sup>.

Ces nouvelles approches apportent de la diversité dans les réactions biocompatibles utilisées, permettant l'introduction de nouvelles liaisons entre précurseurs et d'une nouvelle réactivité. D'autres équipes ont réexploré des cibles en réalisant des innovations au niveau du design de leurs expériences de KTGS : utilisation de la KTGS couplée au principe de *multi target drugs*, KTGS au sein de cellules, utilisation de la KTGS couplée à une chimiothèque encodée par ADN.

- Une équipe de recherche a réexplorée BACE1 dans le but de développer des **molécules dirigées contre plusieurs cibles** (MTDs)<sup>33</sup> impliquées dans la maladie d'Alzheimer (GSK3b, LRRK2, CK1d). Dans ce cadre, la stratégie utilisée implique des précurseurs KTGS ayant une affinité pour ces différentes cibles.
- STAT5 avait été explorée par une réaction de Mannich formant des amino-carbonyles<sup>34</sup> sur un panel de 14 combinaisons. Récemment Zhou *et al.*<sup>35</sup> ont publié une expérience de KTGS ciblant STAT5b utilisant une **chimiothèque encodée par ADN** (utilisant une cycloaddition entre un azoture et un alcyne) composés de plusieurs millions de précurseurs.

---

<sup>28</sup> Lossouarn, *et al.*, Chem. Eur. J., 2022, 28, e202202180.

<sup>29</sup> Mondal, *et al.*, Chem. Eur. J., 2016, 22, 14826-14830.

<sup>30</sup> Hu, *et al.*, J. Am. Chem. Soc., 2008, 130, 13820-13821.

<sup>31</sup> Nacheva, *et al.*, J. Med. Chem., 2023, 66, 5196-5207.

<sup>32</sup> Brauer, *et al.*, Chem. Eur. J., 2022, 28, e202202259.

<sup>33</sup> Nozal, *et al.*, Angew. Chem. Int. Ed., 2021, 60, 19344-19354.

<sup>34</sup> Wong, *et al.*, Nat. Commun., 2019, 10, 66.

<sup>35</sup> Zhou, *et al.*, Nat. Chem., 2024, 16, 543-555.

Dans ce cadre, l'innovation réside non seulement dans la taille et la diversité des précurseurs utilisés, mais aussi dans l'utilisation du séquençage ADN de nouvelle génération comme technique analytique.

Ces cibles thérapeutiques explorées par la KTGS sont rattachées à un besoin thérapeutique important. La KTGS explore des cibles majoritairement liées à des cancers, maladies neurodégénératives et maladies infectieuses (voir **Figure 11**). En 2019, les décès dans la population étaient liés à 18% à des cancers (représentant la deuxième cause de décès dans le monde), les maladies neurologiques représentant 4% des décès dans le monde. Les maladies infectieuses représentent un véritable challenge pour notre future, avec l'émergence des résistances aux thérapeutiques actuels. En 2019, 14% des décès étaient liés à des maladies infectieuses, représentant la troisième cause de décès dans le monde.<sup>36</sup> La KTGS est donc une stratégie utilisée pour découvrir des traitements à des pathologies qui impactent fortement notre société.

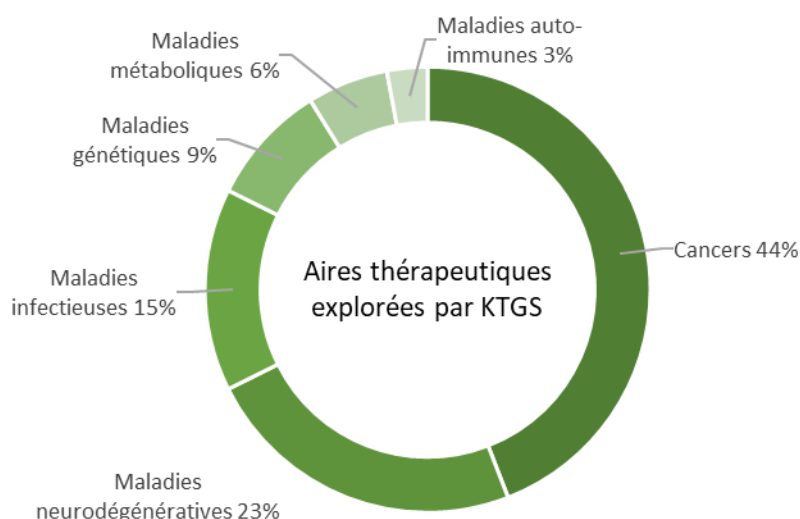


Figure 11 : Répartition des aires thérapeutiques explorées par KTGS.

<sup>36</sup> Max Roser (2021) - "Causes of death globally: what do people die from?" Publié en ligne à OurWorldinData.org. Récupéré de : <https://ourworldindata.org/causes-of-death-treemap> [Ressource en ligne].

## 2.3 Le design d'expériences de KTGS : modalité, taille, cible et détection

### 2.3.1 Le design binaire prédomine toujours

La plupart des expériences de KTGS utilise soit un design binaire ou un design multicomposant (voir [Figure 12](#)).

Si l'on compare ces données avec celles publiées dans la revue de 2019 par l'équipe de Bosc *et al.*<sup>1</sup>, on observe une augmentation de la proportion de KTGS au format multicomposant et multicomposant orthogonal dans les études publiées récemment. En effet, la proportion de KTGS au format binaire était de 67% en 2019, de 2019 à 2025 cette proportion a diminué à 57%.

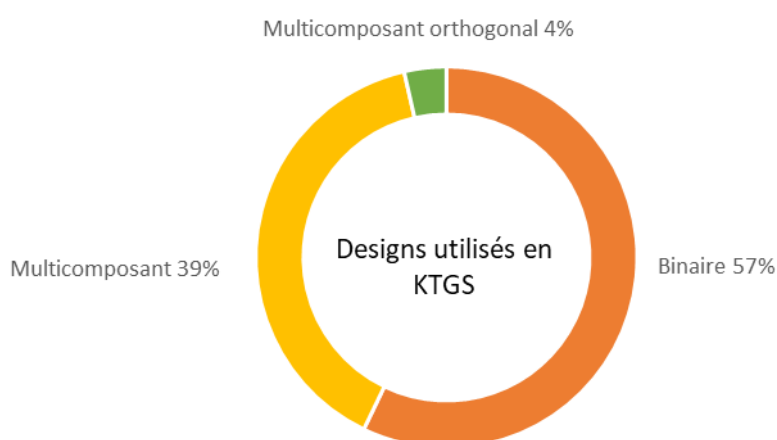


Figure 12 : Répartition des designs de KTGS.

Au-delà du type design de l'expérience de KTGS, les **dimensions des expériences** reflètent parfois l'objectif de l'utilisation de la KTGS. L'équipe de Kugler *et al.*<sup>37</sup> a utilisé un alcyne et 19 azotures pour son expérience de KTGS (voir [Figure 13](#) à gauche). L'objectif ici semble de tester la tolérance de différents substrats sur une molécule. L'équipe de Kassu *et al.*<sup>4</sup> a utilisé 45 thioacides et 38 azotures de sulfonyle pour son expérience de KTGS, totalisant 1710 combinaisons (voir [Figure 13](#) à droite). L'objectif ici semble être de cribler un grand nombre de combinaisons sur la cible pour trouver de nouvelles structures à optimiser.

<sup>37</sup> Kugler, *et al.*, RSC Med. Chem., 2023, 14, 144-153.

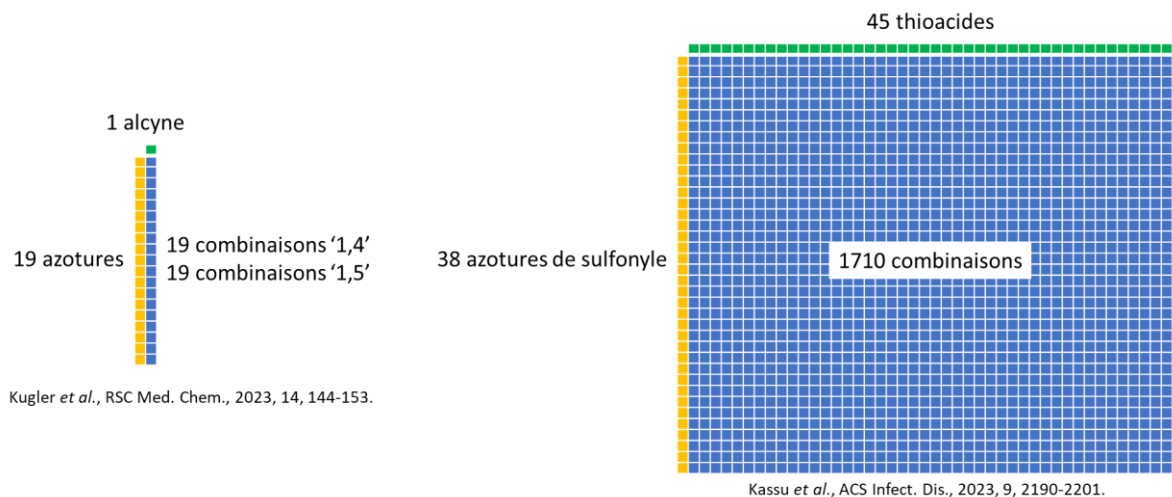


Figure 13 : Schéma de visualisation des dimensions de deux expériences de KTGS. À droite une expérience de KTGS utilisant deux types de précurseurs en quantité d'un même ordre de grandeur. À gauche une expérience de KTGS utilisant 19 précurseurs azotures pour un précurseur alcyne.

Les **tailles des expériences de KTGS** est un autre paramètre intéressant à explorer. Certaines publications mettent en avant une preuve de concept, pour d'autre, il s'agit d'une campagne de criblage ou d'optimisation. Cet aspect est retrouvé dans la répartition tripartite de la quantité de combinaisons explorées en KTGS. Une quantité de même ordre de grandeur d'expériences ont été publiées utilisant 1 à 10 combinaisons, 10 à 100 combinaisons, plus de 1000 combinaisons (voir [Figure 14](#)).

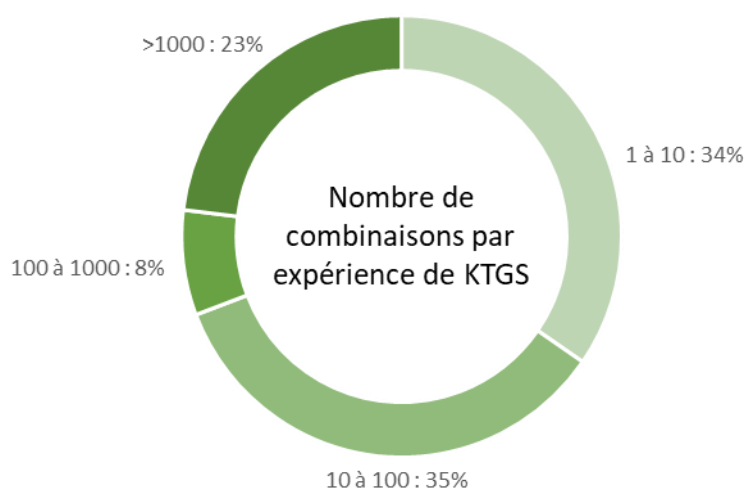


Figure 14 : Répartition du nombre de combinaisons par expérience de KTGS.

### 2.3.2 L'utilisation de cibles isolées reste la norme

Beaucoup de KTGS sont réalisées sur cibles isolées, la mise en évidence de ligands par les techniques analytiques étant moins complexe. Cependant, réaliser la KTGS au sein de cellules est possible. L'équipe du Pr. M. D. Disney a récemment publié une expérience de KTGS<sup>38</sup> se produisant au sein de myofibrilles isolées. L'équipe de recherche a utilisé la fluorescence comme technique analytique de mise en évidence du ligand, permettant de visualiser l'engagement de la cible. En plus de mettre en évidence l'engagement de la cible, réaliser la KTGS sur un modèle complexe permet d'agir sur la biodisponibilité du médicament dans les systèmes biologiques. En effet, l'équipe du Pr. S. Xu a récemment publié une expérience de KTGS<sup>18</sup> se produisant *in vivo*. La coadministration des deux précurseurs KTGS permet une meilleure réduction tumorale que l'administration du produit de KTGS. Ceci peut s'expliquer par la meilleure perméabilité cellulaire des précurseurs par rapport au produit de KTGS, permettant un meilleur accès à la cible thérapeutique.

### 2.3.3 Détection des ligands : de la LC-MS vers de nouvelles stratégies

La détection des ligands est un paramètre primordial de la mise en œuvre de la KTGS. 74% des expériences de KTGS s'appuient sur la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) (en bleu sur la **Figure 15**). 29% des expériences de KTGS utilisent spécifiquement un analyseur de haute résolution de type temps de vol (TOF). Une partie des publications ne précisent pas toujours le type d'analyseur utilisé ('LC-MS/MS non spécifié' sur la **Figure 15**). Cependant, cette technique ne donne pas toujours des informations structurales suffisantes, dépendante de la fragmentation des produits pour obtenir des informations structurales. Il est donc primordial que le design de la KTGS prenne en compte les différents rapports de masses sur charges des produits attendus afin de faciliter leurs identifications. Des approches innovantes utilisant des moyens de détection différents ont récemment été découverts. Par exemple une équipe de recherche a utilisé la KTGS en couplage avec une chimiothèque encodée par ADN<sup>35</sup>. Cette stratégie leur a permis de réaliser un criblage utilisant des millions de précurseurs KTGS. La technique analytique employée dans ce cas est un séquençage de nouvelle génération. D'autres équipes de recherche ont utilisé des mesures

---

<sup>38</sup> Angelbello, *et al.*, ACS Chemical Biology., 2020, 15, 1820-1825.

basées sur de la fluorescence<sup>39</sup> permettant la visualisation de l'engagement de la cible. Les techniques basées sur de la fluorescence tendent à être de plus en plus utilisées. Ces dernières sont plus sensibles, disposent d'un meilleur débit et permettent de visualiser l'engagement de la cible lors de la réalisation de KTGS en cellule. L'équipe de Bosc *et al.*<sup>1</sup> rapportait en 2019 que 85% des expériences de KTGS utilisaient la spectrométrie de masse comme technique de détection des ligands de KTGS. On peut observer que de 2019 à 2025, 75% des expériences de KTGS utilisaient la spectrométrie de masse pour détecter leurs ligands, ce qui représente une baisse de 10% au profit d'une plus grande utilisation d'une détection par fluorescence.

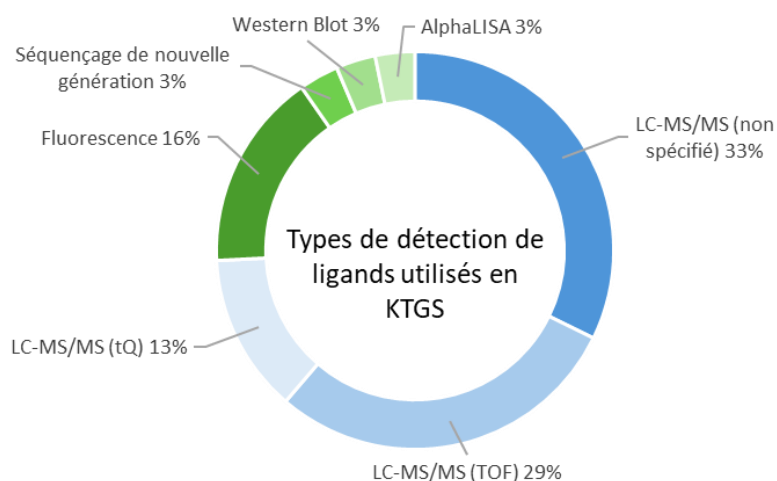


Figure 15 : Répartition des types de détection utilisés en KTGS.  
En bleu les techniques utilisant la LC-MS/MS. tQ : triple quadripôle, TOF : temps de vol.

Le **hit rate** de ces expériences de KTGS est variable. Dans le cadre de preuves de concept ou d'utilisations de cuivre dans les puits contenant la cible, il est de 100%. Pour la moitié des expériences de KTGS le hit rate est supérieur à 0% et inférieur à 20% (voir **Figure 16**).

<sup>39</sup> Angelbello, *et al.*, ACS Chemical Biology., 2020, 15, 1820-1825. Cui, *et al.*, Analytical Chemistry., 2024, 96, 15414-15421. Du, *et al.*, Chem. Sci., 2019, 10, 10343-10350.

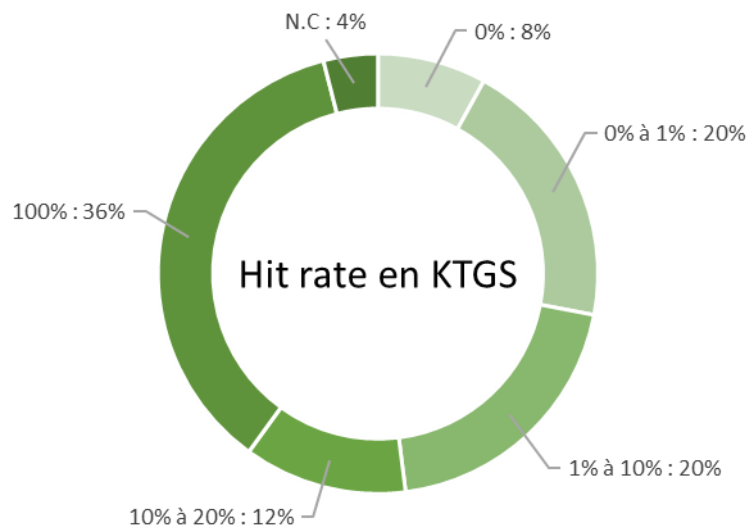


Figure 16 : Répartition du hit rate par expérience de KTGS.

## 2.4 Points d’ancrage en KTGS : origines et propriétés physico-chimiques

Dans la plupart des KTGS publiées, l’un au moins des types de précurseurs dispose d’une affinité pour la cible thérapeutique afin de maximiser les chances d’un placement au sein de la cible d’un des partenaires. Ces précurseurs disposent de *warheads*, des motifs chimiques conférant une affinité pour la cible.

Ces *warheads* proviennent majoritairement de ligands connus pour la cible ou de design rationnel, totalisant deux tiers des cas (voir [Figure 17](#)). Une part importante de ces *warheads* est également découverte suite à des travaux de modélisation moléculaire tels que le criblage virtuel. Ceci met en lumière le rôle de la KTGS en tant que stratégie de criblage ou d’optimisation en chimie médicinale.

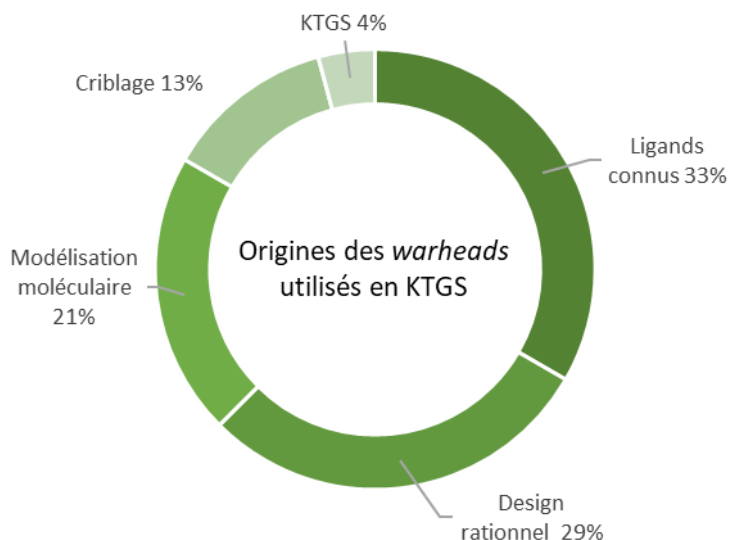


Figure 17 : Répartition de l'origine des warheads utilisés en KTGS.

Ces *warheads* possèdent des propriétés physico-chimiques et structurales particulières (voir **Figure 18**). Dans la majorité des cas, ils disposent d'un poids moléculaire inférieur à 500 g.mol<sup>-1</sup>. Ils sont également relativement hydrophiles avec un logP inférieur à 2 pour la moitié d'entre eux. Le nombre de donneurs de liaisons hydrogène est souvent compris entre 0 et 3. Le nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène est plus élevé, supérieurs à 3 pour deux tiers d'entre eux. Beaucoup de ces *warheads* disposent d'atomes hybridés sp<sup>3</sup>, la majorité en disposant plus de 5. Ceci implique également une quantité importante de liaisons rotatives, presque la moitié en disposant d'au moins 5. Ces *warheads* disposent de groupements aromatiques, la plupart des *warheads* disposant d'au moins 5 atomes aromatiques. La moitié des *warheads* disposent d'au moins un cycle aromatique. La moitié des *warheads* disposent au moins une fonction amide ou une amine. Une quantité faible de *warheads* disposent de cycles non aromatiques.

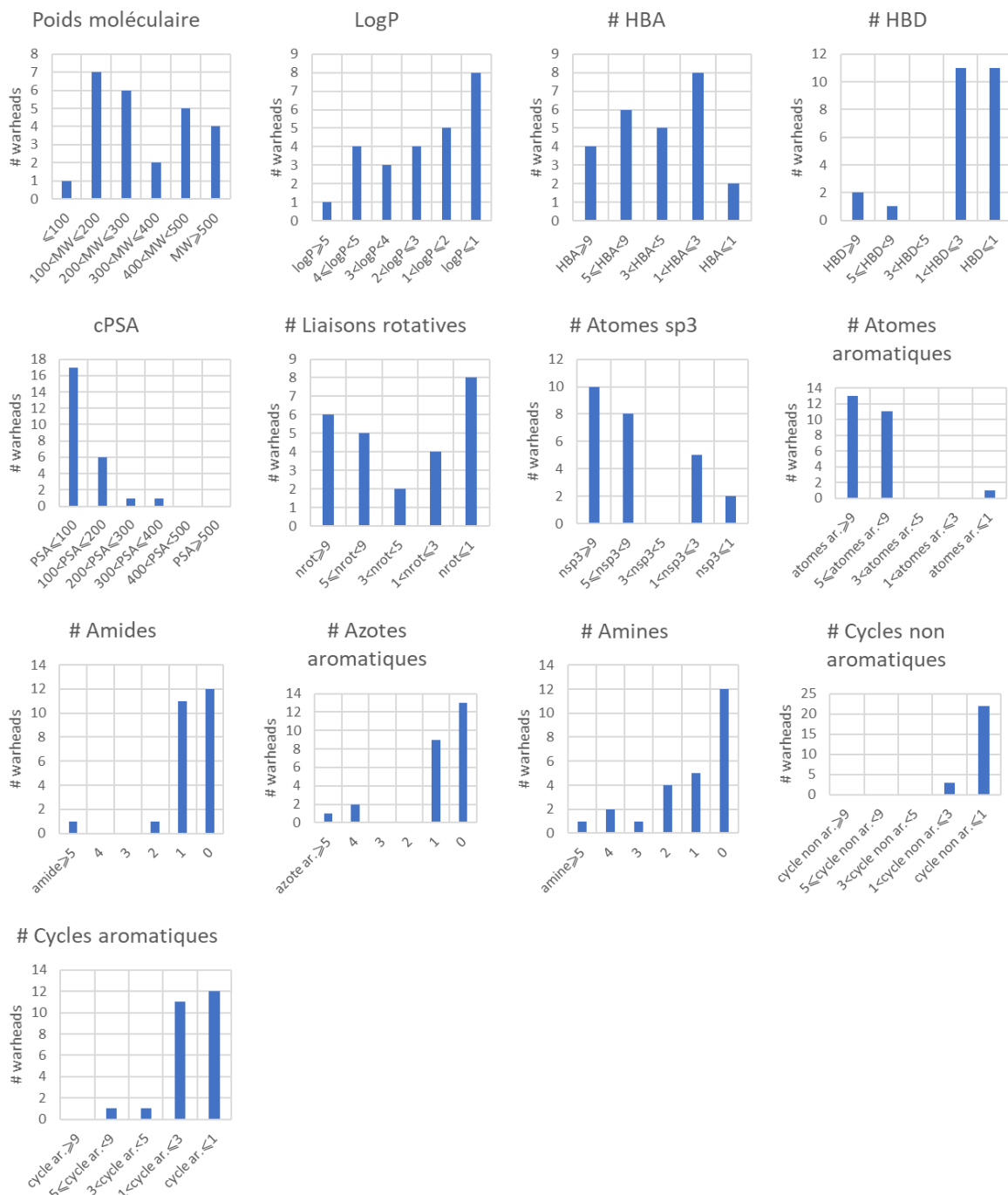


Figure 18 : Propriétés physico-chimiques et structurales des warheads utilisés en KTGS, calculées par DataWarrior. Poids moléculaire en  $g \cdot mol^{-1}$ . cPSA en  $\text{Å}^2$ . HBA : accepteur de liaisons hydrogène. HBD : donneur de liaisons hydrogène. LogP : logarithme du coefficient de partition octanol-eau. cPSA : l'air de la surface polaire calculée.

## 2.5 Propriétés physico-chimiques des ligands issus de KTGS

Les ligands que la KTGS produit disposent de propriétés physico-chimiques et structurales intéressantes (voir **Figure 19**) à mettre en parallèle avec celles des *warheads* (voir **Figure 18**). La grande majorité de ces ligands ont un poids moléculaire supérieur à 500 g.mol<sup>-1</sup>. La répartition du logP montre également un déplacement vers des molécules plus lipophiles comparé aux *warheads*. La quantité d'accepteurs de liaisons hydrogène est plus importante (supérieur à 9 dans la majorité des cas). La quantité de donneurs de liaisons hydrogène est semblable à celle des *warheads*. L'aire de la surface polaire calculée est en moyenne plus importante que celle des *warheads* : pour une majorité des molécules, elle est comprise entre 100 et 200 Å<sup>2</sup>. Ces ligands issus de la KTGS disposent de beaucoup de liaisons rotatives, la majorité en disposant plus de 9, c'est une augmentation importante par rapport à la distribution du nombre de liaisons rotatives des *warheads*. Ceci est à mettre en parallèle avec le nombre d'atomes hybridés sp<sup>3</sup> qui augmente lui aussi dans un même ordre de grandeur par rapport aux *warheads*. La totalité des ligands disposent d'au minimum 9 atomes aromatiques, la majorité des *warheads* disposent d'entre 3 et 9 cycles aromatiques, il s'agit là aussi d'une augmentation marquée par rapport aux *warheads*. La distribution du nombre d'amines est semblable aux *warheads*, celle des amides montre une augmentation du nombre d'amides par rapport aux *warheads* (presque la moitié en possédant au minimum 2).

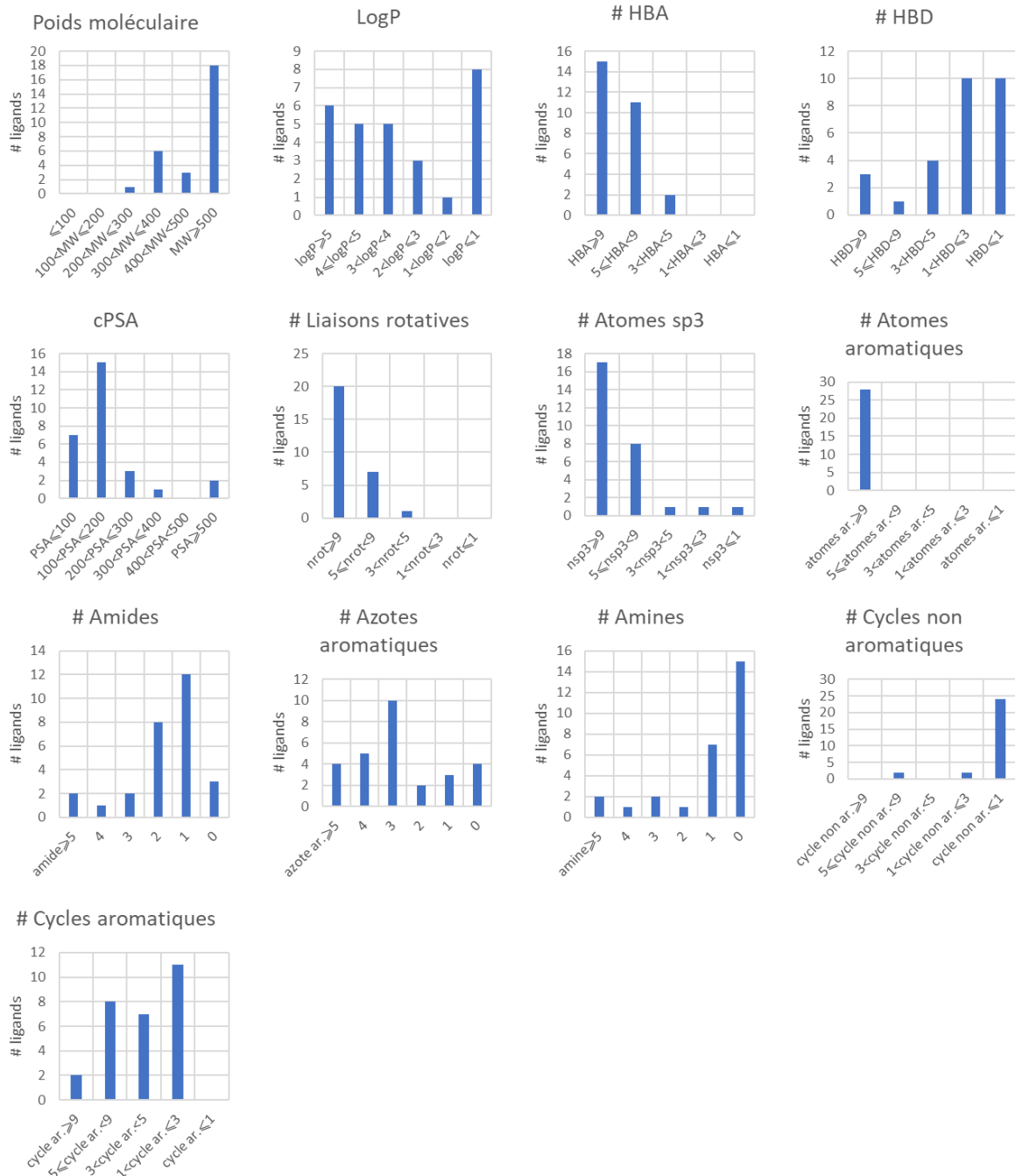


Figure 19 : Propriétés physico-chimiques et structurales des ligands produits par la KTGS, calculées par DataWarrior. Poids moléculaire en  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ . cPSA en  $\text{\AA}^2$ . HBA : accepteur de liaisons hydrogène. HBD : donneur de liaisons hydrogène. LogP : logarithme du coefficient de partition octanol-eau. cPSA : l'aire de la surface polaire calculée.

### 3 Études de cas de KTGS

Nous avons sélectionné quatre articles sur la base des innovations en KTGS présentées : nouvelles réactions biocompatibles, nouvelles cibles, nouveaux modes de détection ou encore première utilisation en clinique.

#### 3.1 La KTGS combinée à une réaction de photochimie

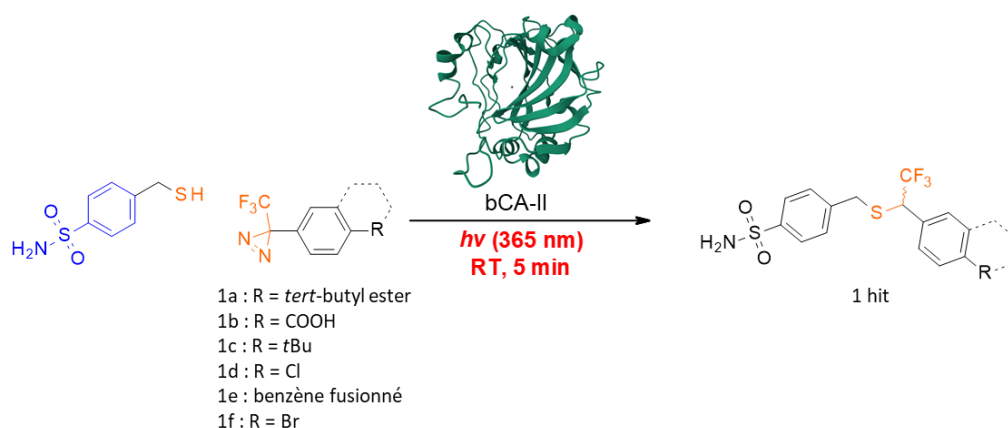


Figure 20 : Expérience de KTGS développée par Puteaux *et al.*<sup>6</sup> PDB ID : 1V9E.  $\alpha$ -mercaptotosylamide porte le warhead en bleu. Le thiol et les 3-trifluorométhyl-3-phényldiazirines pourront réagir ensemble s'ils sont à proximité les uns des autres dans la cible lorsque irradié à 365 nm. Le mécanisme réactionnel est décrit par la formation d'un carbène et son insertion dans la liaison S-H, formant un dérivé thioéther chiral. Adapté de Puteaux *et al.*<sup>6</sup>

En 2024, l'équipe de Puteaux *et al.*<sup>6</sup> a développé une KTGS utilisant une réaction photochimique. Pour cette preuve de concept, ils ont sélectionné comme cible l'anhydrase carbonique bovine II (bCA-II), cette enzyme a un rôle clef dans la régulation du pH au sein des organismes et est impliquée dans des maladies telles que le glaucome et l'insuffisance cardiaque.<sup>40</sup>

L'intérêt d'utiliser la photochimie en KTGS est de fournir des espèces fortement réactives, mais avec un **fort contrôle spatial et temporel**. En effet, les espèces réactives sont rapidement quenchées par une molécule d'eau si elles ne sont pas en proximité spatiale avec un partenaire. Ceci permet d'éliminer la formation de ligand en l'absence de la cible, qui a pour rôle de rapprocher les différents partenaires. La réaction choisie est la photoligation entre des 3-trifluorométhyl-3-phényldiazirines photo-activées en carbène et un nucléophile. Cette

<sup>40</sup> Supuran, *Biochem J.*, 2016, 473, 2023-2032.

réaction se produit rapidement (plateau atteint à  $\approx 5$  minutes), permettant de **raccourcir fortement le temps d'incubation** et donc de limiter la dégradation de la cible. Également, cette réaction se produit par irradiation à 365 nm, longueur d'onde qui minimise la dénaturation des protéines (par rapport à d'autres longueurs d'onde utilisées dans d'autres réactions photocatalysées).

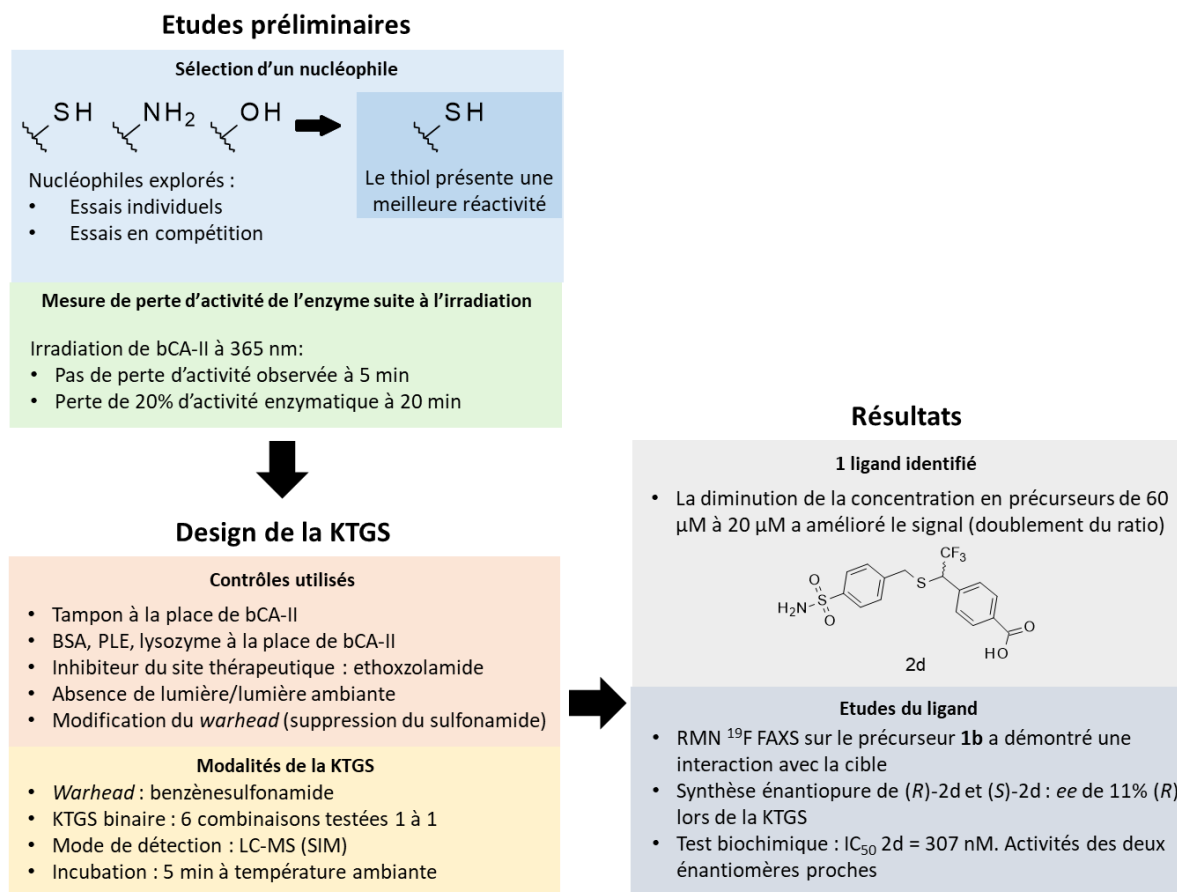


Figure 21 : Différentes étapes de l'expérience de KTGS réalisée par Puteaux et al.<sup>6</sup> Premièrement, des études préliminaires ont été réalisées, puis une expérience de KTGS a permis l'identification du ligand 2d. BSA : sérum albumine bovine, PLE : estérase hépatique porcine, SIM : single ion monitoring, FAXS : fluorine chemical shift anisotropy and exchange for screening, *ee* : excès énantiomérique.

L'équipe a exploré l'utilisation de différents nucléophiles (voir **Figure 21**, bleu). Le groupement thiol a été sélectionné pour réagir avec des 3-trifluorométhyl-3-phényldiazirines photoactivés par insertion du carbène dans la liaison S-H. Des études de l'impact de l'irradiation sur l'activité enzymatique ont été réalisées : pas de perte d'activité enzymatique n'était observée à 5 minutes d'irradiation à 365 nm et 80% d'activité était conservée après 20 minutes d'exposition (voir **Figure 21**, vert).

Suite à ces études préliminaires, un design de KTGS (voir **Figure 21**) a été utilisé pour explorer cette cible. Le  $\alpha$ -mercaptotosylamide joue le rôle d'ancre au sein de bCA-II, le

benzènesulfonamide étant un *warhead* connu de cette cible, liant l'ion zincique de son site catalytique. Ils ont utilisé un design de KTGS binaire avec plusieurs contrôles (voir **Figure 21**, orange). La LC-MS avec un mode de détection SIM (*single ion monitoring*) a été utilisée afin de détecter les ligands formés. Leurs expérimentations ont montré que bCA-II a catalysé la formation du ligand **2d** parmi les 6 combinaisons possibles. La présence de trifluorométhyles sur leurs précurseurs a permis l'utilisation de la RMN  $^{19}\text{F}$  FAXS (*fluorine chemical shift anisotropy and exchange for screening*), montrant que la bCA-II interagissait avec la 3-trifluorométhyl-3-phényldiazirine **1b**. Cette réaction de photoligation forme des molécules chirales avec un centre stéréogène. L'équipe de recherche a souhaité identifier quels énantiomères étaient formés dans leurs expériences de KTGS. Pour ce faire, les deux énantiomères (*R*)-**2d** et (*S*)-**2d** ont été synthétisés en utilisant l'hydrogénation asymétrique de Noyori comme point d'introduction de la chiralité. Grâce à une colonne chirale, une analyse LC-MS a permis de séparer les deux énantiomères et de calculer l'excès énantiomérique lors de l'expérience de KTGS (11% (*R*)). L'inhibition de l'activité enzymatique de bCA-II par les combinaisons a ensuite été mesurée. **2d** dispose d'une des meilleures activités parmi les autres combinaisons ( $\text{IC}_{50} = 307 \text{ nM}$ ). Ses deux énantiomères disposent d'une activité proche, l'énantiomère *R* disposant d'une activité légèrement meilleure ( $\text{IC}_{50} = 299 \text{ nM}$ ).

Ainsi, l'équipe de Puteaux *et al.* a montré pour la première fois l'utilisation de la photochimie en KTGS, élargissant le panel de réactions biocompatibles utilisables. Cette réaction présente des avantages : **sa rapidité** qui permet de limiter le temps d'incubation de la cible et **sa contiguïté** qui permet de limiter les faux positifs.

### 3.2 La KTGS en cellule ciblant des ARNs et utilisant la fluorescence

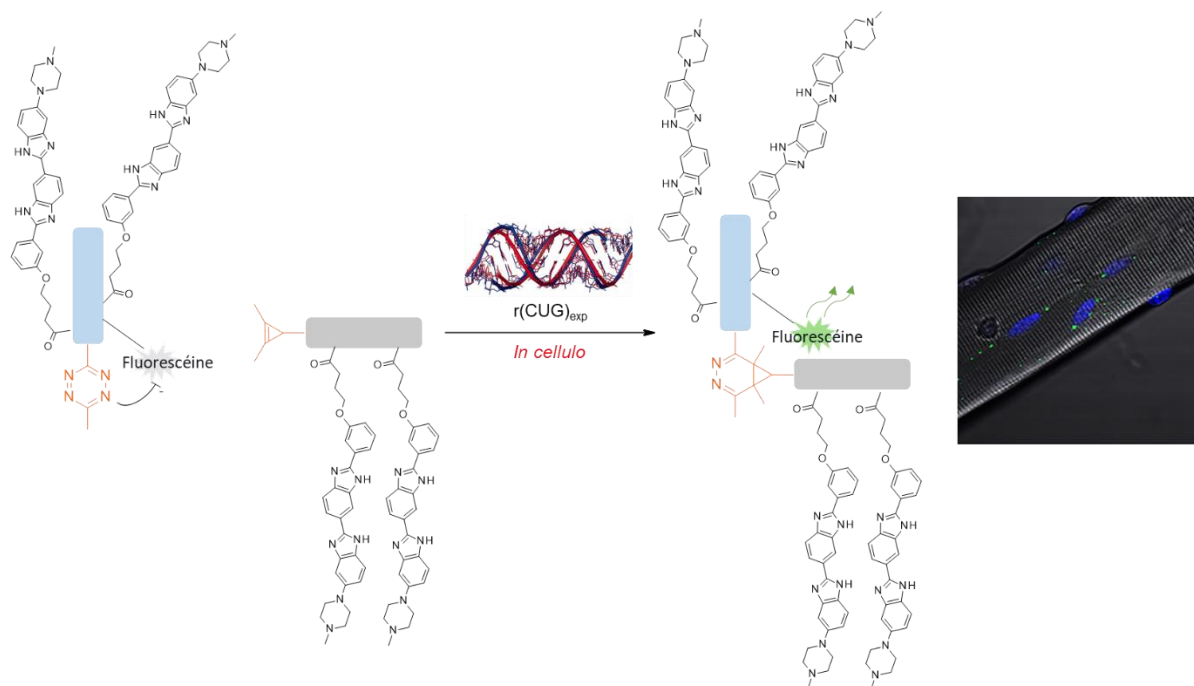


Figure 22 : Expérience de KTGS développée par Angelbello *et al.*<sup>37</sup>

En bleu et gris les espaceurs pseudopeptidiques, en orange la tétrazine et le cyclopropène réagissant selon la cycloaddition de Diels-Alder à demande électronique inverse. À droite une image composite d'une microscopie de myofibre de souris HSA<sup>LR</sup>, en vert la fluorescence produite par le produit de KTGS au sein des myocytes. La structure de r(CUG)<sub>exp</sub> est issue des travaux de Mooers, *et al.*<sup>41</sup>

En 2020, l'équipe de Angelbello *et al.*<sup>38</sup> a publié ses travaux sur l'utilisation de la KTGS pour **cibler une séquence d'ARN**. Leur cible est une répétition du motif CUG au sein d'un intron de l'ARN codant pour la protéine kinase de la dystrophie myotonique (DMPK), ce motif séquestre différentes protéines liant des ARN dont MBNL1, empêchant sa fonction d'épissage d'ARN. Ce mécanisme est à la source de la dystrophie musculaire myotonique de type I (DM1).

Ils ont choisi la cycloaddition de Diels-Alder à demande électronique inverse entre une tétrazine et un cyclopropène pour leur réaction biocompatible ainsi qu'un design binaire de KTGS. Afin de créer leurs précurseurs KTGS, ils se sont basés sur leurs études préliminaires sur la cible pour créer des structures se liant spécifiquement à r(CUG)<sub>exp</sub>. Ces précurseurs KTGS portent soit des tétrazines ou des cyclopropènes ainsi qu'un espaceur pseudopeptidique de longueur variable qui porte deux motifs de haute affinité à r(CUG)<sub>exp</sub> (voir **Figure 22**).

<sup>41</sup> Mooers, *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 2005, 102, 16626-16631.

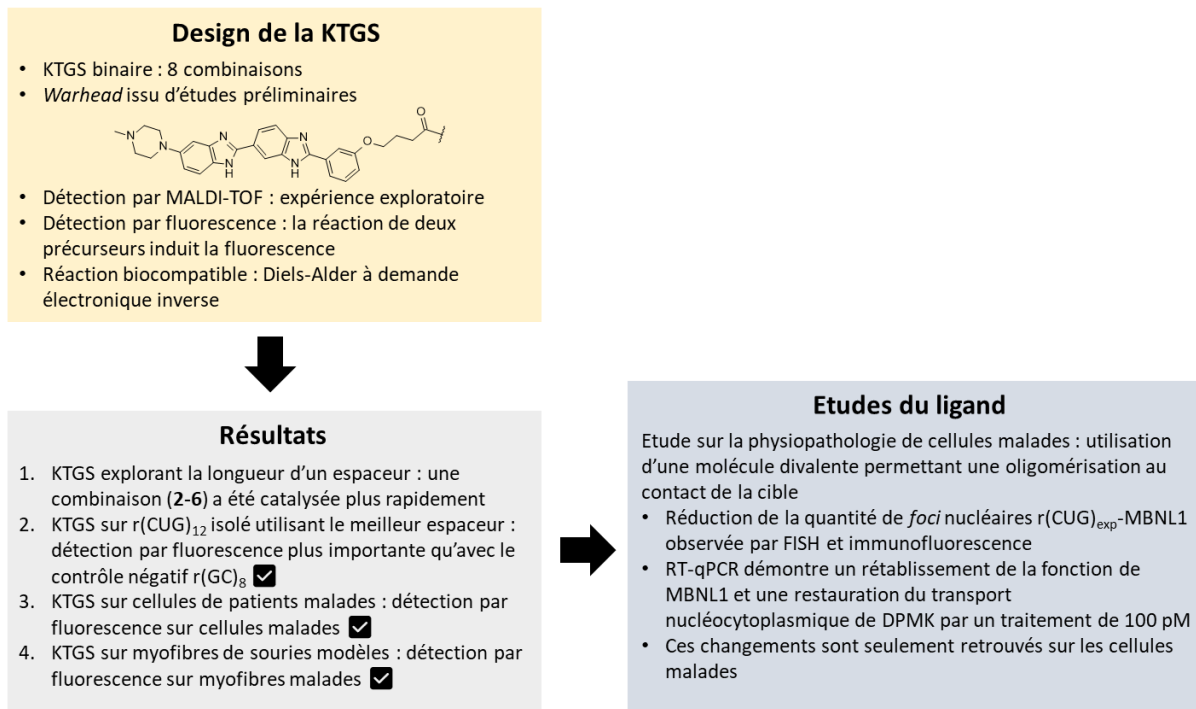


Figure 23 : Différentes étapes de l'expérience de KTGS réalisée par Angelbello, et al.<sup>38</sup>  
 MALDI-TOF : Matrix Assisted Laser Desorption Ionization - Time of Flight. FISH : Hybridation in situ en fluorescence, RT-qPCR : réaction en chaîne par polymérase quantitative après transcription inverse.

Une expérience de KTGS a été réalisée pour sélectionner la meilleure longueur d'espaceur en se basant sur la spectrométrie de masse pour identifier les produits. L'une des combinaisons a été produite plus rapidement. Ayant trouvé la longueur d'espaceur adéquate, un précurseur portant la fluorescéine a été créé : en l'absence de réaction, la fluorescence est quenché par la proximité avec la tétrazine (voir [Figure 22](#)), lorsque la cycloaddition se produit, le fluorophore n'est plus quenché et la fluorescence augmente donc. Une augmentation significative de la fluorescence a été observée en présence de r(CUG)<sub>12</sub> comparé au contrôle négatif (autre séquence d'ARN : r(GC)<sub>8</sub>). La KTGS au sein de fibroblastes de patients atteints de DM1 a mis en évidence une augmentation de la fluorescence comparée aux cellules *wild-type*. Après cette KTGS en cellule, une KTGS sur des myofibres souris HSA<sup>LR</sup>, modèle développant la DM1 a été réalisée. Dans ce modèle, une augmentation significative de la fluorescence a été observée au sein des myofibres de souris mutées par rapport aux souris *wild-type* (voir [Figure 24](#)).

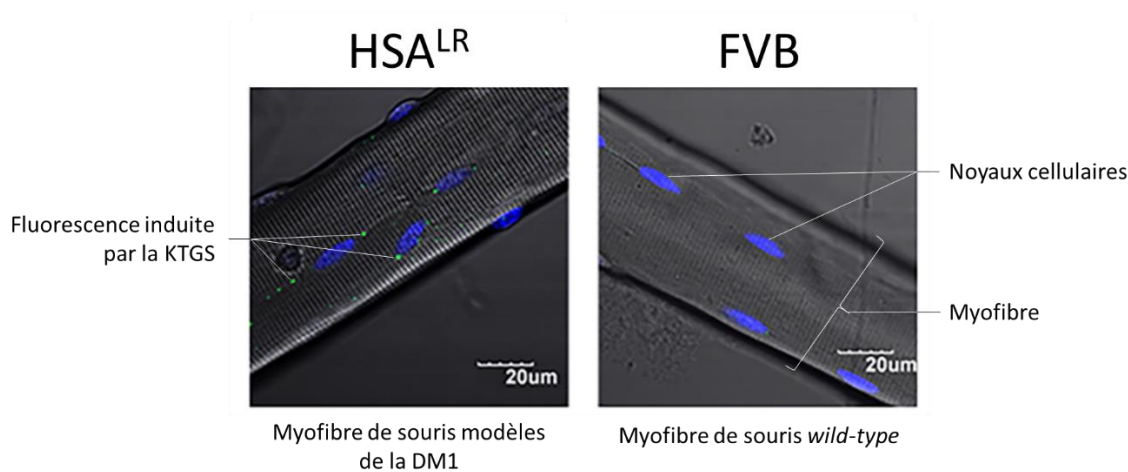


Figure 24 : Comparaison de la fluorescence induite par KTGS entre les myofibres mutées ( $HSA^{LR}$ ) et *wild-type* (FVB). Une nette fluorescence provenant de la fluorescéine est observée au sein des myofibres mutées. Adapté de Angelbello, et al.<sup>38</sup>

L'impact sur la physiopathologie des cellules malades de l'exposition à cette série chimique a été étudié. Une molécule divalente contenant à la fois une tétrazine et un cyclopropène, permettant son oligomérisation au contact de la cible thérapeutique, fut utilisée pour cette étude. Une réduction de la quantité de *foci* contenant  $r(CUG)_{exp}$ -MBNL1 a été observée par immunofluorescence et FISH (*fluorescence in situ hybridization*), permettant la libération de MBNL1. Cette découverte a été confirmée par RT-qPCR (réaction en chaîne par polymérase quantitative après transcription inverse). Le transport nucléocytoplasmique de la DMPK a également été restauré suite au traitement par la molécule divalente, à partir de 100 pM. Cette étude a montré qu'un traitement de 100 pM permet de rétablir la fonction de MBNL1. Sur les cellules *wild-type* aucune différence de fonction de MBNL1 entre groupe traité et non traité fut observé.

Cette étude a donc montré le développement d'une expérience de KTGS en **cellules**, permettant la découverte de ligands très puissants de  $r(CUG)_{exp}$  **rétablissant les fonctions cellulaires normales** au sein de cellules malades. **L'utilisation de la fluorescence comme moyen de détection** est également novatrice, permettant une lecture rapide et sensible. Il faut néanmoins rappeler que la fluorescéine est une grande molécule, la transposition de ce design pour d'autres cibles n'est donc pas toujours possible. Les séquences d'ARN représentent des challenges pour les approches de chimie médicinales traditionnelles et la KTGS a également montré son intérêt dans la découverte de nouvelles molécules thérapeutiques par la découverte d'une **nouvelle sonde à portée diagnostique**.

### 3.3 La KTGS combinée à une chimiothèque encodée par ADN (DECL)

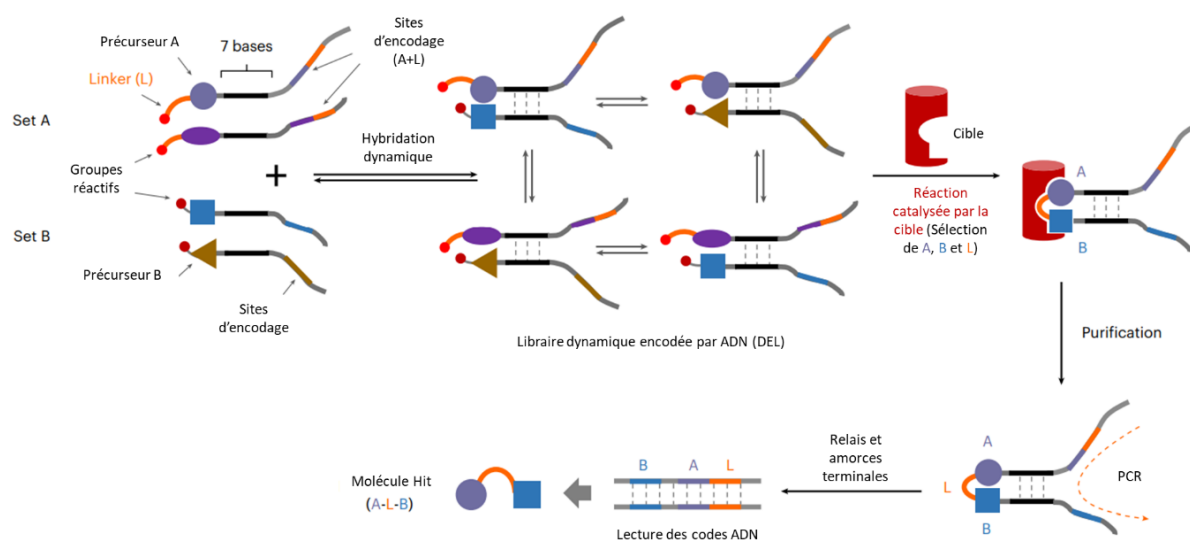


Figure 25 : Expérience de KTGS développée par Zhou, et al.<sup>35</sup>

Une chimiothèque dynamique est créée : chaque membre est composé de : un groupe réactif, une structure chimique, un linker, une séquence de 7 bases et une séquence d'encodage d'ADN. En présence de la cible, si deux précurseurs sont sélectionnés par la cible, la réaction biocompatible a lieu ainsi que l'hybridation de la séquence de 7 bases. Ce rapprochement forme une séquence d'ADN qui permet d'identifier la combinaison par PCR. Adapté de Zhou et al.<sup>35</sup>

En 2024, Zhou, *et al.*<sup>35</sup> ont reporté une KTGS couplée avec une chimiothèque dynamique encodée par ADN. Leurs travaux ont exploré 5 cibles différentes : la protéase du VIH, la protéine S et l'hélicase NSP13 du SARS-CoV-2, PD-L1 et STAT5b, impliquées dans des interactions protéine-protéine. Pour ce faire, deux chimiothèques dynamiques encodées par ADN (DECL) de 4.35 millions et 3 millions composés respectivement ont été constituées.

Le design de leurs expériences repose sur la possibilité d'hybridation entre brins d'ADN des précurseurs sur le produit de KTGS, permettant une identification par séquençage PCR du produit de KTGS (voir **Figure 25**). La réaction biocompatible choisie est la cycloaddition entre azoture et alcyne formant un triazole. Chaque précurseur KTGS dispose donc d'un groupe réactif (azoture ou alcyne), d'un *linker* (selon le set), de la structure chimique du précurseur ainsi que d'un tag d'ADN (comportant une séquence d'hybridation et une séquence unique permettant l'identification du précurseur). Leurs expériences utilisent un design multicomposant.

## Etudes préliminaires

### Expériences modèles

Optimisation de la longueur du *linker* par une expérience du couple streptavidine-biotine mimant l'interaction précurseur-cible

- Longueur de *linker* optimale découverte
- Optimisation de la séquence d'hybridation
- La formation du ligand dépend à la fois de la liaison à la cible et de l'hybridation de la séquence de 7 bases

### KTGS sur la protéase du VIH-1 : preuve de concept

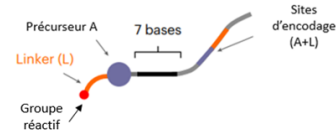
- Reconstitution d'un inhibiteur connu de la protéase
- Reconstitution dépend de la présence de la cible
  - Absence de produit de PCR avec les contrôles : tampon, CA-2, protéase dénaturée, séquences d'ADN mésappariés

## Création de chimiothèques dynamiques

Nombre de membres : 4,35 millions et 3 millions

Chaque membre dispose de :

- Un groupe réactif
- La structure chimique
- +/- un *linker* selon le set
- Une séquence d'hybridation (7 bases)
- Une séquence d'identification (tag d'ADN)



## KTGS sur 4 cibles thérapeutiques

### Interaction protéine S/ACE2 SARS-CoV-2

- 17 ligands identifiés, le ligand S-11 dispose d'une activité submicromolaire

### Hélicase NSP13 du SARS-CoV-2

- 11 ligands identifiés, le ligand N-1 dispose d'une activité micromolaire

### Interaction PD-L1/PD-1

- 3 ligands identifiés, activités faibles pour l'inhibition de la PPI avec PD-1

### Facteur de transcription STAT5b

- 4 ligands identifiés, activités faibles pour l'inhibition de son interaction avec l'ADN

Figure 26 : Différentes étapes de l'expérience de KTGS réalisée par Zhou et al.<sup>35</sup>

Suite à des études préliminaires ayant permis d'optimiser la longueur du *linker* ainsi que la séquence d'hybridation, une preuve de concept est réalisée sur la protéase du VIH. Ensuite une large chimiothèque encodée par ADN est créée permettant de réaliser des KTGS sur 4 cibles thérapeutiques. CA-2 : anhydrase carbonique-2, ADN mésapparié : séquences non complémentaires sur les précurseurs. La structure générale d'un membre de la chimiothèque est adaptée de Zhou et al.<sup>35</sup>

Une exploration méthodologique utilisant le couple biotine-streptavidine (mimant l'interaction cible-précurseur KTGS), a permis l'optimisation de la séquence d'hybridation ainsi que la longueur du *linker*. La formation du produit de KTGS dépend à la fois de l'hybridation de deux séquences d'ADN complémentaires, mais aussi de la liaison à la cible (permettant la réaction biocompatible entre les groupes réactifs). Une première KTGS ciblant la protéase du VIH, destinée à être une preuve de concept a été réalisée. Après incubation, la reconstitution d'un inhibiteur connu a été détecté en présence de la cible, mais pas dans les conditions de contrôles négatifs (voir [Figure 27](#)).

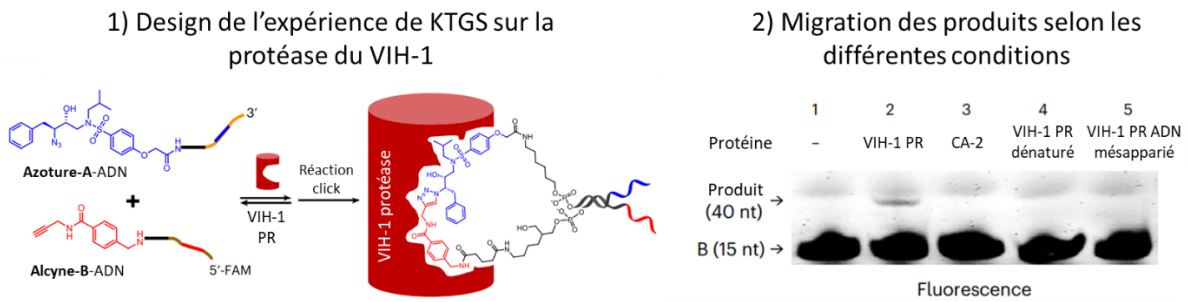


Figure 27 : Expérience KTGS encodée par ADN développée par Zhou, et al.<sup>35</sup> utilisant la protéase du VIH comme cible et des précurseurs KTGS reconstituant un inhibiteur connu de cette cible. À droite (2), l'analyse par électrophorèse sur gel de polyacrylamide à l'urée dénaturante de l'expérience de KTGS ainsi que des différents contrôles négatifs. Seul dans la colonne 2 (expérience KTGS) la présence du produit de KTGS a été détectée. CA-2 : anhydrase carbonique-2, VIH-1 PR : protéase du VIH-1, ADN mésapparié : séquences non complémentaires sur les précurseurs. Adapté de Zhou et al.<sup>35</sup>

Après ce résultat concluant, l'équipe a poursuivi ses travaux en réalisant un criblage sur la protéine S et l'hélicase NSP13 du SARS-CoV-2, PD-L1 et STAT5b. Pour ce faire, la chimie combinatoire a été utilisée pour constituer des chimiothèques encodées par ADN.

- Pour la **protéine S du SARS-CoV-2**, ils ont détecté 17 ligands disposant pour la plupart d'activités modérées à faibles sur l'inhibition de la formation du complexe protéine S-ACE2. L'un des ligands disposait d'une activité submicromolaire :

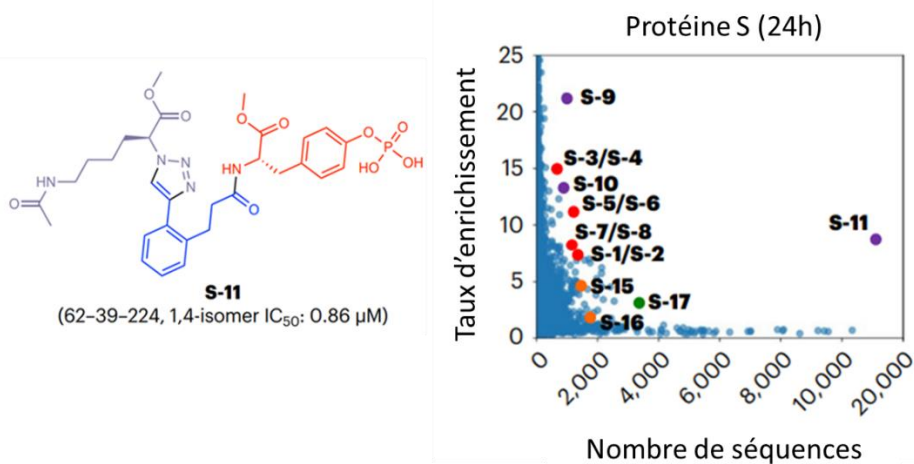


Figure 28 : Structure du ligand détecté par KTGS disposant de la meilleure activité contre la formation du complexe protéine S-ACE2. À droite le nuage de point de l'enrichissement des différentes séquences en fonction du nombre de copies de séquence détectée. Adapté de Zhou et al.<sup>35</sup>

- Pour l'hélicase NSP13 du SARS-CoV-2, 11 ligands ont été détectés, chacun disposant d'une activité modeste à faible. Le meilleur ligand (N-1) disposait d'une IC<sub>50</sub> de 1.51 μM.

- Pour **PD-L1**, leurs expériences ont identifié 3 ligands de cette protéine. Cependant, ces derniers ont montré une activité faible à l'inhibition de l'interaction protéine-protéine avec PD-1. Il en a été de même pour **STAT5b** où 4 ligands ont été identifiés, disposant d'une activité faible à l'inhibition de l'interaction STAT5b-ADN.

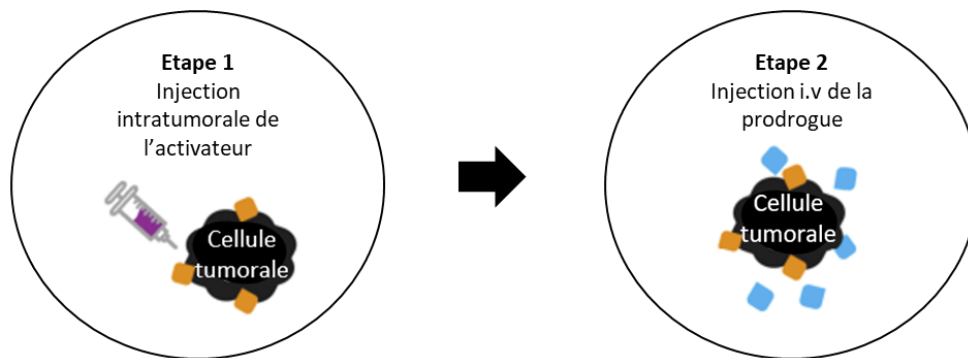
L'équipe de Zhou, *et al.* a montré par ses travaux la possibilité de **combiner la KTGS avec une chimiothèque dynamique encodée par ADN**, permettant le criblage d'un très grand nombre de combinaisons par une détection basée sur le séquençage ADN. Il a également été montré que **la distance entre structure chimique du précurseur et la séquence d'ADN est un paramètre primordial** à optimiser en fonction de la cible. L'efficacité du séquençage de la séquence des ligands formés est également à prendre en compte et peut représenter un biais potentiel.

### 3.4 La chimie click réalisée *in vivo* en clinique

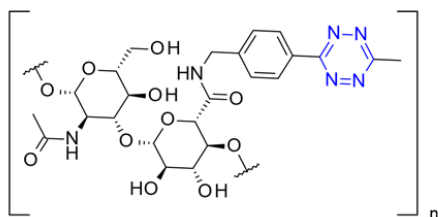
L'équipe Srinivasan *et al.* a publié en 2025<sup>42</sup> une expérience de chimie click *in vivo* chez l'Homme. La publication détaille le parcours pré-clinique et la phase 1 du système SQ3370, chimiothérapie permettant une distribution de doxorubicine au sein de tumeurs solides. Le challenge inhérent aux chimiothérapies est l'atteinte d'une dose toxique au niveau des tumeurs en épargnant les tissus sains. Ce système permet d'atteindre un meilleur profil de sécurité grâce au concept de CAPAC : Promédicament Activé par Chimie-click contre le Cancer. Bien qu'à la frontière de ce qu'est la KTGS, cette approche pourrait être transposée pour le développement de médicaments composés de précurseurs KTGS.

---

<sup>42</sup> Srinivasan, *et al.* Clin. Cancer. Res. 2025, 31, 3662-3677.

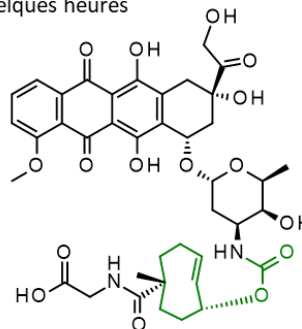


**Le biopolymère contient l'activateur**  
Le biopolymère est injecté dans la tumeur pour localiser sélectivement l'activateur

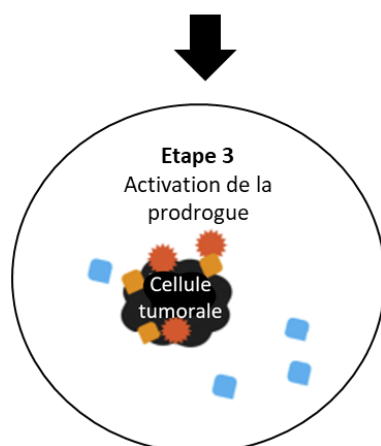


*Biopolymère modifié par une tétrazine SQL70*

- La prodrogue est inerte
- La prodrogue est stable dans la circulation
- L'excès de prodrogue est éliminé de la circulation en quelques heures



*Doxorubicine modifiée par un trans-cyclooctène SQP33 (prodrogue)*



- **Activation instantanée et sélective de la prodrogue** au niveau de la surface cellulaire
- La doxorubicine entre dans les cellules tumorales

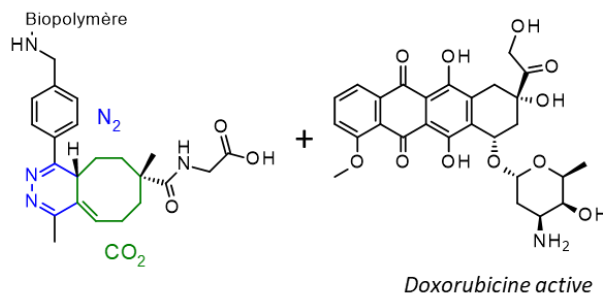


Figure 29 : Principe du système SQ3370 développé par Srinivasan et al. Les deux partenaires isolés ne sont pas actifs, mais leur rencontre au niveau de la cellule tumorale permet la libération de doxorubicine à la surface des cellules tumorales et donc son action localisée. Adapté de Srinivasan, et al.<sup>42</sup>

Ce système est composé de deux éléments distincts, à eux seuls inactifs et peu toxiques :

- Le biopolymère de criblage (SQL70) : injectés au sein de la tumeur, il s'agit d'un hydrogel qui porte une tétrazine et permet d'obtenir une sélectivité sur l'action du second partenaire.
- Une prodrogue de doxorubicine (SQP33) : la doxorubicine est un agent de chimiothérapie puissant, mais toxique. Sa prodrogue est inactive et couplée avec un trans-cyclooctène, pouvant réagir avec la tétrazine du biopolymère. Cette prodrogue est administrée par voie intraveineuse

Lorsque les deux partenaires se rencontrent au niveau de la tumeur, la tétrazine du biopolymère et le trans-cyclooctène réagissent par chimie click. Suite à un réarrangement la doxorubicine active est libérée au niveau de l'environnement tumoral. Ce système permet d'obtenir une sélectivité très grande sur l'action de la doxorubicine et donc d'obtenir un bien meilleur profil de sécurité. Cette toute nouvelle stratégie a été évaluée en pré-clinique sur plusieurs modèles murins de tumeurs (mélanomes, fibrosarcome, adénocarcinome colorectal). Dans ces modèles le système SQP33 a montré une efficacité significative sur l'inhibition de la progression tumorale et la survie des animaux (voir **Figure 30**).

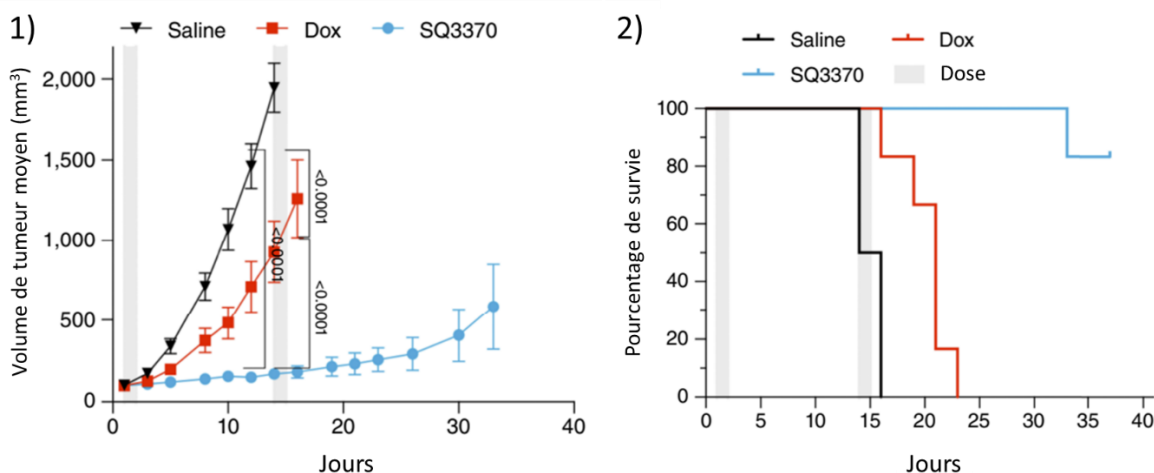


Figure 30 : En 1) la progression du volume tumoral selon les différents régimes, en 2) la courbe de survie des animaux selon les différents régimes.

Les souris modèles (mélanome B16-F10) ont été traités par deux cycles de contrôle salin, doxorubicine (8 mg/kg, i.v, une fois par jour pendant un jour) ou SQL70 (100 µL, intratumoral) suivi par SQP33 (110 mg/kg/jours, i.v, une fois par jour pendant deux jours), avec des cycles séparés de deux semaines. Dox : doxorubicine. Adapté de Srinivasan, et al.<sup>42</sup>

De plus, les concentrations mesurées en doxorubicine au sein des tumeurs étaient bien supérieures à celles atteignables par une administration systémique classique, tout en évitant la toxicité liée.

Suite à ces données précliniques encourageantes, un essai clinique de phase 1 a été réalisé (NCT04106492). Il ressort de cet essai :

- Une sécurité exceptionnelle, la dose de doxorubicine a pu être multipliée par 15 sans causer de toxicité notable
- Le système SQ3370 a provoqué une réponse immunitaire forte suite à son administration. Une élévation des lymphocyte T CD8+ cytotoxique a été observée. Cet effet est bénéfique car cette réponse lutte contre les cellules tumorales, il y a donc un effet synergique.

Cet article montre l'application de la chimie click à une nouvelle modalité permettant de traiter une tumeur de façon ciblée, par **la localisation de l'agent de chimiothérapie via chimie bioorthogonale au sein de la tumeur**. Cette nouvelle modalité, pourrait être transposée à d'autres agents de chimiothérapie (radioisotopes, inhibiteurs de tyrosine kinase, etc.) afin d'améliorer leurs profils de sécurité et d'efficacité.

## 4 Conclusion

Cette revue avait pour but de souligner les récentes avancées en KTGS ainsi que son intérêt dans la découverte de molécules thérapeutiques innovantes en sélectionnant sur la base de l'originalité différentes études de cas.

La stratégie guidée par la cible dispose de plusieurs intérêts. Le premier est qu'il s'agit d'une approche en solution permettant d'explorer différentes conformations de cibles thérapeutiques. La KTGS est donc idéale pour explorer des cibles flexibles, des interactions protéine-protéine ou encore des motifs d'acides nucléiques. La KTGS est également miniaturisable, permettant un criblage de plusieurs milliers de combinaisons (voir des millions dans le cas de chimiothèques encodées par ADN). Utiliser une approche par KTGS permet de diminuer le nombre de molécules inutiles testées en biologie car seuls des ligands sont ainsi caractérisés par des tests d'activités.

La KTGS est également une stratégie en évolution par différentes innovations. De nombreuses réactions biocompatibles sont utilisables, permettant d'introduire une diversité chimique et aussi de réaliser la KTGS selon différentes conditions. Différentes stratégies de détections de ligands sont possibles telles que la spectrométrie de masse et l'utilisation de la fluorescence. Plusieurs designs de KTGS sont possibles, un design binaire excluant compétitions entre précurseurs, un design multicomposant permettant de gagner en efficacité mais en incluant des phénomènes de compétition et le design multicomposant orthogonal combinant les avantages des deux designs précédents.

Aujourd'hui, la tendance en KTGS au niveau des réactions biocompatibles utilisées tend à la diversification, bien que près de la moitié des KTGS utilisent toujours la cycloaddition 1,3 dipolaire entre azotures et alcynes. Les cibles explorées sont pour 52% des enzymes, pour un tiers des interactions protéine-protéine et le reste des acides nucléiques. La grande majorité des KTGS utilisent soit le design binaire ou multicomposant. Les motifs d'affinités proviennent majoritairement de ligands connus, de design rationnel, ou de modélisation moléculaire. Le mode de détection des ligands est majoritairement de la LC-MS/MS (75%) bien que la détection par fluorescence (16%) soit aussi un mode de détection utilisé.

Les quatre études de cas choisies montrent l'application de la KTGS dans différents projets : l'utilisation de la photochimie en KTGS permettant de réduire les temps d'incubation, la réalisation de la KTGS au sein de cellules en ciblant un motif répété d'ARN, la combinaison de la KTGS avec les chimiothèques encodées par ADN et la chimie click *in vivo* chez l'Homme

comme expansion potentielle du champ d'application de la KTGS. Ces différentes études montrent la grande flexibilité du principe de KTGS et son application vaste, permettant d'étudier des cibles jusqu'ici difficilement explorées par les stratégies traditionnelles de design rationnel.

De part ces différents éléments, la KTGS se pose comme une stratégie efficace et originale pour découvrir des nouveaux ligands et *in fine* de nouvelles molécules thérapeutiques originales. Des défis restent cependant à surmonter pour utiliser cette stratégie tels que la stabilité de certaines cibles thérapeutiques durant l'incubation avec les précurseurs et la consommation de cible thérapeutique. Augmenter la miniaturisation de la KTGS par l'utilisation d'une détection par fluorescence se pose comme une solution potentielle afin de diminuer les quantités de cible utilisées.

## Bibliographie

1. Bosc, *et al.*, *J. Med. Chem.*, 2020, 63, 3817-3833.
2. Angelbello, *et al.*, *ACS Chemical Biology.*, 2020, 15, 1820-1825. Cui, *et al.*, *Analytical Chemistry.*, 2024, 96, 15414-15421. Du, *et al.*, *Chem. Sci.*, 2019, 10, 10343-10350.
3. Wamser, *et al.*, *Chem. Eur. J.*, 2024, 30, e202303940. Tauber, *et al.*, *Angew Chem. Int. Ed.*, 2021, 60, 13294-13301. Du, *et al.*, *Chem. Sci.*, 2019, 10, 10343-10350. Miyake, *et al.*, *ACS Catalysis.*, 2020, 10, 5383-5392.
4. Kassu, *et al.*, *ACS Infectious Diseases.*, 2023, 9, 2190-2201.
5. Parvatkar, *et al.*, *Trends in Chemistry.*, 2023, 5, 657-671.
6. Puteaux *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2024, 63, e202407888.
7. Camberlein *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2022, 61, e202203560. Cui *et al.*, *Analytical Chemistry.*, 2024, 96, 15414-15421.
8. Kugler *et al.*, *RSC Med. Chem.*, 2023, 14, 144-153. Petrilli *et al.*, *Cell Chemical Biology.*, 2020, 26, 32-40.
9. Mancini *et al.*, *Chem. Eur. J.*, 2020, 26, 14585-14593. Puteaux *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2024, 63, e202407888.
10. Huang *et al.*, *Chem. Commun.*, 2024, 60, 12722-12725. Mołęda *et al.*, *Bioorg. Med. Chem.*, 2021, 42, 116269.
11. Miyake *et al.*, *ACS Catalysis.*, 2020, 10, 5383-5392. Zhou *et al.*, *Nat. Chem.*, 2024, 16, 543-555.
12. Camberlein *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2022, 61, e202203560.
13. Petrilli *et al.*, *Cell Chemical Biology.*, 2020, 26, 32-40.
14. Synergie Lyon Cancer (2013) - "Le parcours du médicament" Publié en ligne à [synergielyoncancer.fr](https://synergielyoncancer.fr). Récupéré de : '<https://www.synergielyoncancer.fr/les-enjeux/le-parcours-du-medicament>' [Ressource en ligne].
15. Camberlein, *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2022, 61, e202203560. Cui, *et al.*, *Analytical Chemistry*, 2024, 96, 15414-15421. Mołęda, *et al.*, *Bioorg. Med. Chem.*, 2021, 42, 116269. Nozal, *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2021, 60, 19344-19354. Tauber, *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2021, 60, 13294-13301.
16. Huang, *et al.*, *Chem. Commun.*, 2024, 60, 12722-12725.
17. Lewis, *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2002, 41, 1053-1057.
18. Xie, *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2024, e202421713.
19. Krasiński, *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, 127, 6686-6692.
20. Cui *et al.*, *Analytical Chemistry.*, 2024, 96, 15414-15421. Du *et al.*, *Chem. Sci.*, 2019, 10, 10343-10350. Pomeislová *et al.*, *ChemistryOpen.*, 2020, 9, 1236-1250.
21. Du *et al.*, *Chem. Sci.*, 2019, 10, 10343-10350.
22. Mancini *et al.*, *Chem. Eur. J.*, 2020, 26, 14585-14593.
23. Wamser *et al.*, *Chem. Eur. J.*, 2024, 30, e202303940.
24. Tauber *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2021, 60, 13294-13301.
25. Bakan, *et al.*, *Curr. Med. Chem.*, 2008, 15, 2536-2544.
26. Mocharla, *et al.*, *Angew. Chem.*, 2005, Int. Ed. 44, 116-120. Mocharla, *et al.*, *ChemMedChem.*, 2013, 8, 43-48. Nguyen, *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2001, 40, 1774-1776. Antti, *et al.*, *ACS Med. Chem. Lett.*, 2018, 9, 4, 351-353.
27. Oueis, *et al.*, *Chem. Commun.*, 2014, 50, 2043-2045.

28. Lossouarn, *et al.*, Chem. Eur. J., 2022, 28, e202202180.
29. Mondal, *et al.*, Chem. Eur. J., 2016, 22, 14826-14830.
30. Hu, *et al.*, J. Am. Chem. Soc., 2008, 130, 13820-13821.
31. Nacheva, *et al.*, J. Med. Chem., 2023, 66, 5196-5207.
32. Brauer, *et al.*, Chem. Eur. J., 2022, 28, e202202259.
33. Nozal, *et al.*, Angew. Chem. Int. Ed., 2021, 60, 19344-19354.
34. Wong, *et al.*, Nat. Commun., 2019, 10, 66.
35. Zhou, *et al.*, Nat. Chem., 2024, 16, 543-555.
36. Max Roser (2021) - "Causes of death globally: what do people die from?" Publié en ligne à OurWorldinData.org. Récupéré de : '<https://ourworldindata.org/causes-of-death-treemap>' [Ressource en ligne].
37. Kugler, *et al.*, RSC Med. Chem., 2023, 14, 144-153.
38. Angelbello, *et al.*, ACS Chemical Biology., 2020, 15, 1820-1825.
39. Angelbello, *et al.*, ACS Chemical Biology., 2020, 15, 1820-1825. Cui, *et al.*, Analytical Chemistry., 2024, 96, 15414-15421. Du, *et al.*, Chem. Sci., 2019, 10, 10343-10350.
40. Supuran, Biochem J., 2016, 473, 2023-2032.
41. Mooers, *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 2005, 102, 16626-16631.
42. Srinivasan, *et al.* Clin. Cancer. Res. 2025, 31, 3662-3677.

# Annexes

## TABLE DES ILLUSTRATIONS

FIGURE 1 : PRINCIPE GENERAL DE LA KTGS. ....	12
FIGURE 2 : DIAGRAMMES D'ENERGIE DE DEUX TYPES DE REACTIONS. ....	13
FIGURE 3 : EXPRESSION DE LA VARIATION D'ENTHALPIE LIBRE EN FONCTION DE LA TEMPERATURE T, DE LA VARIATION D'ENTHALPIE H ET DE LA VARIATION D'ENTROPIE S. ....	14
FIGURE 4 : SCHEMA DES DIFFERENTS TYPES DE CONTROLES NEGATIFS UTILISABLES EN KTGS. REALISE AVEC BIORENDER©. ....	15
FIGURE 5 : DIFFERENTS DESIGNS D'EXPERIENCES DE KTGS, ILLUSTRÉS PAR L'EXEMPLE DE LA CYCLOADDITION ENTRE UN AZOTURE ET UN ALCYNE. ....	16
FIGURE 6 : GRANDES ETAPES DE LA DECOUVERTE ET DU DEVELOPPEMENT DU MEDICAMENT. ....	17
FIGURE 7 : DIAGRAMME D'ENERGIE DES DIFFERENTES CONFORMATIONS POTENTIELLES D'UNE CIBLE. ....	18
FIGURE 8 : COMPARAISON DE LA STRATEGIE KTGS (1) A LA DCC (2). ....	19
FIGURE 9 : ENSEMBLE DES REACTIONS BIOCOMPATIBLES UTILISEES DANS LES PUBLICATIONS D'EXPERIENCES DE KTGS DE 2019 A 2025. ....	22
FIGURE 10 : REPARTITION DES TYPES DE CIBLES EXPLORÉES EN KTGS. ....	23
FIGURE 11 : REPARTITION DES AIRES THERAPEUTIQUES EXPLORÉES PAR KTGS. ....	25
FIGURE 12 : REPARTITION DES DESIGNS DE KTGS. ....	26
FIGURE 13 : SCHEMA DE VISUALISATION DES DIMENSIONS DE DEUX EXPERIENCES DE KTGS. ....	27
FIGURE 14 : REPARTITION DU NOMBRE DE COMBINAISONS PAR EXPERIENCE DE KTGS. ....	27
FIGURE 15 : REPARTITION DES TYPES DE DETECTION UTILISES EN KTGS. ....	29
FIGURE 16 : REPARTITION DU HIT RATE PAR EXPERIENCE DE KTGS. ....	30
FIGURE 17 : REPARTITION DE L'ORIGINE DES WARHEADS UTILISES EN KTGS. ....	31
FIGURE 18 : PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES ET STRUCTURALES DES WARHEADS UTILISES EN KTGS, CALCULEES PAR DATAWARRIOR. ....	32
FIGURE 19 : PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES ET STRUCTURALES DES LIGANDS PRODUITS PAR LA KTGS, CALCULEES PAR DATAWARRIOR. ....	34
FIGURE 20 : EXPERIENCE DE KTGS DEVELOPPEE PAR PUTEAUX ET AL. PDB ID : 1V9E. ....	35
FIGURE 21 : DIFFERENTES ETAPES DE L'EXPERIENCE DE KTGS REALISEE PAR PUTEAUX ET AL. ....	36
FIGURE 22 : EXPERIENCE DE KTGS DEVELOPPEE PAR ANGELBELLO ET AL. ....	38
FIGURE 23 : DIFFERENTES ETAPES DE L'EXPERIENCE DE KTGS REALISEE PAR ANGELBELLO, ET AL. ....	39
FIGURE 24 : COMPARAISON DE LA FLUORESCENCE INDUITE PAR KTGS ENTRE LES MYOFIBRES MUTEES (HSA <sup>LR</sup> ) ET WILD-TYPE (FVB). ....	40
FIGURE 25 : EXPERIENCE DE KTGS DEVELOPPEE PAR ZHOU, ET AL. ....	41
FIGURE 26 : DIFFERENTES ETAPES DE L'EXPERIENCE DE KTGS REALISEE PAR ZHOU ET AL. ....	42
FIGURE 27 : EXPERIENCE KTGS ENCODEE PAR ADN DEVELOPPEE PAR ZHOU, ET AL. UTILISANT LA PROTEASE DU VIH COMME CIBLE ET DES PRECURSEURS KTGS RECONSTITUANT UN INHIBITEUR CONNU DE CETTE CIBLE. ....	43
FIGURE 28 : STRUCTURE DU LIGAND DETECTE PAR KTGS DISPOSANT DE LA MEILLEURE ACTIVITE CONTRE LA FORMATION DU COMPLEXE PROTEINE S-ACE2. ....	43

FIGURE 29 : PRINCIPE DU SYSTEME SQ3370 DEVELOPPE PAR SRINIVASAN ET AL ..... 45

FIGURE 30 : EN 1) LA PROGRESSION DU VOLUME TUMORAL SELON LES DIFFERENTS REGIMES, EN 2) LA COURBE DE SURVIE DES ANIMAUX SELON LES DIFFERENTS REGIMES ..... 46

## Liste des publications incluses pour les calculs de statistique

Angelbello, *et al.*, ACS Chemical Biology., 2020, 15, 1820-1825.

Brauer, *et al.*, Chem. Eur. J., 2022, 28, e202202259.

Camberlein *et al.*, Angew. Chem. Int. Ed., 2022, 61, e202203560.

Chaudhuri *et al.*, Angew. Chem. Int. Ed., 2022, 135, e202215245.

Cui, *et al.*, Analytical Chemistry., 2024, 96, 15414-15421.

Du, *et al.*, Chem. Sci., 2019, 10, 10343-10350.

Hagler *et al.*, Biochemistry, 2020, 59, 3463-3472.

Huang *et al.*, Chem. Commun., 2024, 60, 12722-12725.

Kassu, *et al.*, ACS Infectious Diseases., 2023, 9, 2190-2201.

Kugler *et al.*, RSC Med. Chem., 2023, 14, 144-153.

Lossouarn, *et al.*, Chem. Eur. J., 2022, 28, e202202180.

Mancini *et al.*, Chem. Eur. J., 2020, 26, 14585-14593.

Masuda *et al.*, Chem Asian J., 2020, 15, 742-747.

Miyake, *et al.*, ACS Catalysis., 2020, 10, 5383-5392.

Molęda *et al.*, Bioorg. Med. Chem., 2021, 42, 116269.

Nacheva, *et al.*, J. Med. Chem., 2023, 66, 5196-5207.

Nozal, *et al.*, Angew. Chem. Int. Ed., 2021, 60, 19344-19354.

Petrilli *et al.*, Cell Chemical Biology., 2020, 26, 32-40.

Pomeislová *et al.*, ChemistryOpen., 2020, 9, 1236-1250.

Puteaux *et al.*, Angew. Chem. Int. Ed., 2024, 63, e202407888.

Tauber, *et al.*, Angew Chem. Int. Ed., 2021, 60, 13294-13301.

van der Vlag *et al.*, ChemMedChem, 2020, 15, 370-375.

Wamser, *et al.*, Chem. Eur. J., 2024, 30, e202303940.

Zhou *et al.*, Nat. Chem., 2024, 16, 543-555.

Xie *et al.*, Angew. Chem. Int. Ed., 2024, e202421713.

Université de Lille  
UFR3S-Pharmacie  
**DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**  
Année Universitaire 2025/2026

**Nom : Blanchart**  
**Prénom : Paul**

**Titre de la thèse : Utilisation de la synthèse guidée par la cible de manière cinétique en chimie médicinale**

**Mots-clés : KTGS, chimie médicinale.**

---

**Résumé :**

La synthèse guidée par la cible de manière cinétique (KTGS) est une stratégie de chimie médicinale employée pour découvrir de nouvelles molécules thérapeutiques. Cette stratégie innovante permet d'explorer l'espace conformationnel des macromolécules par des petites molécules de manière originale. De récentes avancées permettent d'étendre son utilisation en cellule et également à la découverte de modulateurs d'interactions protéines-protéines, de ligands des acides nucléiques. Ce travail est une revue des avancées les plus récentes.

---

**Membres du jury :**

**Président :** Dr. Jamal El Bakali (MCU-HDR) INSERM UMR-S1172.

**Assesseur(s) :** Pr. Rebecca Deprez-Poulain (PharmD, HDR) INSERM U1177.

**Membre(s) extérieur(s) :** Dr. Vasileios Fougiaxis (PharmD, PhD) INSERM U1177, Dr. Robin Dufosse (PharmD, MCU) INSERM UMR-1322.