



8-10 juin 2022



Amphi Marthe Condat
Université Toulouse III
Campus Paul Sabatier
Toulouse

2^{èmes} Journées du GDR ChemBio & 34^{ème} Journée Chimie-Biologie-Santé



Journées Scientifiques du GDR ChemBio 8 et 9 Juin 2022 Toulouse

Auditorium Marthe Condat, université Toulouse III – Paul Sabatier

Mercredi 8 Juin 2022

Accueil à partir de 9h00

9h30 - 9h50 : Présentation des journées (CoDir GDR ChemBio et Yves Génisson)

9h50 - 10h30 : Christelle Hureau (LCC, UPR 8241, Toulouse)
A short trip to the role of metal ions in Alzheimer's disease

10h30-11h Pause café

11h00-11h20 : Eric Defrancq (DCM, UMR 5250, Grenoble)
Chemical biology of G-quadruplex and i-motif DNA: use of topologically constrained DNA

11h20-11h40 : Myriam Seemann (Institut de Chimie de Strasbourg, UMR 7177, Strasbourg)
GcpE, a target for the development of new antimicrobials

11h40-12h00 : Guy Zuber (Biotechnologie et signalisation cellulaire, UMR 7242, Strasbourg)
Gold markers for detection of specific effectors in living cells

12h00-12h20 : Laurence Lafanechère (Institut pour l'Avancée des Biosciences, U 1209, UMR 5309)
Carba1 : une piste thérapeutique prometteuse pour améliorer les chimiothérapies aux taxanes

12h20-14h00 Pause déjeuner / Session Posters

14h00-14h20 : Peter Dalko (LC BPT, UMR 8601, Paris)
Tissue / Organ-Selective Conditionally Activable Drug-Delivery System for Non-Viral Transfection

14h20-14h40 : Mireille Blanchard-Desce (ISM UMR 5255, Bordeaux)
All-organic, intrinsically stealth nanoparticles for investigation of the extracellular space of the brain

14h40-15h00 : Stéphane Petoud (CBM, UMR 4301, Orléans)
Nouveaux outils pour l'analyse biologique et le diagnostic médical: complexes de lanthanide combinant détection optique proche-infrarouge et photoacoustique

15h00-15h20 : Béatrice Gerland (LSPCMIB, UMR 5068, Toulouse)
Oligonucléotides fonctionnalisés comme mimes de protéases à serine

15h20-16h00 : Flash talks session 1

Mélina Chebaiki *Chimie click in situ pour la formation de nouveaux inhibiteurs d'InhA de Mycobacterium tuberculosis*

Paul Demay-Drouhard *Tetracyclic heteroaryl-fused triazapentalenes: towards in vivo imaging of hypoxia*

Younes Bouchiba *Computational design of miniprotein binders*

Yannick Masson *Fluorescence expansion microscopy a tool servicing bioorthogonal chemistry*

16h00-16h30 Pause café

16h30-16h50 : Yann Bourdreux (ICMMO, UMR 8182, Orsay)
Synthèse d'outils moléculaires pour l'étude de la membrane des Corynebacteriales

16h50-17h50 : Table ronde - Stratégies valorisation de la chémobiologie
Intervenants confirmés : Aurélien Chollet (Antabio), Olivier Rolland (TWB), Cédric-Olivier Turrin (IMD Pharma), Marc Poirrot (Affichem), Romain Vellas (DSL, UT3), Delphine Puertolas (SATT TTT).

Jeudi 9 Juin 2022

9h00-9h40 : Carine Giovannangeli (Museum National d'Histoire Naturelle, Paris)

CRISPR genome editing : how to get it better ?

9h40-10h00 : François-Xavier Theillet (IBIC, UMR 9198, Gif sur Yvette)

Novel mammalian expression systems and isotope labeling schemes for in-cell NMR studies

10h00-10h20 : Pauline Poinot (ICMMP, UMR 7285, Poitiers)

Induced Volatolomics of pathologies

10h20-10h50 Pause café

10h50-11h10 : Sébastien Fort (CERMAV, UPR 5301, Grenoble)

Highjacking the peptidoglycan recycling pathway of Escherichia coli for the production of muropeptides

11h10-11h50 : Flash talks session 2

Marc Borie-Guichot Froger *Synthèse de chaperons pharmacologiques multivalents par chimie « click » pour la maladie de Pompe*

Marielle Drommi *Study of the hydrolytic cleavage of peptide bond in Alzheimer's disease context*

Jean Contreras *Chemical probes targeting an epigenetic reader protein: MBD2*

Mathieu Carlier *Glycosyltransferase inhibitor engineering and its uses to study plant cell growth*

12h00-14h Pause déjeuner / Session Posters

14h00-14h40 : Ludovic Jullien (Pasteur, Paris)

Expériences extrachimiques aux frontières du vivant

14h40-15h : Virginie Nahoum (PICT, IPBS, UMR 5089, Toulouse)

La Plateforme Intégrée de Criblage de Toulouse (PICT) : du criblage au design moléculaire

15h00-15h30 Pause café

15h30-15h50 : Sébastien Britton (IPBS, UMR 5089, Toulouse)

Deciphering and exploiting the mechanism of action of a large family of cytotoxic lipids bioinspired by compounds produced by marine sponges

15h50-16h20 : Flash talks session 3

Dimitri Leonelli *Mycobacterial monoxygenases: key actors for future antituberculosis strategies*

Marie Beaurain *Étude de l'affinité, de la spécificité, et de la métabolisation in vitro de candidats radiotraceurs fluorés vis-à-vis du site PCP des récepteurs NMDA.*

Baptiste Mouysset *Unraveling the polypharmacology of beta-blockers in neuroblastoma using chemo-proteomics approaches*

16h20-16h40

Conclusion

XXXIV^{ème} Journée Chimie-Biologie-Santé

Vendredi 10 juin 2022
Amphithéâtre M Condat

Université P Sabatier, bâtiment administratif, Toulouse

08h45	Ouverture de la XXXIV ^{ème} Journée Chimie-Biologie-Santé de Toulouse
09h00	Dr. Stephan HACKER (Leiden University, Pays-Bas) <i>"Covalent Inhibitors for the Proteome-wide Identification of New Druggable Targets for Antibiotics"</i>
9h50	Justine BEUSCART (LHFA, Toulouse) <i>"Synthetic approaches for cathepsin S inhibitors: toward fluorinated analogues"</i>
10h10	Pause-café
10h30	Dr. Olivier CALVAYRAC (CRCT, Toulouse) <i>"Small molecule combinations to improve targeted therapies in lung cancer"</i>
11h00	Dr. Michel N'GUYEN (LCC, Toulouse) <i>"Chélateurs tétradentates spécifiques pour réguler l'homéostasie du cuivre : une voie pour le traitement de la maladie d'Alzheimer"</i>
11h30	Dr. Cécile BON (IPBS, Toulouse) <i>"New attack against mycolic acid biosynthesis, Achilles' heel of Mycobacterium tuberculosis: mechanism of inhibition of HadAB, a dehydratase of the FAS-II system, by ebselen."</i>
12h00	Corentin BOUVIER (LCC, Toulouse) <i>"New therapeutic approaches in mantle cell lymphoma based on (macro)molecular multivalent platforms targeting proteaphagy"</i>
12h20	Session Posters / buffet
14h30	Dr. Frédéric FRISCOURT (IECB, Bordeaux) <i>"Exploiting Bioorthogonal Chemical Reporters for Controlling the Processing of Sialosides by Glyco-enzymes in Living cells"</i>
15h20	Margaux BOSSUAT (SPCMIB, Toulouse) <i>"Development of bioinspired lipidic alkynylcarbinols as anticancer agents"</i>
15h40	Dr. Cécile DEHOUX (SPCMIB, Toulouse) <i>"Chaperons pharmacologiques multivalents pour le traitement des maladies de surcharge lysosomale"</i>
16h10	Remise du prix poster et clôture de la journée

Avec la participation du **Master 2 Indifférencié Chimie-Santé de l'Université Paul Sabatier**

Comité d'organisation : Dr. Florence Bedos-Belval (SPCMIB), Pr. Vania Bernardes-Génisson (LCC),
Dr. Yves Génisson (SPCMIB) et Dr. Sébastien Britton (IPBS)

Table des matières

Conférences plénières	5
A short trip to the role of metal ions in Alzheimer's disease, Hureau Christelle	5
Covalent Inhibitors for the Proteome-wide Identification of New Druggable Targets for Antibiotics, Hacker Stephan	7
Exploiting Bioorthogonal Chemical Reporters for Controlling the Processing of Sialosides by Glyco-enzymes in Living cells, Friscourt Frédéric	8
Communications orales	9
Gold markers for detection of specific effectors in living cells, Zuber Guy	9
Chemical-Biology of G-quadruplex and i-motif DNA: use of topologically constrained DNA, Defrancq Eric	10
All-organic, intrinsically stealth nanoparticles for investigation of the extracellular space of the brain, Blanchard-Desce Mireille [et al.]	11
Induced Volatolomics of pathologies, Poinot Pauline	12
Highjacking the peptidoglycan recycling pathway of Escherichia coli for the production of mucopeptides, Fort Sébastien [et al.]	13
Nouveaux outils pour l'analyse biologique et le diagnostic médical: complexes de lanthanide combinant détection optique proche-infrarouge et photoacoustique, Petoud Stéphane [et al.]	14

GcpE, a target for the development of new antimicrobials, Seemann Myriam [et al.]	15
Synthèse d'outils moléculaires pour l'étude de la membrane des Corynebacterales, Bourdreux Yann	16
Carba1 : une piste thérapeutique prometteuse pour améliorer les chimiothérapies aux taxanes, Lafanechère Laurence	17
Oligonucléotides fonctionnalisés comme mimes de protéases à sérine, Gerland Beatrice	18
La Plateforme Intégrée de Criblage de Toulouse (PICT) : du criblage au design moléculaire, Nahoum Virginie [et al.]	19
Tissue / Organ-Selective Conditionally Activable Drug-Delivery System for Non-Viral Transfection, Dalko Peter [et al.]	21
Deciphering and exploiting the mechanism of action of a large family of cytotoxic lipids bioinspired by compounds produced by marine sponges, Britton Sébastien [et al.]	22
Novel mammalian expression systems and isotope labeling schemes for in-cell NMR studies. , Theillet Francois-Xavier [et al.]	24
Communications éclair	25
Glycosyltransferase inhibitor engineering and its uses to study plant cell growth, Carlier Mathieu [et al.]	25
Chemical probes targeting an epigenetic reader protein: MBD2, Contreras Jean	26
Étude de l'affinité, de la spécificité, et de la métabolisation in vitro de candidats radiotraceurs fluorés vis-à-vis du site PCP des récepteurs NMDA., Beau-rain Marie [et al.]	27
Chimie click in situ pour la formation de nouveaux inhibiteurs d'InhA de Mycobacterium tuberculosis, Chebaiki Méline [et al.]	29

Unraveling the polypharmacology of beta-blockers in neuroblastoma using chemo-proteomics approaches, Mouysset Baptiste [et al.]	30
Tetracyclic heteroaryl-fused triazapentalenes: towards in vivo imaging of hypoxia, Demay-Drouhard Paul [et al.]	32
Synthèse de chaperons pharmacologiques multivalents par chimie " click " pour la maladie de Pompe, Borie-Guichot Froger Marc [et al.]	33
Computational design of miniprotein binders, Bouchiba Younes	34
Study of the hydrolytic cleavage of peptide bond in Alzheimer's disease context, Drommi Marielle [et al.]	36
Mycobacterial monooxygenases: key actors for future antituberculosis strategies, Leonelli Dimitri	37
Fluorescence Expansion Microscopy a tool servicing Bioorthogonal chemistry, Masson Yannick	38
Affiches	39
New ATCUN peptides to prevent ROS formed by Amyloid- β bound Copper: evidence for a sequence - activity relationship, Lefevre Margot	39
Structuration et fonctionnalisation d'oligonucléotides : vers des mimes de protéases à Sérine ?, Chardet Crystalle [et al.]	40
2-Aminothiénylpyrimidinones antiplasmodiales : sondes pour l'étude du mécanisme d'action par chromatographie d'affinité, Martins Enzo [et al.]	41
New specific copper (I) chelator's in Alzheimer's disease context, Rulmont Clément	42
Quantitative Analysis of Quorum Sensing Signal Molecules by Ultrahigh-Performance liquid chromatography-tandem mass spectrometer (UHPLC-MS/MS)., Claparols Catherine [et al.]	43
Plateforme technologique et d'expertise de l'Institut de Chimie de Toulouse (ICT), Laborie Pascale [et al.]	44

Biochemical and functional characterization of SARS-CoV-2 Nsp3 – RNA G4 complexes and therapeutic properties of G4-ligands inhibiting their formation, Munier-Lehmann H�el�ene	45
�tude de l’affinité, de la spécificité, et de la métabolisation in vitro de candidats radiotraceurs fluorés vis-à-vis du site PCP des récepteurs NMDA., Beau-rain Marie [et al.]	46
Phospholes fluorescents fonctionnalisés pour le marquage de peptides, R�-mond Emmanuelle [et al.]	48
Fluorogenic Probes for Background-Free Live-Cell Imaging of GPCRs, Karpenko Julie [et al.]	49
Nouvelle méthode de criblage de ligands de l’alpha-glucosidase acide, Borie-Guichot Froger Marc [et al.]	50
Caractérisation des complexes ((TMPA)Cu(II)(SO3)) et ((TMPA)Cu(II)(S2O3)): Application à la détection rapide de sulfite et thiosulfate., Mallet-Ladeira Sonia	51
Synthesis of polycationic phosphorus dendrimers: evaluation of biological properties., Laurent Régis [et al.]	52
Chaperons pharmacologiques multivalents à base de dendrimères pour la maladie de Gaucher, Tran My Lan [et al.]	53
Vers de nouveaux inhibiteurs d’InhA découvert par cristallographie combinatoire dynamique aux rayons X, Tamhaev Rasoul	54
Fluorescent Turn-ON Detection of Bacteria with Targeted Bioconjugates, Weiss Lucille [et al.]	56
Design, synthesis and biological evaluation of new fluorinated compounds derived from Spexin for the potential treatment of pain, Berthomé Yann [et al.]	57
�laboration de matériaux microporeux, comme supports de culture bactérienne et la délivrance de probiotiques., Leluc Adeline	58

PhotoCORMs-based nanomaterials: towards new agents for antimicrobial therapeutics, Guilbaud Valentine [et al.]	59
Fluorescence Expansion Microscopy a tool servicing Bioorthogonal chemistry, Masson Yannick	60
Neutral NHC-gold(I) complexes with fluorinated ligand for antileishmanial activity, Salis Chloé	62
Self-assembly properties of murine versus human amyloid-beta peptide can not explain why mice do not develop the Alzheimer's disease, De Cremoux Lucie [et al.]	63
La Plateforme Intégrée de Criblage de Toulouse (PICT) : du criblage au design moléculaire, Nahoum Virginie	64
Mécanochimie pharmaceutique. Synthèse, études spectroscopiques et activités biologiques de deux hydrazones à motif 3-aminorhodanine, Kapusterynska Anna [et al.]	65
Synthesis of multi-target hybrid molecules against tuberculosis, Amrane Dyhia	66
Screening and profiling of bioactive molecules at the CMBA platform, Barette Caroline [et al.]	67
Sondes luminescentes lanthanidiques pour le suivi in situ de l'ATP extracellulaire et des ROS lors de la neuroinflammation, Collin Fabrice [et al.]	68
Vers de nouveaux agents anti-mycobactériens potentiels inspirés de produits naturels acétyléniques, Allouda Sarah	69
Probing protein structural dynamics by nitroxide-based SDSL-EPR at room-temperature in bacterial cells, Pierro Annalisa [et al.]	70
Novel Imiquinalines : Chemical Biology in the service of OncoMedChem, Patinote Cindy [et al.]	71
Liste des participants	72

A short trip to the role of metal ions in Alzheimer's disease.

Esmieu Charlène,^a Emilie Mathieu,^a Geneviève Ptraviel and Christelle Hureau.^{a,*}

a. Laboratoire de Chimie de Coordination, 205 Route de Narbonne, 31077 Toulouse cedex 04,
France

* Correspondance : christelle.hureau@lcc-toulouse.fr

Résumé :

Alzheimer (AD) is a multifactorial disease where two key events have been linked to the etiology of the disease: (i) the self-assembly process of the Alzheimer-related amyloid- β (A β) peptides leading to the deposits of A β amyloids in the senile plaques detected in AD patients [1] and (ii) oxidative stress.[2] Metal ions (copper, zinc and iron) have been found in the senile plaques in abnormally high level. They can modulate the self-assembly of the A β peptides and A β -bound copper ions can catalyze the production of Reactive Oxygen Species. They are thus key players in the pathology.

During the talk, I will give an overview of the approaches we have devopped in the last years to (i) first understand at the molecular level how metal ions are linked to the fate of the disease [1-3] and to (ii) overcome their deleterious effects by new copper-targeting molecules.[3]

1. Atrian-Blasco, E.; Gonzalez, P.; Santoro, A.; Alies, B.; Faller, P.; Hureau, C., Cu and Zn coordination to amyloids: a chemistry of pathological importance ? *Coord. Chem. Rev.* **2018**, *371*, 38-55.
2. Cheignon, C.; Tomas, M.; Bonnefont-Rousselot, D.; Faller, P.; Hureau, C.; Collin, F., Oxidative stress and the amyloid beta peptide in Alzheimer's Disease. *Redox Biology* **2018**, *14*, 450-464.
3. Esmieu, C.; Guettas, D.; Conte-Daban, et al., Copper-Targeting Approaches in Alzheimer's Disease: How To Improve the Fallouts Obtained from in Vitro Studies. *Inorg. Chem.* **2019**, *58* (20), 13509-13527.

Keywords: Copper ; Zinc; Amyloid-forming peptides; ROS; drug design.

CH acknowledges the ERC StG 638712 ('aLZINK') and CE the ANR COPPERATION for financial support. CH warmly thank the past and current researchers who have contributed to the results that will be illustrated.

Covalent Inhibitors for the Proteome-wide Identification of New Druggable Targets for Antibiotics

Stephan Hacker^{a*}

a. Department of Molecular Physiology, Leiden Institute of Chemistry, Leiden University

* Correspondance : s.m.hacker@lic.leidenuniv.nl

Résumé :

The potency and selectivity offered by covalent inhibitors have led to a resurgence of their application in drug discovery.¹ In this context, modern residue-specific chemoproteomic approaches allow the highly parallel profiling of the ligandability of whole proteomes with resolution of the targeted amino acid.^{2,3,4} This enables the simultaneous identification of many new ligandable binding sites in potential target proteins for therapeutic intervention alongside first ligands to interrogate their function.

Our group is developing covalent inhibitors in the context of antibiotics, because new druggable antibacterial targets are urgently needed to overcome bacterial resistance.⁵ We have developed a tailored method for residue-specific chemoproteomics in bacteria that we term isoDTB-ABPP.² We have applied this technology for the screening of cysteine-directed ligands in *S. aureus* and identified >250 binding sites that can be addressed with covalent ligands and that are starting points for the development of novel antibiotics.

Furthermore, we are developing new chemotypes to globally investigate a variety of other amino acids. Here, we have recently profiled more than 50 electrophilic alkyne probes for their proteome-wide reactivity and selectivity⁶ and identified first in class probes to globally study aspartates and glutamates⁷ as well as arginines, histidines and tryptophans in the proteome.⁶ These studies will help us to identify a plethora of new druggable bacterial targets that can be addressed with novel antibiotics.

1. J. Singh et al. *Nat. Rev. Drug. Discov.* **2011**, *10*, 307-317.
2. P. R. A. Zanon et al. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2020**, *59*, 2829-2836.
3. K. M. Backus et al. *Nature* **2016**, *534*, 570-574
4. S. M. Hacker et al. *Nature Chem.* **2017**, *9*, 1181-1190.
5. M. Lakemeyer et al. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *57*, 14440-14475.
6. P. R. A. Zanon et al. *ChemRxiv* **2021**, doi: 10.33774/chemrxiv-2021-w7rss-v2
7. K. Bach et al. *ACS Cent. Sci.* **2020**, *6*, 546-554.

Exploiting Bioorthogonal Chemical Reporters for Controlling the Processing of Sialosides by Glyco-enzymes in Living cells

Frédéric Friscourt, Ph.D.,

Associate Professor

Junior Chair of Excellence in Chemical Biology

CNRS ATIP-Avenir Group Leader

European Institute of Chemistry and Biology, ISM CNRS UMR5255,

University of Bordeaux, France

www.friscourtlab.com | f.friscourt@iecb.u-bordeaux.fr

Sialic acids are anionic nine-carbon carbohydrates generally found as terminal sugars of mammalian cell-surface glycoproteins and glycolipids. Because of their distinct cellular location, sialo-glycoconjugates (also known as sialosides) are often key mediators of physiological and pathological events, including cell adhesion, host–pathogen interactions, and cancer progression.^[1]

Due to the posttranslational nature of sialoconjugates, applications of classical biochemical imaging tools such as the use of fusion fluorescent proteins are not amenable for tracking these complex carbohydrates in living cells. **The bioorthogonal chemical reporter strategy**, which elegantly combines the use of metabolically labeled azido-sugars and highly reactive cyclooctyne probes, is emerging as a versatile technology for labeling and visualizing sialosides. (Figure).^[2] This strategy relies on the fact that bioorthogonal chemical reporters are highly reactive species while being biologically noninvasive.

During this talk, I will present our recent efforts to show that chemical bioorthogonal reporters may actually impact sialosides processing enzymes activity,^[3] providing us with novel, **more selective**, chemical biology tools for studying the biological roles of cell-surface sialosides.

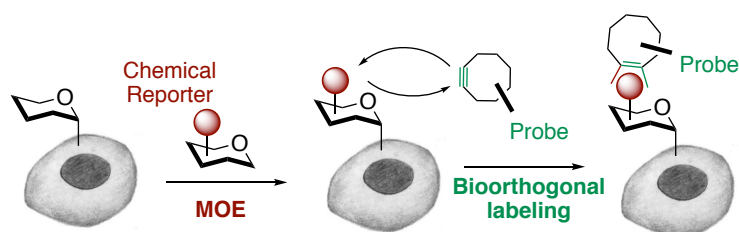


Figure: Bioorthogonal chemical reporter strategy for imaging the glycome

Reference:

[1] A. Varki, *Nature* **2007**, *446*, 1023.

[2] Chinoy, Z. S.; Friscourt, F.: Bioorthogonal Chemical Ligations Towards Neoglycoproteins. In: *Comprehensive Glycoscience*, 2nd Edition (J. J. Barchi, Jr ed.), Elsevier, **2021**, Volume 2, *Chapter* 56, 660.

[3] a) Chinoy, Z.; Bodineau, C.; Favre, C.; Moremen K. W.; Durán R. V.; Friscourt, F. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, *58*, 4281. b) Chinoy, Z. S.; Montembault, E.; Moremen, K. W.; Royou A.; Friscourt, F. *ACS Chem. Biol.* **2021**, *16*, 2307.

Gold markers for detection of specific effectors in living cells

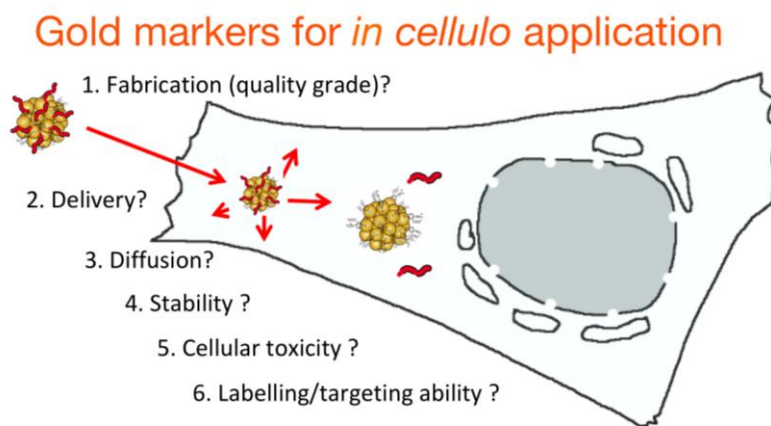
ZUBER Guy.^{a,*}

a. CNRS Université de Strasbourg UMR 7242, 300 bld 67400 Illkirch

* Correspondance : zuber@unistra.fr

Résumé :

For high-resolution electron microscopy, conjugation of selective binders originating from the immune response arsenal to gold nanoparticles (AuNPs) as contrasting agents is the method of choice to obtain labeling tools. However, the advances in microscopy technology have unraveled limitations of the classical AuNPs. Herein, we developed thiolate-coated AuNPs containing an inner core of gold atoms that was surrounded by an organic monolayer made of thioaminobenzoic acids (TAB) and anionic thionitrobenzoic acids (TNB).¹ The mixed TAB-,TNB-protected gold nanocluster reacted well in water with thiolated peptides or thiolate antibody derivatives, providing AuNPs that were functionalized with organic elements with targeting abilities.² The behavior of these functionalized gold nanoparticles was then assayed in presence of living cells and more specifically inside living cells using an electroporation procedure allowing transient plasma membrane permeability. Light and electron microscopy observations demonstrated inflow and diffusion of the gold nanoparticles into the cytosol as well as specific binding to their targets. Altogether, we will show that definable ligand-substituted gold nanoclusters can become promising detecting tools for cellular electro microscopy in a full cryo-EM procedure, opening the possibility to visualize the cellular machinery at unprecedented resolution.



1. Desplancq, D.; Groybeck, N.; Chiper, M.; Weiss, E.; Frisch, B.; Strub, J.-M.; Cianferani, S.; Zafeiratos, S.; Moeglin, E.; Holy, X.; Favier, A. L.; De Carlo, S.; Schultz, P.; Spehner, D.; Zuber, G. Cytosolic Diffusion and Peptide-Assisted Nuclear Shuttling of Peptide-Substituted Circa 102 Gold Atom Nanoclusters in Living Cells. *ACS Applied Nano Materials* **2018**, *1* (8), 4236–4246.
2. Groybeck, N.; Stoessel, A.; Donzeau, M.; da Silva, E. C.; Lehmann, M.; Strub, J.-M.; Cianferani, S.; Dembélé, K.; Zuber, G. Synthesis and Biological Evaluation of 2.4 Nm Thiolate-Protected Gold Nanoparticles Conjugated to Cetuximab for Targeting Glioblastoma Cancer Cells via the EGFR. *Nanotechnology* **2019**, *30* (18), 184005.

Keywords: targeting, electron microscopy, immuno-intervention

Chemical-Biology of G-quadruplex and i-motif DNA: use of topologically constrained DNA

N. Reda,^d N. Scaramozzino,^d D. Gomez,^b J.-F. Riou,^c T. Lavergne,^a J. Dejeu,^a E. Defrancq^a
^a Département de Chimie Moléculaire - Université Grenoble Alpes, CNRS, 38000 Grenoble, France; ^b Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale, Université de Toulouse, CNRS, 31077 Toulouse, France; ^c Muséum National d'Histoire Naturelle, INSERM/CNRS 75005 Paris, France; ^d Laboratoire Interdisciplinaire de Physique - Université Grenoble Alpes, CNRS, 38000 Grenoble, France.
* e-mail: eric.defrancq@univ-grenoble-alpes.fr

Many studies have provided demonstrations of the impact of tetraplex structures such as G-quadruplex (**G4-DNA**) and i-motif (**i-DNA**) at the cellular level. Although a large number of proteins able to bind and/or "to resolve" those structures have been identified *in vitro*, less is known about their mode of interaction, their selectivity for a given topology and their specificity of action at the cellular level. Indeed, the intrinsic polymorphism of **G4-DNA** could lead to complex and intricate structural mixtures in solution that can complicate the rationalization of the relationships between G-quadruplex structure and their recognition by proteins. In the other hand, the main problem for **i-DNA** is related to pH issues *i.e.* the stability of i-DNA strongly depends on the pH.

To tackle these issues, we develop a strategy based on the use of mimic **G4-DNA** and **i-DNA** substrates, designed to constrain the **G4-DNA** to a single stable topology and to minimize the pH dependence of **i-DNA**, respectively.¹ The strategy is based on the use of a rigid cyclic peptide scaffold as a topological template for directing the intramolecular assembly of the anchored oligonucleotides into the desired structure. A panel of predetermined single G-quadruplex topologies in which the equilibrium between different conformations is precluded as well as i-motif DNA which are more stable in physiological pH have been prepared (Fig. 1).

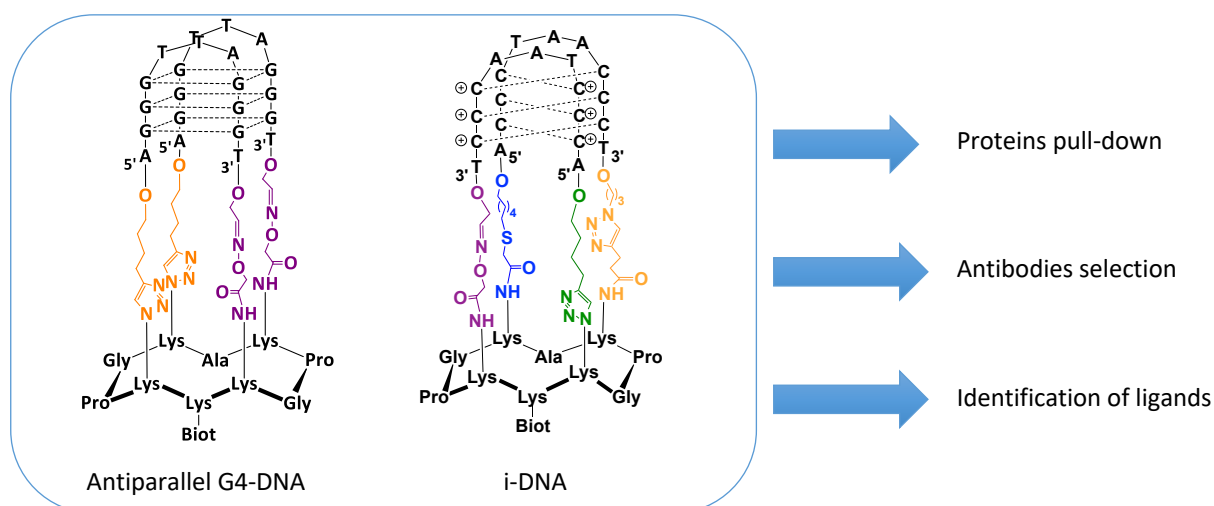


Figure 1. Examples of topologically constrained **G4-DNA** and **i-DNA** and applications.

We will present our recent results using those topologically constrained **G4-DNA** and **i-DNA**. In particular, these substrates were employed to pull-down interacting proteins in human whole cell extract and, as an example, have provided useful information regarding G-quadruplex topological selectivity.² The antiparallel G4 model (Fig. 1) was also used for the selection of antibodies by using phage display method. An antibody highly selective for the antiparallel topology has been identified: its interaction for other G-quadruplex topologies as well as for duplex DNA was found to be negligible.

Acknowledgment: This work is supported by Agence Nationale de la Recherche (ANR G4-TopIPro n°ANR-16-CE11-0006-01 and ANR i-CARE n° ANR-21-CE44-0005-02).

¹ a) Access to a stabilized i-motif DNA structure through four successive ligation reactions on a cyclopeptide scaffold. A. Devaux, et Al. *Org. Biomol. Chem.*, **2020**, *18*, 6394; b) Construction of antiparallel G-Quadruplexes through sequential templated click. R. Bonnet, et Al. *Chem. Comm.* **2015**, *51*, 4850.

² Constrained G4 structures unveil topology specificity of known and new G4 binding proteins. A. Pipier et Al. *Scientific Report*, **2021**, *11*, 13469.

All-organic, intrinsically stealth nanoparticles for investigation of the extracellular space of the brain

M. Rosendale,^a J. Daniel^a, P. Pagano,^a L. Cognet,^b J.-B Verlhac,^a M. Blanchard-Desce^{a,*}

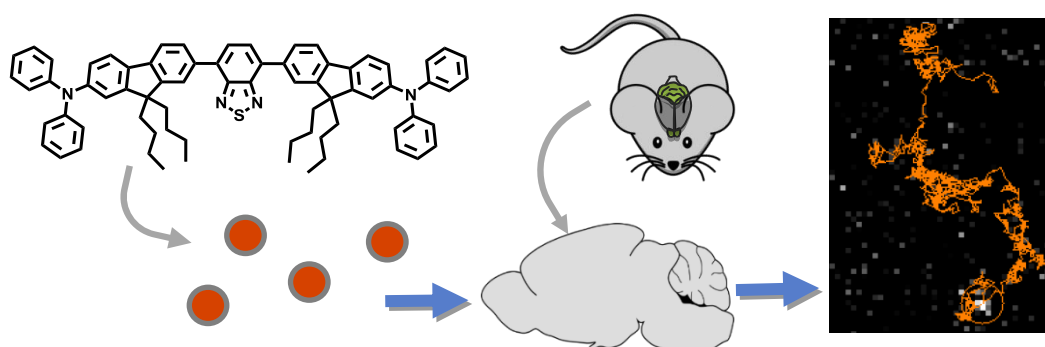
a. Institute of Molecular Sciences, University of Bordeaux, 351 cours de la libération, 33400 Talence, France

b. LP2N, Institut d'Optique d'Aquitaine, Rue François Mitterrand, 33400 Talence, France

* mireille.blanchard-desce@u-bordeaux.fr

Résumé :

Nanotechnologies have the potential to revolutionize our understanding of devastating diseases such as cancer or neuropathologies through the design of nanocarriers for drug delivery and of fluorescent nanoemitters for bioimaging. Single particle tracking (SPT) is a class of techniques that allows us to dynamically follow the fate of single molecules in living tissue. To date, the wealth of information provided by SPT was mostly obtained in simplified systems such as cell monolayers. However, the microenvironment of a cell highly regulates its behavior and its molecular dynamics. There is therefore a need to perform SPT deep in intact tissue. In this respect; quantum-dots are the most widely used nanoparticles thanks to their unprecedented brightness and photostability. However, their inorganic core is inherently water insoluble, requiring them to be coated by solubilizing agents and they raise concern with respect to eco-toxicity. To circumvent these limitations, our lab develops Fluorescent Organic Nanoparticles (FONs) as a promising, all organic, biocompatible, spontaneously water soluble alternative. Our specifically engineered FONs built from custom-made dyes show giant brightness and remarkable colloidal and optical stabilities [1]. We previously reported on green [1a] and near-infrared [1b] emitting FONs that could enter and be tracked in living cells, making them good candidates for drug delivery systems. In contrast, stealth emitters are required for tracking cell-surface receptors or exploring the extracellular space. In this direction, we recently developed spontaneously stealth, size-tunable, ultra-bright and red to NIR emitting FONs [2]. Thanks to these unique properties, these FONs could be imaged and tracked up to 150 μm deep in brain tissue [2a]. These novel FONs represent promising candidates for the next generation of tools for super resolution imaging in biological tissues.



References

- [1] a) J. Daniel *et al.*, *J. Phys. Appl. Phys.* 49. (2016) 084002; b) E. Genin *et al.* *Adv. Mater.* 26. (2014) 2258.
[2] a) M. Rosendale *et al.*, *Adv. Mater.* 33. (2021) 2006644. b) P. Pagano, M. Rosendale *et al.*, *J. Phys. Chem. C.* 125. (2021) 25695.

Keywords: Bioimaging, extracellular space; fluorescent dyes; organic nanoparticles; single particle tracking

VOC's Art : nouvelles sondes pour l'exploration, la détection et le suivi des tumeurs solides

Estelle Blochouse^a, Nahla Araj^a, Justin Lange^a, Rémi Châtre^a, Wei Tuo^a, Claude Geffroy-Rodier^a, Sébastien Papot^a and Pauline Poinot^{a*}

a. Université de Poitiers, UMR CNRS 7285, Institut de Chimie des Milieux et Matériaux de Poitiers (IC2MP), Poitiers, France.

* Correspondance : pauline.poinot@univ-poitiers.fr

Résumé :

Le volatolome, ensemble des composés organiques volatils (COVs) produits par un système biologique, est un domaine scientifique émergent qui a pour principale application le diagnostic précoce des maladies. Malgré ses nombreux avantages en terme de sensibilité de détection et de simplicité de mise en œuvre, son transfert en clinique reste limitée en raison d'une grande variabilité inter-individuelle et d'une disparité inter-laboratoire pour ce qui est du prélèvement et de l'analyse des COVs dans les fluides ou gaz biologiques.

Dans ce contexte, nous travaillons sur un concept émergent qui repose sur l'utilisation de sondes qui après activation, libère un COV exogène utilisé comme traceur de maladie. Cette courte présentation aura pour objet la description de la stratégie, ses premiers résultats, et les perspectives à venir.

1. Djago, F.; Lange, J.; Poinot, P. *Nat. Rev. Chem.* **2021**, 5, 183-196. DOI: 10.1002/anie.201906261.
2. Lange, J.; Eddhif, B.; Tarighi, M.; Garandeau, T.; Peraudeau, E.; Clarhaut, J.; Renoux, B.; Papot, S.; Poinot, P. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, 58(49), 17563-17566. DOI: 10.1038/s41570-020-00248-z.

Keywords: Composés Organiques Volatils ; Sondes; Exploration in vivo et ex vivo ; Inflammation ; Infection

Highjacking the peptidoglycan recycling pathway of *Escherichia coli* for the production of muropeptides

Rousseau Antoine, Michaud Julie, Pradeau Stéphanie, Armand Sylvie, Cottaz Sylvain, Richard Emeline, Fort Sébastien*

Univ. Grenoble Alpes, CNRS, CERMAV, 38000 Grenoble, France

* Correspondance : sebastien.fort@cermav.cnrs.fr

Résumé :

Muropeptides resulting from the bacterial cell wall breakdown, trigger immune responses in mammals, plants and some insects.^{1,2} They also take part in the antimicrobial resistance (AMR) mechanisms. Thus, these peptidoglycan metabolites are target molecules for the development of adjuvants, therapeutics against cancer and inflammatory diseases and lastly to study and fight AMR. In the present work, we have engineered *Escherichia coli* peptidoglycan-recycling pathway³ to produce N-acetyl- β -D-glucosaminyl-(1 \rightarrow 4)-1,6-anhydro-N-acetyl- β -D-muramic acid (GlcNAc-anhMurNAc) a common precursor of both Gram-negative and Gram-positive muropeptides. Inactivation of the NagZ hexosaminidase allowed the production of this key disaccharide at a preparative scale providing a convenient access to Gram-positive muropeptides by a simple chemical modification step. In addition, *E. coli* strains deficient in NagZ hexosaminidase and amidase activities enabled the in vivo production of Gram-negative bacteria tri- and tetrapeptide disaccharides at hundreds of milligrams per liter of culture. In summary metabolic engineering of the peptidoglycan-recycling pathway of *E. coli* offers a straightforward access to a diversity of muropeptides including those containing meso-diaminopimelic acid⁴⁻⁶, a hardly available amino-acid.

- (1) Irazoki, O.; Hernandez, S. B.; Cava, F.; *Front. Microbiol.* **2019**, *10*, 500 doi.org/10.3389/fmicb.2019.00500.
- (2) Boudreau, M. A.; Fisher, J. F.; Mobashery, S.; *Biochemistry* **2012**, *51*, 2974–2990
- (3) Johnson, J. W.; Fisher, J. F.; Mobashery, S.; *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2013**, *1277* (1), 54–75.
- (4) Kawasaki, A.; Karasudani, Y.; Otsuka, Y.; Hasegawa, M.; Inohara, N.; Fujimoto, Y.; Fukase, K.; *Chem. - A Eur. J.* **2008**, *14* (33), 10318–10330.
- (5) Chowdhury, A. R.; Boons, G. J.; *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46* (10), 1675–1678.
- (6) Simon, J. F.; Lamborelle, N.; Zervosen, A.; Lemaire, C.; Joris, B.; Luxen, A.; *Tetrahedron Lett.* **2016**, *57* (14), 1572–1575.

Keywords: Metabolic engineering, *Escherichia coli*, Peptidoglycan, Muropeptides.

Nouveaux outils pour l'analyse biologique et le diagnostic médical: complexes de lanthanide combinant détection optique proche-infrarouge et photoacoustique

Petoud Stéphane,^{a,*} Eliseeva Svetlana V.,^a Kovalenko Anton,^a Collet Guillaume,^{a,c} El Abdellaoui Saïda,^a Natkunarajah Saruja,^b Lerondel Stéphanie,^b Guénée Laure,^d Besnard Céline,^d

- a. Centre de Biophysique Moléculaire, CNRS UPR 4301, F-45071 Orléans, Cedex 2, France
- b. Centre d'Imagerie du petit Animal, CIPA-TAAM, CNRS UPS44, Orléans, France
- c. Le Studium Loire Valley Institute for Advanced Studies, Orléans & Tours, France
- d. Laboratoire de Cristallographie, Université de Genève, Quai Ernest Ansermet 24, 1211 Genève 4, Suisse

* Correspondance : stephane.petoud@cnsr-orleans.fr

Résumé :

L'analyse biologique et le diagnostic médical ont besoin commun d'imagerie non invasive offrant une réponse en temps réel au moyen d'instruments de faible encombrement. La détection photoacoustique (PA) et la luminescence dans le proche infrarouge (NIR) sont des techniques d'imagerie nouvelles qui peuvent répondre de manière unique à ces exigences. Elles tirent toutes deux parti de la lumière proche infrarouge pour opérer dans la fenêtre de transparence biologique. La création d'agents d'imagerie combinés permet de tirer parti des deux techniques : grande sensibilité de détection, haute résolution de l'imagerie par luminescence NIR et grande profondeur de détection du signal de l'imagerie PA.

Les complexes de lanthanide formés avec des chromophores absorbant dans le NIR sont des candidats prometteurs pour la création de ce nouveau type d'agents. Les lanthanides possèdent des propriétés de luminescence particulières qui en font d'excellents candidats pour l'imagerie optique NIR. Cependant, leurs coefficients d'excitation molaires sont très faibles et il est nécessaire d'utiliser des chromophores organiques pour les sensibiliser. En complément, on peut utiliser ces chromophores organiques pour générer un signal photoacoustique par la dissipation de l'énergie d'excitation par des processus non radiatifs.

Dans ce travail, nous présentons un nouveau complexe de lanthanide combinant activité en imagerie photoacoustique et en luminescence proche infrarouge sur une même molécule. Les performances de ces nouveaux agents d'imagerie combinés PA/NIR pour la détection non invasive dans des systèmes biologiques ont été évaluées à l'aide de fantômes de systèmes biologiques.

Keywords: proche infrarouge, photoacoustique, agent d'imagerie, lanthanide, luminescence, complexe, analyse biologique, diagnostic médical

GcpE, a target for the development of new antimicrobials

Clea Witjaksono,^a Vivien Herrscher,^b Fabien Massicot,^b Jean-Luc Vasse,^b Jean-Bernard Behr,^b Myriam Seemann^a

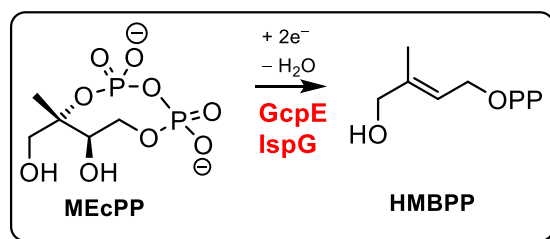
a. Université de Strasbourg, Institut de Chimie de Strasbourg UMR CNRS 7177/Equipe Chimie Biologique et Applications Thérapeutiques, 4 rue Blaise Pascal, 67070 Strasbourg Cedex

b. Université Reims Champagne-Ardenne, ICMR, CNRS UMR7312, 51687 Reims Cedex 2

* Correspondence : mseemann@unistra.fr

GcpE (also called IspG) is an essential enzyme for the survival of most bacteria including *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Vibrio cholerae* but also of the parasite *Plasmodium falciparum* (responsible for malaria). GcpE does not exist in humans and is therefore a valuable target for the development of new specific antibacterial and antiparasitic drugs.

GcpE contains an oxygen sensitive [4Fe-4S]²⁺ cluster linked to the protein by three cysteines and a glutamate. It represents the penultimate step of the methylerythritol phosphate (MEP) pathway that is involved in the biosynthesis of isoprenoids. GcpE catalyzes the conversion of 2-C-methyl-D-erythritol-2,4-cyclo-diphosphate (MEcPP) into (*E*)-4-hydroxy-3-methyl-but-2-enyl-1-diphosphate (HMBPP). This reaction is unprecedented and involves two one-electron transfers and a water elimination.



Based on the enzyme mechanism, a substrate analogue was designed that revealed to be the first irreversible inhibitor of *E. coli* GcpE. Biological results highlighted that electron capture might be needed to chemically transform this substrate analogue into the reactive species responsible for enzyme inactivation.

1. M. Seemann, B. Tse Sum Bui, M. Wolff, D. Tritsch, N. Campos, A. Boronat, A. Marquet, M. Rohmer, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 4337-4339.
2. V. Herrscher, C. Witjaksono, M. Buchotte, C. Ferret, F. Massicot, J.-L. Vasse, F. Borel, J.-B. Behr, M. Seemann, *Chem. Eur. J.* **2022** (accepted article, DOI: [10.1002/chem.202200241](https://doi.org/10.1002/chem.202200241)).

Keywords: Enzyme inhibition; metalloenzyme; GcpE; IspG

Synthèse d'outils moléculaires pour l'étude de la membrane des Corynebacterales

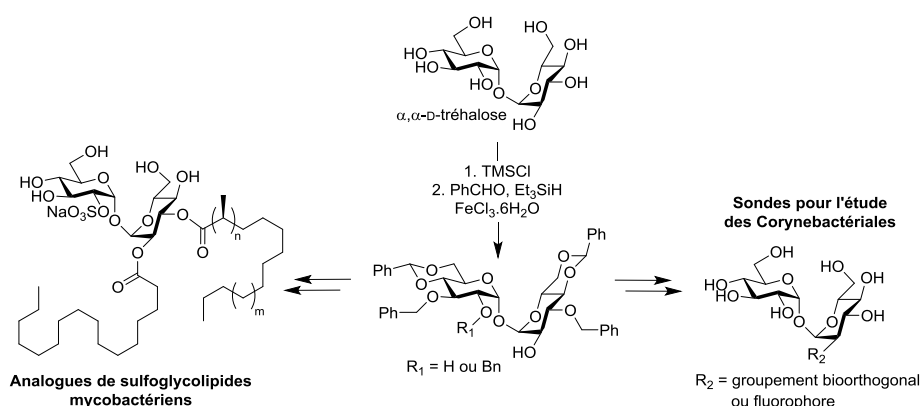
Bourdreux Yann,^{a*}

Synthèse de Molécules et Macromolécules pour le Vivant et l'Environnement, Institut de Chimie Moléculaire et des Matériaux d'Orsay (ICMMO), UMR 8182, Université Paris-Saclay, CNRS, F-91405 Orsay, France

* yann.bourdreux@universite-paris-saclay.fr

Résumé :

L' α,α -D-tréhalose est un disaccharide non réducteur de symétrie C_2 , composé de deux unités glucose liées en position anomérique. On peut le trouver dans certains organismes comme des champignons, levures, insectes, plantes et bactéries, notamment dans la paroi cellulaire des Corynebactériaes (mycomembrane), comportant entre autres *Mycobacterium tuberculosis*, l'agent étiologique de la tuberculose. La synthèse de glycolipides complexes à base de tréhalose nécessite souvent la préparation de précurseurs sélectivement protégés. Les stratégies employées généralement reposent sur de multiples séquences de protection-déprotection, rallongeant considérablement la durée des synthèses. Dans ce contexte, nous avons développé des réactions de protection tandem « one pot » catalysées par des acides, permettant d'accéder rapidement à des mono- ou disaccharides protégés sélectivement.¹ Parmi les catalyseurs employés, le chlorure de fer(III) s'est avéré être le plus efficace sur des disaccharides et notamment le tréhalose. Ici, nous présenterons quelques modifications sélectives du tréhalose pour la synthèse d'analogues de constituants de la mycomembrane,² ou encore d'outils moléculaires à base de tréhalose.³ Nous présenterons également l'utilisation de quelques outils préparés dans un contexte cellulaire.



1. a) A. Français, D. Urban, J.-M. Beau, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2007**, *46*, 8662 ; b) Y. Bourdreux, A. Lemétais, D. Urban, J.-M. Beau, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 2146 ; c) G. Despras, D. Urban, B. Vauzeilles, J.-M. Beau, *Chem. Commun.*, **2014**, *50*, 1067 ; d) A. Gouasmat, A. Lemétais, J. Solles, Y. Bourdreux, J.-M. Beau, *Eur. J. Org. Chem.*, **2017**, 3355.
2.] a) A. Lemétais, Y. Bourdreux, P. Lesot, J. Farjon, J.-M. Beau, *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 7648 ; b) B. Gau, A. Lemétais, M. Lepore, L. F. Garcia-Alles, Y. Bourdreux, L. Mori, M. Gilleron, G. De Libero, G. Puzo, J.-M. Beau, J. Prandi, *ChemBioChem* **2013**, *14*, 2413.
3. a) E. Lesur, A. Baron, C. Dietrich, M. Buchotte, G. Doisneau, D. Urban, J.-M. Beau, N. Bayan, B. Vauzeilles, D. Guianvarc'h, Y. Bourdreux, *Chem. Commun.* **2019**, *55*, 13074 ; b) M. Carlier, E. Lesur, A. Baron, A. Lemétais, K. Guitot, L. Roupnel, C. Dietrich, G. Doisneau, D. Urban, N. Bayan, J.-M. Beau, D. Guianvarc'h, B. Vauzeilles, Y. Bourdreux, *Org. Biomol. Chem.*, **2022**, *20*, 1974.

Keywords: trehalose, catalyse tandem, mycomembrane

Carba1 : une piste thérapeutique prometteuse pour améliorer les chimiothérapies aux taxanes

Lauriane Bosc¹, Jordan Allard¹, Peggy Suzanne², Patrick Dallemagne², Chantal Thibert¹ et Laurence Lafanechère^{1*}

¹Institute for Advanced Biosciences, INSERM U1209, CNRS UMR5309, Université Grenoble Alpes, Grenoble, France

²Université de Normandie, UNICAEN, CERMN, Caen, France

* Correspondance : laurence.lafanechere@univ-grenoble-alpes.fr

Résumé :

Le Taxol[®] ou Paclitaxel (PTX), un agent qui cible les microtubules, est considéré dans le monde entier comme numéro un des agents anticancéreux. Il constitue le traitement de première ligne dans les cancers de l'ovaire, du sein et du poumon non à petite cellules. Si ce traitement a prouvé son efficacité, il induit cependant des effets secondaires importants qui peuvent limiter son emploi à la dose thérapeutique d'efficacité maximale. Les neuropathies périphériques sont un effet secondaire fréquent, et qui affecte grandement la qualité de vie des patients. Elles persistent souvent après la chimiothérapie et peuvent impacter la qualité de vie du patient sur le long terme. Médecins et patients qui y font face sont démunis et ne disposent pas de traitement pour les prévenir. Nous avons découvert une nouvelle molécule, Carba1, qui se fixe sur le site colchicine de la tubuline et potentialise l'effet anti-tumoral du PTX, permettant d'en diminuer les doses tout en conservant la même efficacité de traitement. Nous avons élucidé le mécanisme d'action original de Carba1 qui est responsable de cette synergie. Nous avons démontré l'efficacité de la combinaison Carba1/PTX *in vitro* sur lignée cellulaire, ainsi qu'*in vivo* sur un modèle murin de xénogreffe de tumeurs. De plus, nos résultats récents indiquent que Carba1, en plus de potentialiser l'effet du PTX, exercerait un effet neuroprotecteur, empêchant les neurones périphériques impactés par les neuropathies de dégénérer après l'administration de PTX.

1. Peronne, L., Denarier, E., Rai, A., Prudent, R., Vernet, A., Suzanne, P., Ramirez-Rios, S., Michallet, S., Guidetti, M., Vollaire, J., Lucena-Agell, D., Ribba, A. S., Josserand, V., Coll, J. L., Dallemagne, P., Díaz, J. F., Oliva, M. Á., Sadoul, K., Akhmanova, A., Andrieux, A., ... Lafanechère, L. (2020). Two Antagonistic Microtubule Targeting Drugs Act Synergistically to Kill Cancer Cells. *Cancers*, 12(8), 2196. <https://doi-org.insb.bib.cnrs.fr/10.3390/cancers12082196>

Keywords: Cancer; Neuropathies; Criblage, Carbazoles

Oligonucléotides fonctionnalisés comme mimes de protéases à sérine

Béatrice Gerland

SPCMIB, UMR 5068, Université Paul Sabatier, CNRS, Toulouse

* beatrice.gerland@univ-tlse3.fr

Résumé :

En plus de son rôle fondamental de macromolécule porteuse et vectrice de l'information génétique, l'ADN a pu être sélectionné pour ses propriétés de catalyse sur des substrats majoritairement nucléiques (hydrolyse ou ligation de la liaison phosphodiester). Cependant, son repertoire catalytique peut être élargi *via* la fonctionnalisation le long de son squelette de nucléotides dans le but d'accomplir l'hydrolyse de la liaison peptidique jusqu'à présent réservée aux protéases à sérine.¹ Suivant une approche biomimétique, des catalyseurs organiques à squelette nucléique sont développés afin de reproduire l'agencement de la triade catalytique (sérine-histidine-aspartate) présente au niveau du site actif de ces enzymes en mettant à profit le repliement programmable et reproductible des oligonucléotides (ODN). A partir d'une boîte à outils contenant des phosphoramidites convertibles (type chimie 'Click') ou fonctionnalisés en position C5',² sont introduites sur les ODN obtenus par synthèse supportée des fonctions (alcool, imidazole et carboxylate) rappelant les chaînes latérales des trois acides aminés impliqués. Afin d'explorer un espace chimique le plus large possible pour mettre en évidence et évaluer un catalyseur fonctionnel, la diversité structurale est obtenue en variant la nature du lien entre la modification d'intérêt et l'ODN alors que la diversité topologique est apportée par l'organisation en différentes structures secondaires (bulge, hairpin, jonction 3 voies) que peut adopter l'ADN.³ Enfin, afin de s'affranchir de l'absence de poche de reconnaissance, une première approche consiste à augmenter artificiellement la concentration effective en hybridant un ODN porteur des modifications face à un ODN porteur d'un substrat amide fluorogénique. De la même manière, une seconde approche de type 'aptazyme' s'appuyant sur un ODN sélectionné pour reconnaître le substrat amide sera présentée.

1. Hedstrom, L. Serine Protease Mechanism and Specificity. *Chem. Rev.* **2002**, *102* (12), 4501–4524. <https://doi.org/10.1021/cr000033x>.
2. Chardet, C.; Payrastra, C.; Gerland, B.; Escudier, J.-M. Convertible and Constrained Nucleotides: The 2'-Deoxyribose 5'-C-Functionalization Approach, a French Touch. *Molecules* **2021**, *26* (19). <https://doi.org/10.3390/molecules26195925>.
3. Addamiano, C.; Gerland, B.; Payrastra, C.; Escudier, J.-M. DNA Three Way Junction Core Decorated with Amino Acids-Like Residues-Synthesis and Characterization. *Molecules* **2016**, *21* (9), 1082. <https://doi.org/10.3390/molecules21091082>.

Keywords: phosphoramidites convertibles, oligonucleotides, structuration, aptazymes

La Plateforme Intégrée de Criblage de Toulouse (PICT) : du criblage au design moléculaire

Nahoum Virginie,^{a*} Atkinson Andrew,^a Bozonnet Sophie^b, Génisson Yves^c, Maveyraud Laurent^a, Mourey Lionel^a, Remaud-Simeon Magali^b, Saurel Olivier^a.

- a. Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale, IPBS, Université de Toulouse, CNRS, UPS, 31077, Toulouse, France.
 - b. TBI, Université de Toulouse, CNRS, INRAE, INSA, Toulouse, France.
 - c. SPCMIB, UMR5068 CNRS-Université Paul Sabatier-Toulouse III, 118 Route de Narbonne, F-31062 Toulouse, France.
- * Correspondance : pict@ipbs.fr

Résumé :

La plateforme PICT propose une approche globale reposant sur des champs d'expertise complémentaires développés par trois laboratoires partenaires : l'Institut de pharmacologie et de biologie structurale (IPBS), le laboratoire de Synthèse et physicochimie de molécules d'intérêt biologique (SPCMIB) et le Toulouse biotechnology institute (TBI). Ces laboratoires mènent activement des recherches de pointe dans leur propre domaine et dédient savoir-faire technologique, équipements et personnels à la plateforme.

PICT met à disposition de ses utilisateurs les outils et l'expertise scientifiques nécessaires à la détermination de structures macromoléculaires par cristallographie aux rayons X et RMN, la modélisation moléculaire et le criblage *in silico*, le criblage et la mesure d'interactions par des approches biophysiques, la synthèse chimique pour le développement de bibliothèques de composés focalisées et l'optimisation de ligands « hit-to-lead », l'analyse, la purification et l'identification de diverses familles de molécules et de protéines de faible poids moléculaire, l'ingénierie, l'évolution dirigée et le criblage à haut débit des enzymes optimisées, et enfin, la métagénomique fonctionnelle pour la découverte de nouvelles enzymes. La plateforme offre également un accès à ses bibliothèques de fragments (~ 1 000), de produits chimiques (> 11 000) et de peptides (> 20 000).

PICT occupe ainsi une position centrale dans le processus de développement de nouveaux médicaments, en aval de la découverte et de la validation d'une cible thérapeutique et en amont des études ADMET (Absorption, Distribution, Métabolisme, Élimination, Toxicité) et de la pharmacologie clinique.

Un exemple de travaux auxquels la plateforme a contribué sera donné. Il concerne l'étude d'une famille d'enzymes, les PPTases (phosphopantéthéinyl transférases) qui activent des classes de mégasynthèses fonctionnellement importantes car impliquées dans la biosynthèse d'une large gamme de composés organiques complexes et souvent biologiquement très actifs. En raison de leur rôle central dans le métabolisme primaire et secondaire des bactéries, les PPTases représentent des cibles thérapeutiques nouvelles et attrayantes. Le but de ce projet était de caractériser ces enzymes et d'identifier des molécules qui présentent une activité inhibitrice pour le développement de nouveaux agents antibactériens (manuscrit en préparation).

1. Carivenc, C ; Maveyraud, L. ; Blanger, C. ; Ballereau, S. ; Roy-Camille, C. ; Nguyen, M.C. ; Génisson, Y. ; Guilhot, C. ; Chalut, C. ; Pedelacq, J.D. ; Mourey, L. *Sci Rep.* **2021**, 11(1):18042. DOI: 10.1038/s41598-021-97197-4.
2. Nguyen, M.C. ; Saurel, O. ; Carivenc, C. ; Gavalda, S. ; Saitta, S. ; Phuong Tran, M. ; Milon, A. ; Chalut, C. ; Guilhot, C. ; Mourey, L. ; Pedelacq, J.-D. *FEBS J.* **2020**, 287(21), 4729-4746. DOI: 10.1111/febs.15273.

Type de communication : communication orale flash affiche

Keywords: Criblage ; Biophysique structurale; Synthèse chimique ; Chromatographie;
Découverte/ingénierie d'enzymes

Tissue / Organ-Selective Conditionally Activable Drug-Delivery System for Non-Viral Transfection

Amit Kumar^a, Zoeisha S. Chinoy^b, Anna Barosi^a, Petra Dunkel^a, Gauvin Hemery^b, Gregory Ramniceanu^c, Elisabeth Garanger^b, Sébastien Lecommandoux^b, Daniel Scherman^c, Lucie Sancey^d, Véronique Josserand^d, Julien Vollaire^d, Hamid Dhimane^a, Olivier Sandre^{b*}, Bich-Thuy Doan^{c*}, and Peter I. Dalko^{a*}

- a. LCBPT, UMR 8601 CNRS – Université Paris Cité, 75270 Paris, Cedex 06
- b. LCPO UMR 5629 CNRS – Université de Bordeaux –INP, 33607 Pessac Cedex
- c. UTCBS UMR 8258 CNRS – SEISAD ICLEHS UMR 8060 CNRS - ENSCP Chimie ParisTech – Université Paris Cité
- d. IAB UMR5309 CNRS – Université Grenoble Alpes – INSERM U 1209, 38042 Grenoble Cedex 9

* Correspondance peter.dalko@parisdescartes.fr

Résumé :

Medical applications in nanotechnology are a rapidly growing segment with significant impact on diagnosis and therapeutics. Nanoparticle (NP) based drug delivery is of particular interest as these materials may show prolonged circulation half-life, reduced non-specific uptake, and increased accumulation in specific tissues and organs. Among the number of NP-based therapeutic approaches the delivery of an active compound by external trigger “on demand” and the intrinsic chemical and biochemical stimuli gated drug release are of particular interest.

We are developing nano-sized “smart” hollow protective polymeric carriers (SHOPPs) made of 10 to 15-nm-thick amphiphilic redox-sensitized block copolymer bilayers that may vehicle a virtually unrestricted variety and complexity of organic/bioorganic substrates or drugs in a living body, and deliver the payload by internal or external triggers in a highly specific / localized way.¹ The amphiphilic system is assembled around redox-sensitized heterocycles that undergo fragmentation by electron transfer (ET) trigger signals, resulting in modification of the polymer structure and release of the payload. The synthesis was optimized for the preparation of $d \approx 70 - 80$ nm vesicles (cryo TEM), with a remarkably narrow polydispersity. Method was devised to incorporate dedicated MRI, or, NIR / SWIR contrast agents, respectively allowing to render the PS traceable by standard imaging modalities and follow the *in vivo* biodistribution in real time, allowing also harnessing information on the nanomaterial activation kinetics. Method was devised to encapsulate a variety of hydrophilic and/or hydrophobic substrates such as inorganic compounds, small organic molecules, oligopeptides, polypeptides, inorganic compounds viral RNA fragments, mRNAs, etc. The system was assessed safe in cellular and biological evaluations. It was demonstrated, that the selectivity of the targeting depends on the mode of administration: intravenous injection resulted in rapid accumulation in the liver (and in a less extent in the spleen), intraperitoneal injection resulted in accumulation in the pancreas and in the surrounding adipose tissues etc.... Cell-trafficking studies revealed that SHOPPs may be internalized following the endocytic pathway. Cell transfections were optimized by vector conjugation strategy by using thiol and tetrazin-based surface-modification chemistry.

- 1 (a) PCT PCT/EP2020/085615, EP 19306612.3, WO2021116331 IMAGINE GUIDED DRUG-DELIVERY USING REMOTELY CONTROLLABLE...) Extension PCT December 2020 : No. PCT/EP2020/085615; (b) EP19305231.3 (2019; REMOTELY CONTROLLED DRUG-DELIVERY WITH REAL-TIME IMAGING ...)

Keywords: Drug delivery; theranostics; MRI imaging; SWIR imaging; non-viral transfection.

Deciphering and exploiting the mechanism of action of a large family of cytotoxic lipids bioinspired by compounds produced by marine sponges

Demange Pascal^{#,a}, Joly Etienne^{#,a}, Marcoux Julien^{#,a}, Zanon Patrick R A^{b,c}, Listunov Dymytrii^{d,e}, Rullière Pauline^d, Barthes Cécile^e, Noirod Céline^f, Izquierdo Jean-Baptiste^a, Rozié Alexandrine^a, Pradines Karen^a, Hee Romain^a, de Brito Maria Vieira^{d,g}, Marcellin Marlène^a, Serre Remy-Felix^h, Bouchez Olivier^h, Burlet-Schiltz Odile^a, Oliveira Maria Conceição Ferreira^g, Stéphanie Ballereau^d, Bernardes-Génisson Vania^e, Maraval Valérie^e, Calsou Patrick^a, Hacker Stephan M^{b,c}, Génisson Yves^{d,*}, Chauvin Remi^{e,*}, **Britton Sébastien**^{a,*}

- IPBS, Université de Toulouse, CNRS, UPS, Toulouse, France
- Department of Chemistry, Technical University of Munich, Garching, Germany
- Leiden Institute of Chemistry, Leiden University, Leiden, The Netherlands
- LSPCMIB, UMR5068, CNRS, Université de Toulouse, UPS, Toulouse.
- LCC-CNRS, Université de Toulouse, CNRS, UPS, Toulouse.
- INRAE, UR 875, Genotoul Bioinfo, Castanet-Tolosan, France.
- Department of Organic and Inorganic Chemistry, Science Center, Federal University of Ceará, Brazil.
- INRAE, US 1426 GeT-PlaGe, Castanet-Tolosan, France.

* Correspondance : sebastien.britton@ipbs.fr ; remi.chauvin@univ-tlse3.fr ; yves.genisson@univ-tlse3.fr

Abstract :

Hundreds of cytotoxic natural or synthetic lipidic compounds contain chiral alkynylcarbinol motifs, but the mechanism of action of those potential therapeutic agents remained elusive¹. Here I will present how we discovered², using a genetic screen in haploid human cells, that the enantiospecific cytotoxicity of numerous terminal alkynylcarbinols, including the highly cytotoxic dialkynylcarbinols³, involves a bioactivation by HSD17B11, a human short-chain dehydrogenase/reductase (SDR). HSD17B11 oxidizes dialkynylcarbinols into dialkynylketones, that we characterize as highly protein-reactive electrophiles that can be exploited to functionalize proteins. We established that, once bioactivated in cells, the dialkynylcarbinols covalently modify several proteins involved in protein-quality control mechanisms, resulting in their lipoxidation on cysteines and lysines through *Michael* addition. For some proteins, this triggers their association to cellular membranes and results in endoplasmic reticulum stress, unfolded protein response activation, ubiquitin-proteasome system inhibition and cell death by apoptosis. Finally, as a proof-of-concept, we show that generic lipidic alkynylcarbinols can be devised to be bioactivated by other SDRs, including human RDH11 and HPGD/15-PGDH. Given that the SDR superfamily is one of the largest and most ubiquitous, this unique cytotoxic mechanism-of-action could be widely exploited to treat diseases, in particular cancer, through the design of tailored prodrugs.

- Listunov, D., Joly, E., Rullière, P., Gaspard, H., Bernardes-Génisson, V., Génisson, Y., Maraval, V., and Chauvin, R. (2018). From Natural to Artificial Antitumor Lipidic Alkynylcarbinols: Asymmetric Synthesis, Enzymatic Resolution, and Refined SARs. *Synthesis*, 50, 3114-3130, doi:10.1055/s-0037-1610006.
- Demange, P., Joly, E., Marcoux, J., Zanon, P.R.A., Listunov, D., Rulliere, P., Barthes, C., Noirod, C., Izquierdo, J.B., Rozié, A., et al. (2022). SDR enzymes oxidize specific lipidic alkynylcarbinols into cytotoxic protein-reactive species. *eLife*, 11, doi:10.7554/eLife.73913.
- El Arfaoui, D., Listunov, D., Fabing, I., Oukessou, M., Frongia, C., Lobjois, V., Samson, A., Ausseil, F., Ben-Tama, A., El Hadrami el, M., et al. (2013). Identification of chiral alkenyl- and alkynylcarbinols as pharmacophores for potent cytotoxicity. *ChemMedChem*, 8, 1779-1786, doi:10.1002/cmdc.201300230.

Type de communication : communication orale flash affiche

Keywords: chiral cytotoxic lipid ; prodrugs ; chemoproteomics ; chemical mutagenesis ; Next-Generation Sequencing ; clickable analogues ; click-based imaging ; protein-reactive electrophiles.

Novel mammalian expression systems and isotope labeling schemes for in-cell NMR studies.

Chérot Hélène^a, Ghouil Rania^a, Theillet Francois-Xavier^{a,*}

- a. Institut de Biologie Intégrative de la Cellule (I2BC, CEA/CNRS/Univ. Paris Saclay, UMR9198)
- b. Affiliation 2

* Correspondance : francois-xavier.theillet@cnrs.fr

Résumé :

In-cell structural biology by NMR is appealing in many regards: It proposes, among others, to investigate conformational equilibria or ligand binding in very relevant conditions, i.e in cells.¹ The approach has often been limited in its capacities i) by the many difficulties in sample production, and ii) by important signal losses due to promiscuous, transient interactions with cellular entities, which, in turn, urges to use (too) high concentrations of the studied proteins. Establishing simpler protocols and improved labeling schemes for enhancing S/N would help.

In an attempt to facilitate in-cell NMR studies along these two dimensions, we initiated a careful evaluation of protein production in a handful of mammalian cell lines (suspension and adherent cells) using either transient or permanent transfection and various fluorescent tags. We also quantified S/N for various amino acid specific ¹³C- or novel ²D¹⁵N-isotope labeling schemes, starting with cell-free expression for the cleanest possible evaluation, then upon supplementation in mammalian cell culture medium. Here, we report the early results of this program applied to one disordered and one folded protein (α -synuclein and the kinase p38 α). Among others, we will show the first spectra ever recorded -hence the first atomic-scale observation- of a disordered protein at 37C in human cells.

1. Theillet, F.-X. In-Cell Structural Biology by NMR: The Benefits of the Atomic-Scale. *Chem. Rev.* **2022**, in press. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.1c00937>.

Keywords: NMR, in-cell structural biology, intrinsically disordered proteins, kinases, isotope labeling

Glycosyltransferase inhibitor engineering and its uses to study plant cell growth

Mathieu CARLIER,^{a,b} Thomas POISSON,^b Cyrille SABOT,^b Jean-Claude Mollet,^a Patrice LEROUGE,^a Arnaud LEHNER^{a*}

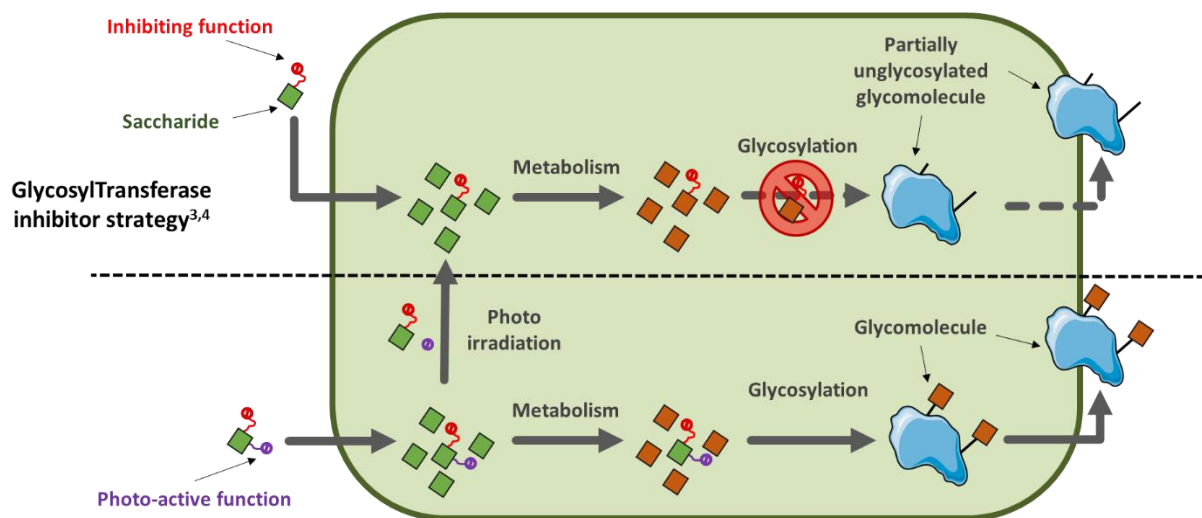
a. Normandie Univ, UNIROUEN, SFR NORVEGE, Innovation Chimie Carnot, GlycoMev, EA4358, 76000 Rouen, France

b. Normandie Univ, UNIROUEN, INSA Rouen, CNRS, Innovation Chimie Carnot, COBRA, UMR6014, 76000 Rouen, France

* arnaud.lehner@univ-rouen.fr

Résumé :

Glycans metabolic engineering is a powerful tool for studying the glycosylation of living cells.^{1,2} The use of modified monosaccharides, such as deoxy or fluorinated sugars, has been reported to be a powerful pharmacological approach for studying carbohydrate metabolism and physiological processes such as plant cell elongation.^{3,4} These non-natural derivatives must cross the cell membrane and be accepted by the biosynthetic machinery of the cell to produce nucleotide-sugars that will perturb the enzymatic machinery. This communication illustrates the use of glycosyltransferase engineering for the study of plant cell growth with the development of new approaches using photo-activable inhibitors.



¹ H. Kayser, R. Zeitler, C. Kannicht, D. Grunow, R. Nuck, W. Reutter, *J. Biol. Chem.* **1992**, *267*, 16934–16938.

² L. K. Mahal, K. J. Yarema, C. R. Bertozzi, *Science* **1997**, *276*, 1125–1128.

³ P. Som, H. L. Atkins, D. Bandyopadhyay, J. S. Fowler, R. R. MacGregor, K. Matsui, Z. H. Oster, D. F. Sacker, C. Y. Shiue, H. Turner, C-N- Wan, A. P. Wolf, S. V. Zabinski, *J. Nucl. Med.* **1980**, *21*, 670-675.

⁴ M. Dumont, A. Lehner, M. Bardor, C. Burel, B. Vauzeilles, O. Lerouxel, C. T. Anderson, J.-C. Mollet, P. Lerouge, *Plant J* **2015**, *84*, 1137–1151.

Keywords: Inhibitor; Glycosyltransferase; metabolism; saccharide.

Chemical probes targeting an epigenetic reader protein: MBD2

J. Contreras^{(a)*}, D. Erdmann^(a), Paola B. Arimondo^(a), S. Vichier-Guerre^(a).

a. Institut Pasteur, EpiChBio, 28 rue du Docteur Roux (75015).

* Correspondance : jean.contreras@pasteur.fr

Résumé :

In *recent years*, many insights on epigenetic (dys)regulation in diseases have been obtained and clinical therapies targeting them are in place. However, the readers of the epigenetic marks are still less known and, in particular, it is poorly understood how DNA methylation can change so dramatically the affinity of DNA-methylation readers proteins (MBP). Chemical probes targeting the methyl-CpG readers, as the Methyl-CpG Binding Domain proteins (MBD), could be used to study these mechanisms. For this purpose, we have designed analogues of 5-methylcytosine to probe the

MBD domain of human MBD2. By setting-up a protein thermal shift assay and an AlphaScreen[®] - based test, we were able to identify three fragments that bind MBD2 alone and disrupt the MBD2-methylated DNA interactions in an encouraging way. 2D NMR experiments and virtual docking have highlighted valuable insights into the interaction of the ligands with the protein showing that the compounds interact with residues important for the DNA recognition. These constitute the first starting point for the design of potent chemical probes for MBD proteins.

1. Nicoglou, A. & Merlin, F. Epigenetics: A way to bridge the gap between biological fields. *Stud. Hist. Philos. Sci. Part C Stud. Hist. Philos. Biol. Biomed. Sci.* **66**, 73–82 (2017).
2. Jeltsch, A. & Gowher, H. Editorial—Role of DNA Methyltransferases in the Epigenome. *Genes* **10**, 574 (2019).

Keywords: Epigenetics, Methyl-CpG Binding Domain, DNA methylation, Drug Design

Étude de l'affinité, de la spécificité, et de la métabolisation *in vitro* de candidats radiotraceurs fluorés vis-à-vis du site PCP des récepteurs NMDA.

Beurain Marie^{a*}, Talmont Franck^b, Monge Maude^a, Emmanuel Gras^c, Mathieu Danel^c, Pierre Payoux^a, Anne-Sophie Salabert^a

- a. Unité ToNIC (Toulouse NeuroImaging Center), Inserm UMR 1214, CHU PURPAN – Pavillon BAUDOT, Place du Dr Joseph Baylac, 31024 Toulouse
- b. Institut de pharmacologie et de biologie structurale, UMR 5089 CNRS, Université de Toulouse, 205 route de Narbonne, 31077 Toulouse
- c. LCC, CNRS UPR 8241, Université de Toulouse, UPS, INPT, 205 route de Narbonne, 31077, Toulouse, Cedex 4, France.

* Correspondance : marie.beurain@inserm.fr

Résumé :

Le dysfonctionnement des récepteurs N-méthyl-D-Aspartate (NMDARs) est présent dans de nombreuses pathologies psychiatriques et neurodégénératives. Le développement d'un traceur permettant l'objectivation des dysfonctionnements, *in vivo*, permettrait de mieux appréhender la physiopathologie de ces maladies. Les NMDARs sont des récepteurs ionotropiques, et le développement d'un traceur capable de se lier à l'intérieur du canal ionique, au niveau du site PCP, permettrait d'imager spécifiquement les récepteurs activés et donc d'observer une activation anormale de ces récepteurs. L'objectif de notre étude est d'évaluer l'affinité, la sélectivité et la métabolisation *in vitro* de plusieurs candidats traceurs TEP pour le site PCP des NMDARs : la fluoroéthylnormémantine (FNM)(1,2), ainsi que des molécules appartenant à la famille des diarylguanidines.

L'affinité de ces molécules pour le site PCP des NMDARs a été évaluée par des études de liaison ligand-récepteur à l'aide du [³H]-TCP sur des fractions membranaires préparées à partir de cerveaux de rats. La sélectivité a été étudiée selon le même protocole par compétition avec ligands tritiés spécifiques d'autres récepteurs cérébraux sur lesquels ces molécules sont susceptibles de se lier : la [³H]-glycine (site glycine des NMDARs, situé à l'extérieur du canal ionique), la [³H]-diprénorphine (récepteurs opioïdes), l' [³H]-AMPA (récepteurs AMPA), l' [³H]-acide kaïnique (récepteurs kaïnate), le [³H]SCH23390 (récepteurs dopaminergiques D1), et le [³H]raclopride (récepteurs dopaminergiques D2). Une étude de métabolisation des diarylguanidines a également été réalisée sur des microsomes hépatiques humains.

Les candidats radiotraceurs sélectionnés pour la phase de radiofluoration seront donc ceux présentant la meilleure affinité et sélectivité pour la cible tout en étant peu métabolisé. La recherche de la molécule idéale est un enjeu majeur pour la mise au point de radiotraceurs performants utilisables en cliniques et permettant de la quantification intracérébrale de l'activation du récepteur NMDA. Un tel traceur pourrait être un outil précieux pour étudier les maladies neurodégénératives et psychiatriques.

1. Salabert AS, Fonta C, Fontan C, Adel D, Alonso M, Pestourie C, et al. Radiolabeling of [18F]-fluoroethylnormemantine and initial *in vivo* evaluation of this innovative PET tracer for imaging the PCP sites of NMDA receptors. Nucl Med Biol. août 2015;42(8):643- 53.

Type de communication : communication orale flash affiche

-
2. Salabert AS, Mora-Ramirez E, Beaurain M, Alonso M, Fontan C, Tahar HB, et al. Evaluation of [18F]FNM biodistribution and dosimetry based on whole-body PET imaging of rats. Nucl Med Biol. avr 2018;59:1- 8.

Keywords: Récepteurs NMDA; Imagerie Moléculaire; Neuroimagerie

Chimie click *in situ* pour la formation de nouveaux inhibiteurs d'InhA de *Mycobacterium tuberculosis*

Chebaiki Mélina^{ab}, Maveyraud Laurent^b, Maveyraud Laurent^{b*}, Lherbet Christian^{a*},

- a. LSPCMIB, UMR-CNRS 5068, Université Paul Sabatier-Toulouse III, 118 route de Narbonne, 31062 Toulouse Cedex 9, France.
- b. IPBS, UMR-CNRS 5089, Université Paul Sabatier-Toulouse III, 205 route de Narbonne, BP64182, F-31077 Toulouse, France

* Correspondance : lionel.mourey@ipbs.fr, christian.lherbet@univ-tlse3.fr

Résumé : En 2020, la tuberculose, causée par *Mycobacterium tuberculosis* représentait la 13^{ème} cause de mortalité dans le monde et la seconde causée par une maladie infectieuse derrière la COVID-19. En 2020, ce sont 9.9 millions de personnes qui ont contracté la maladie dont 1.1 million d'enfants.¹ Au cours des 60 dernières années, aucun nouveau médicament antituberculeux n'a été approuvé par la FDA aux États-Unis pour le traitement de la tuberculose multi-résistante, à l'exception de la bédaquiline, du délamanide et du prétomanide, pour lesquels des résistances sont déjà émergentes. C'est pourquoi il est nécessaire de découvrir de nouvelles drogues pour lutter efficacement contre la tuberculose. Les enzymes appartenant au système « fatty acid synthase » de type II (FAS-II) », sont nécessaires à la biosynthèse des acides mycoliques, composants de la paroi mycobactérienne ; essentiels à la survie des bactéries. Parmi ces enzymes, InhA, une énoyl-ACP réductase, permet la réduction des acides gras *trans*-2-énoyl-ACP., lipides formant la membrane bactérienne. L'objectif principal du projet est de développer des outils permettant d'identifier de nouveaux inhibiteurs de cette protéine.²

La chimie combinatoire propose différentes stratégies pour la production de molécules en grand nombre et permet l'identification de nouveaux « hits » en chimie médicinale. Parmi ces stratégies, la synthèse guidée par la cible sous contrôle cinétique (KTGS) est une alternative, la protéine-cible va participer à la synthèse de ses propres ligands. Cette synthèse *in situ* permet de relier les fragments réactifs entre eux d'une manière intermoléculaire et irréversible par confinement, via la protéine-cible pour générer des molécules plus affines pour la cible.³

L'objectif du projet est de mettre en application la chimie click *in situ* intermoléculaire à l'aide de InhA par différents fragments possédant soit une fonction azide, soit une fonction alcyne.

Un nouveau concept novateur est également étudié, la chimie click *in situ* intramoléculaire afin de macrocycliser une molécule acyclique portant un azoture et un alcyne. Dans cette approche basée sur des considérations stériques, nous prévoyons qu'un précurseur acyclique atteindrait la poche protéique plus facilement que son homologue macrocyclique. Une fois logé à l'intérieur de la poche, le confinement devrait favoriser la proximité des réactifs et faciliter la macrocyclisation intramoléculaire pour synthétiser *in situ* un ligand avec des propriétés de liaison plus fortes.

1. Global Tuberculosis Report 2021(<https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/tb-reports/global-tuberculosis-report-2020>) (accès le 26 mars 2022)
2. Chollet, A. et al, *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *101*, 218-235. DOI : 10.1016/j.ejmech.2015.06.035.
3. Bosc, D.; Camberlein, V.; Gealageas, R. et al, *J. Med. Chem.* **2020**, *63*, 3817-3833. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.9b01183

Keywords: *Mycobacterium tuberculosis*, InhA, KTGS, click chemistry *in situ*, inhibitors, macrocycle.

Unraveling the polypharmacology of beta-blockers in neuroblastoma using chemo-proteomics approaches

Mouysset Baptiste¹, Le Grand Marion¹, Arieu-Bonnet Jérémy¹, Brémond Paul¹, Camoin Luc¹, Audebert Stéphane¹, Gerault Marc-Antoine¹, Ghesquière Bart², André Nicolas^{1,3}, Pasquier Eddy¹

¹ Centre de Recherche en Cancérologie de Marseille Inserm U1068, CNRS UMR7258, Aix-Marseille University, Marseille, France.

² Metabolomics Expertise Center, VIB Center for Cancer Biology, VIB, Leuven, Belgium.

³ Pediatric Hematology and Oncology Department, Hôpital pour Enfant de La Timone, AP-HM, Marseille, France.

Chemical biology has emerged as an essential tool in the oncology field. Here we show how chemo-proteomics can help us to uncover the mechanism of action of drug candidates and drives pharmacology studies. Our lab has previously shown that anti-hypertensive drugs, β -blockers, can increase the efficacy of chemotherapy against neuroblastoma (NB)¹, one of the deadliest childhood cancers. The mechanism(s) involved in their chemo-sensitizing activity remains however unknown.

The majority of β -blockers, including propranolol, are chiral compounds (R and S enantiomers). It is now well known that the (R)-enantiomer has low affinity for their canonical targets, the β -adrenergic receptors². As we showed that both enantiomers of propranolol were equipotent at increasing the cytotoxic activity of vincristine in 2D and 3D NB cell models (between 3- and 25-fold, depending on the models), we concluded that the chemo-sensitizing activity of β -blockers is independent of their canonical targets. In this project we developed an integrative method that combines unsupervised and candidate approaches to identify the non-canonical targets of drug repurposed in cancer treatment and thus highlighting their polypharmacology.

Using two complementary chemo-proteomics strategies, our first goal was to uncover the interactome of β -blockers. We performed “cellular thermal shift assay” coupled with quantitative mass spectrometry (MS-CETSA)³. It is a biophysical test based on the principle of ligand-induced thermal stabilization of target proteins, allowing us to test the impact of propranolol or vincristine alone and the combination of both, *in cellulo*. Our results highlighted well-known targets of vincristine such as tubulin, but also an enrichment in proteins involved in cell metabolism and mitochondrial respiration in both monotherapies and combination treatment. In parallel, we exploited the biocompatible chemical reactions called click chemistry⁴. We first synthesized three clickable derivatives of β -blockers: (R)-propra-click, (S)-propra-click and carvedilol-click, and ensured that they retained their chemo-sensitizing properties. Then, using a pull-down experiment coupled with quantitative mass spectrometry (click-proteomics), we were able to identify their interacting partners in NB cells. We found an enrichment in proteins involved in

metabolism within the 209 identified interactors shared by the three β -blockers tested. Since our two complementary chemo-proteomics approaches pointed out the involvement of metabolic pathways, we then performed ^{13}C glucose and ^{13}C glutamine tracer experiments by quantitative mass spectrometry (LC-MS) under treatment with propranolol and vincristine alone, or in combination. Our results showed an alteration of the Krebs cycle, the purine, pyrimidine and hexosamine synthesis pathways following the combinatory treatment. Using functional genomics to modulate the expression level of the identified targets and by coupling our clickable drug derivatives with an azide-fluorophore to perform confocal microscopy for co-localization experiments, we will next validate and characterize the identified metabolic targets of β -blockers impacting NB biology and drug response.

Overall, by integrating MS-CETSA, click-proteomics and metabolomics data, our results show that β -blockers increase the efficacy of chemotherapy agents in NB by interfering with cancer cell metabolism, independently of beta-adrenergic receptors. This project, based on chemo-proteomics approaches to uncover the polypharmacology of β -blockers could be extended to other refractory tumors and repurposed drugs to improve cancer treatments.

1. Pasquier E, *et al.* β -blockers increase response to chemotherapy via direct antitumour and anti-angiogenic mechanisms in neuroblastoma. *Br J Cancer* **2013**; 108: 2485–2494.
2. Barrett, A. M. & Cullum, V. A. The biological properties of the optical isomers of propranolol and their effects on cardiac arrhythmias. *Br. J. Pharmacol* **1968**.
3. Franken, H., Mathieson, T., Childs, D. *et al.* Thermal proteome profiling for unbiased identification of direct and indirect drug targets using multiplexed quantitative mass spectrometry. *Nat Protoc* **2015**; 10, 1567–1593
4. Tyler DS, *et al.* Click chemistry enables preclinical evaluation of targeted epigenetic therapies. *Science* **2017**; 356: 1397–401.

Keywords: Chemo-proteomics, polypharmacology, drug repurposing, oncology

Tetracyclic heteroaryl-fused triazapentalenes: towards *in vivo* imaging of hypoxia

Demay-Drouhard Paul,^{a*} Sokorska Gabriela,^b Janczy-Cempa Ewelina^b, Brindell Małgorzata^b, Hiebel Marie-Aude^a, Suzenet Franck^a

a. *Institute of Organic and Analytical Chemistry, University of Orléans, UMR-CNRS 7311, rue de Chartres, BP 6759, 45067 Orléans Cedex 2, France*

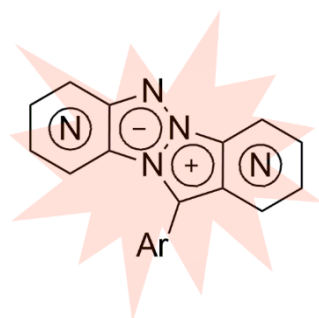
b. *Department of Inorganic Chemistry, Faculty of Chemistry, Jagiellonian University in Kraków, Gronostajowa 2, 30-387 Krakow, Poland*

* Correspondance : paul.demay-drouhard@univ-orleans.fr

Résumé :

Synthetic fluorescent small molecules are invaluable tools for visualizing biological events. Among the myriad of known fluorophores, heteroaryl-fused 1,3*a*,6*a*-triazapentalene derivatives are emerging as bright and compact scaffolds for biological applications.¹ For instance, the successful quantification of nitroreductase, an enzyme that can be overexpressed in regions of tumor hypoxia, was accomplished using a nitro-pyrazinotriazapentalene fluorescent probe. This enabled the efficient *in vitro* imaging of hypoxia.²

When moving towards *in vivo* imaging, the use of conventional fluorophores (emission between 400 and 650 nm) becomes less attractive due to the strong autofluorescence and scattering of endogenous biomolecules at this wavelength range.³ The use of near-infrared (NIR) fluorophores greatly alleviates these issues, but NIR fluorophores endowed with favorable optical properties are presently very scarce. We are currently developing tetracyclic triazapentalene-based fluorophores that emit in the red region (Scheme 1).⁴ Their synthesis, functionalization, optical properties and potential application towards *in vivo* imaging of hypoxia will be discussed here.



Scheme 1: Tetracyclic triazapentalene-based fluorophores

1. Sirbu, D.; Diharce, J.; Martinić, I.; Chopin, N.; Eliseeva, S. V.; Guillaumet, G.; Petoud, S.; Bonnet, P.; Suzenet, F. *Chem. Commun.* **2019**, 55, 7776–7779. DOI: 10.1039/c9cc03765a.
2. Janczy-Cempa, E.; Mazuryk, O.; Sirbu, D.; Chopin, N.; Żarnic, M.; Zastawna, M.; Colas, C.; Hiebel, M.-A.; Suzenet, F.; Brindell, M. *Sens. Actuators B Chem.* **2021**, 346, 130504. DOI: 10.1016/j.snb.2021.130504
3. Luo, S.; Zhang, E.; Su, Y.; Cheng, T.; Shi, C. *Biomaterials* **2011**, 32, 7127–7138. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2011.06.024.
4. Suzenet, F.; Sirbu, D.; Guillaumet, G.; Bonnet, P. Patent WO 2017/013135 A1

Keywords: fluorescence; imaging; hypoxia; triazapentalene

Synthèse de chaperons pharmacologiques multivalents par chimie « click » pour la maladie de Pompe

Borie-Guichot Froger Marc,^a Ballereau Stéphanie,^a Dehoux Cécile,^a Génisson Yves^a et Tran My Lan.^a

- a. SPCMIB ; Université Toulouse 3 Paul Sabatier ; Université Paul Sabatier, Bâtiment 2R1, 118, route de Narbonne, 31062 TOULOUSE Cedex 09, France ; FR

* Correspondance : marc.borie-guichot@univ-tlse3.fr

Résumé :

Les maladies de surcharge lysosomale (MSL) sont des troubles génétiques causés par des défauts dans l'activité des protéines lysosomales conduisant à une accumulation de métabolites dans les lysosomes. Parmi elles, la maladie de Pompe causée par la/les mutations du gène *GAA*, génère une déficience de l'alpha-glucosidase acide (GAA) et donc l'accumulation de glycogène, aboutissant à une variété de symptômes pouvant entraîner la mort.¹ Un traitement par enzymothérapie substitutive, coûteux, phénotypique et avec des effets indésirables, existe depuis 2006.

Récemment, la thérapie par chaperon pharmacologique a émergé comme étant une nouvelle stratégie thérapeutique, utilisant de petites molécules appelés « chaperons » qui permettent le repliement et la stabilisation de l'enzyme déficiente, permettant ainsi de restaurer l'activité de celle-ci.² A ce jour seulement quelques chaperons de la *GAA* ont été identifiés et sont généralement des inhibiteurs compétitifs (dérivés d'iminosucres majoritairement).

La synthèse de nouveaux ligands multivalents est la méthode que nous utilisons afin de restaurer l'activité de *GAA*. Cette stratégie a déjà été développée pour la maladie de Gaucher mais reste inexplorée pour la maladie de Pompe.³ Ces chaperons multivalents sont synthétisés par chimie « click » (cycloaddition, réaction thiol-ène, ...) sur diverses plateformes, et leurs activités sont évaluées.

1. Naresh K., et al. *Biomolecules*. **2020**, *10*, 1339.

2. Lukas J., et al. *Mol. Ther.* **2015**, *23*, 456–464.

3. P. Compain. *Chem. Rec.* **2020**, *20*, 10–22.

Keywords: maladie de surcharge lysosomale, thérapie chaperon, iminosucre, chimie « click », dendrimère

Computational design of miniprotein binders

Younes Bouchiba,^{a,c} Manon Ruffini,^b Juan Cortes,^c Thomas Schiex,^b Barbe Sophie.^{a,*}

- a. Toulouse Biotechnology Institute, TBI, CNRS, INRAE, INSA, ANITI, Toulouse 31077 cedex 4, France
- b. Université de Toulouse, ANITI, INRAE, UR, MIAT, F-31320, Castanet-Tolosan, France
- c. Laboratoire d'Analyse et d'Architecture des Systèmes, LAAS, CNRS, Toulouse 31031, France

* Correspondance : sbarbe@insa-toulouse.fr

Résumé :

Miniprotein binders hold a great interest as a class of drugs that bridges the gap between monoclonal antibodies and small molecule drugs¹. Like monoclonal antibodies, they can be designed to bind to therapeutic targets with high affinity, but they are more stable and easier to produce and to administer². Thus, efficient and robust methods are expected to reduce the cost and time required for tailor-made inhibitor design.

Here, we present a structure-based computational approach for *de novo* miniprotein design. Specifically, we describe step-by-step the implementation of the approach for the design of miniprotein binders against the SARS-CoV-2 coronavirus, using available structural data on the SARS-CoV-2 spike receptor binding domain (RBD) in interaction with its native target, the human receptor ACE2³.

Structural data being increasingly accessible for many protein-protein interaction systems, this method might be applied to the design of miniprotein binders against numerous therapeutic targets. The computational pipeline exploits provable and deterministic artificial intelligence-based protein design methods^{4,5}, with some recent additions in terms of binding energy estimation⁶, multistate design⁷ and diverse library generation⁸.

1. Vazquez-Lombardi R, Phan TG, Zimmermann C, et al (2015) Challenges and opportunities for non-antibody scaffold drugs. *Drug Discov Today* 20:1271–1283. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2015.09.004>
2. Crook ZR, Nairn NW, Olson JM (2020) Miniproteins as a Powerful Modality in Drug Development. *Trends Biochem Sci* 45:332–346. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2019.12.008>
3. Wang Q, Zhang Y, Wu L, et al (2020) Structural and Functional Basis of SARS-CoV-2 Entry by Using Human ACE2. *Cell* 181:894-904.e9. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.03.045>
4. Traoré S, Allouche D, André I, et al (2013) A new framework for computational protein design through cost function network optimization. *Bioinformatics* 29:2129–2136. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt374>
5. Traoré S, Allouche D, André I, et al (2017) Deterministic Search Methods for Computational Protein Design. *Methods Mol Biol Clifton NJ* 1529:107–123. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6637-0_4

-
6. Viricel C, de Givry S, Schiex T, Barbe S (2018) Cost function network-based design of protein-protein interactions: predicting changes in binding affinity. *Bioinformatics* 34:2581–2589. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty092>
 7. Vucinic J, Simoncini D, Ruffini M, et al (2020) Positive multistate protein design. *Bioinformatics*, 36:122–130. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btz497>
 8. Ruffini M, Vucinic J, Givry S de, et al (2021) Guaranteed Diversity Quality for the Weighted CSP. *Network Based Computational Protein Design Methods. Algorithms* 2021, 14, 168. <https://doi.org/10.3390/a14060168>

Keywords: Computational Protein Design; Miniprotein; Protein-Protein Interaction; Binding Energy Computation, Protein Structure Prediction, *DeNovo* Protein Design, SARS-CoV-2.

Study of the hydrolytic cleavage of peptide bond in Alzheimer's disease context

Drommi Marielle,^{a,*} Esmieu Charlène,^a Hureau Christelle.^a

a. Laboratoire de Chimie de Coordination (LCC), CNRS UPR 8241, Toulouse

* Correspondance : marielle.drommi@lcc-toulouse.fr

Abstract:

Alzheimer's disease is a neurodegenerative disease, characterized by for the presence of aggregated β -amyloid peptide (A β), forming the amyloid plaques, in the synaptic cleft. In healthy brain, A β peptide is naturally removed by metallopeptidases, particularly neprilysin. It is thus hypothesized that the accumulation of this peptide in Alzheimer's disease brain could come from a dysfunction of these enzymes¹.

The project presented here aims at studying complexes able to cleave hydrolytically the peptide bond, and to use them afterwards to cleave A β . Some complexes with cyclen/cyclam based ligands have indeed already been reported for their ability to cleave A β ^{2,3}. For this study, a colorimetric screening test has been developed, and has allowed to study various metal ions and families of ligands. The screening results, as well as the most promising metal ions and ligands will be presented during the flash talk.

1. Nalivaeva, N. N.; Turner, A. J. Targeting Amyloid Clearance in Alzheimer's Disease as a Therapeutic Strategy. *Br. J. Pharmacol.* **2019**, *176* (18), 3447–3463.
2. Suh, J.; Yoo, S. H.; Kim, M. G.; Jeong, K.; Ahn, J. Y.; Kim, M.; Chae, P. S.; Lee, T. Y.; Lee, J.; Lee, J.; Jang, Y. A.; Ko, E. H. Cleavage Agents for Soluble Oligomers of Amyloid β Peptides. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46* (37), 7064–7067.
3. Derrick, J. S.; Lee, J.; Lee, S. J. C.; Kim, Y.; Nam, E.; Tak, H.; Kang, J.; Lee, M.; Kim, S. H.; Park, K.; Cho, J.; Lim, M. H. Mechanistic Insights into Tunable Metal-Mediated Hydrolysis of Amyloid- β Peptides. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139* (6), 2234–2244.

Keywords: Peptide, amyloid, hydrolysis, complexes

Mycobacterial monooxygenases: key actors for future antituberculosis strategies

Dimitri Leonelli^{1*}, Nicolas Tomas^{1*}, Martin Campoy¹ Sylvain Marthey² Nguyen-Hung Le¹, David Rengel¹, Véronique Martin², Jana Kordulàková³, Adrian Pàl³, Nathalie Eynard⁴, Mamadou Daffé¹, Anne Lemassu¹, Gwenaëlle André-Leroux², Hedia Marrakchi^{1,*}

1. Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale, IPBS, Université de Toulouse, CNRS, UPS, Toulouse, France
2. Maillage, INRAE, AgroParisTech, Université Paris-Saclay, 78350 Jouy-en-Josas, France
3. Department of Biochemistry, Faculty of Natural Sciences, Consensus University in Bratislava, Bratislava, Slovakia
4. LMGM-CBI, UMR 5100, Université de Toulouse, CNRS, UPS, Toulouse, France

* Correspondance : Dimitri.leonelli@ipbs.fr

Résumé :

Tuberculosis (TB), caused by *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*), is the leading cause of death from a single infectious agent worldwide. Moreover, the continuous rise in the number of drug-resistant strains highlights the urgent need for innovative anti-TB drug development. One emerging approach is to potentiate and improve anti-TB compounds with validated mechanisms of action towards more effective and less toxic drug candidates. In the actual TB treatment, many anti-TB drugs require bioactivation by mycobacterial enzymes, notably through oxidation by Flavin-containing monooxygenases (MOs). *Mtb* was shown to have MOs that play roles in lipid metabolism as well as activation of anti-TB prodrugs. However, despite their emerging importance, their distribution, structural and functional features in mycobacteria remain enigmatic.

We applied a comprehensive bioinformatics analysis among selected actinobacteria, including mycobacteria and confirmed the presence of six monooxygenases in *Mtb*. We used *in silico* sequence/structure/function characterization and *in vitro* validation to examine these enzymes further and provide evidence that they contain characteristic motifs. We confirmed their activity and outlined their substrate preference.

These data emphasize the selectivity and questions the potential redundant role played by these class of enzymes in mycobacterial physiology and infection. Further biochemical and structural knowledge will allow modulating *Mtb* resistance to prodrugs, opening therefore avenues to innovative anti-TB strategies.

1. Leonelli, D.; Tomas, N.; Campoy, M.; Martey, S.; Le, N-H.; Rengel, D.; Martin, V.; Pàl, A.; Kordulakova, J.; Eynard, N.; Guillet, V.; Mourey, L.; Daffé, M.; Lemassu, A.; André, G.; Marrakchi, H. *mSphere* **2022**, 7(2):e0048221. doi: 10.1128/msphere.00482-21

Keywords: *Mycobacterium tuberculosis* - monooxygenase - bioactivation - enzyme activity –molecular modeling.

Fluorescence Expansion Microscopy a tool servicing Bioorthogonal chemistry.

Masson Yannick,^{a*} Lion Cédric,^a Spriet Corentin,^{a,b} Olivier-Van Stichelen Stéphanie,^c Biot Christophe.^a

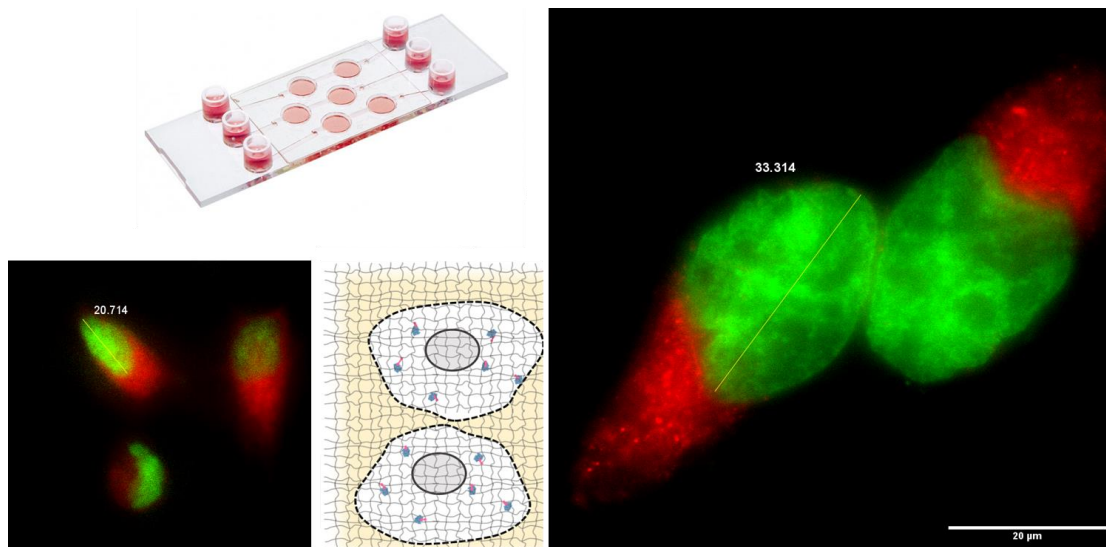
- Univ. Lille, CNRS, UMR 8576 – UGSF - Unité de Glycobiologie Structurale et Fonctionnelle, F 59000 Lille, France
- Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, US 41 - UMS 2014 - PLBS, F-59000 Lille, France
- Medical College of Wisconsin, Milwaukee, WI 53226, États-Unis.

* Correspondance : yannick.masson@univ-lille.fr

Résumé :

The use of conventional fluorescence microscopy is a useful tool to visualise subcellular structures in cells but with many limitations with regards to observation of post-translational modifications through click chemistry. Indeed, at the nanoscale, resolution is lost thus inducing fuzziness. High-resolution techniques bypass this problem but are often hard and costly to implement and require powerful microscopes which are not accessible as routine equipment. As a compromise Fluorescence Expansion Microscopy (FluoExM) is a recent technology that allows us to tackle both aspects. Fluorescence Expansion Microscopy is an easy and cost efficient technology that allows the achievements of high-resolution imaging with confocal microscopes that are readily available in most labs. This technique consists in encasing the biological sample in a polyelectrolyte swellable gel. Before expanding the gel in dialyzed water, the sample must be digested using proteases to avoid the distortion of the sample ratio and thus ensure an isotropic expansion.

Here we proposed the first use of FluoExM using a microfluidic system for high-resolution observation of glycosylation.



- Sun, De., Fan, X., Shi, Y. et al. Click-ExM enables expansion microscopy for all biomolecules. *Nat Methods* 18, 107–113 (2021).
- Xiaoyu Shi, Qi Li, Zhipeng Dai, Arthur A. Tran, Siyu Feng, Alejandro D. Ramirez, Zixi Lin, Xiaomeng Wang, Tracy T. Chow, Jiawei Chen, Dhivya Kumar, Andrew R. McColloch, Jeremy F. Reiter, Eric J. Huang, Ian B. Seiple, Bo Huang; Label-retention expansion microscopy. *J Cell Biol* 6 September 2021; 220 (9): e202105067.
- Chen, F., Tillberg, P. W., & Boyden, E. S. (2015). Expansion microscopy. *Science*, 347(6221), 543–548.

Keywords: Expansion Microscopy; Bioorthogonal Chemistry; Microfluidic

New ATCUN peptides to prevent ROS formed by Amyloid- β bound Copper: evidence for a sequence - activity relationship

Lefevre Margot,^a Esmieu Charlène,^a Hureau Christelle.^{a,*}

a. Laboratoire de Chimie de Coordination, CNRS UPR 8241, Toulouse, France

* Correspondance : christelle.hureau@lcc-toulouse.fr

Résumé :

Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disease characterized by amyloid- β peptide (A β) deposits leading to the senile plaques which are enriched with metal ions such as copper. Bound to A β peptide, Cu ions can cycle between its two redox states +I and +II, fuelled with reductants (e.g., ascorbate) and O₂. Therefore they play an important role in the production of reactive oxygen species (ROS) contributing in the overall increase oxidative stress linked to the disease growth¹. Consequently, there is a wide field of research that aim to prevent this deleterious peptide-metal interaction through the removal of Cu ions from A β . Cu chelators have thus emerged in the literature. In this context, Amino-Terminal Copper and Nickel motif (ATCUN) H₂N-Xxx-Zzz-His (XZH) are of interest as they are biologically relevant motif found in the blood and serum, they bind Cu^{II} with a high affinity and form Cu^{II} complexes resistant to reduction by ascorbate². Hence they have the ability to retrieve Cu^{II} ions from Cu(A β) complexes and prevent Cu(A β)-induced ROS formation³. In the present work, we designed and synthesized a set of eight ATCUN motif-containing peptides whose sequences were rationally modified to probe how the nature of the first two amino-acid residues affect the rate of Cu^{II} extraction from A β and how it is link to the arrest of Cu(A β)-induced ROS production. The Cu^{II} binding rate was followed by fluorescence experiments thank to the addition of a tryptophan residue (Trp) in the peptide sequence. All the peptides were characterized by ¹H and ¹³C NMR, MS, and the corresponding Cu^{II} complexes by UV-Visible and EPR spectroscopies while their redox ability was probed by electrochemistry. Ascorbate consumption kinetic assays were used to study the ability of the new peptides to retrieve Cu^{II} from Cu(A β) and to redox silence it. Those experiments were correlated to the rate of Cu^{II} binding by the ATCUN peptide determined by quenching of Trp fluorescence. Several hits, containing two His residues, were identified (GHHW, HGHW, WHHG, HWHG).

1. Cheignon, C.; Tomas, M.; Bonnefont-Rousselot, D.; Faller, P.; Hureau, C.; Collin, F. *Redox Biology*. **2018**, *14*, 450-464, <https://doi.org/10.1016/j.redox.2017.10.014>
2. Gonzalez, P.; Bossak, K.; Stefaniak, E.; Hureau, C.; Raibaut, L.; Bal, W.; Faller, P. *Chem. Eur. J.* **2018**, *24* (32), 8029-8041, <https://doi.org/10.1002/chem.201705398>
3. Caballero, A. B.; Terol-Ordaz, L.; Espargaró, A.; Vázquez, G.; Nicolás, E.; Sabaté, R.; Gamez, P. *Chem. Eur. J.* **2015**, *22* (21), 7268-7280, <https://doi.org/10.1002/chem.201600286>

Keywords: Alzheimer disease, amyloid- β peptide, ATCUN, copper.

Structuration et fonctionnalisation d'oligonucléotides : vers des mimes de protéases à Sérine ?

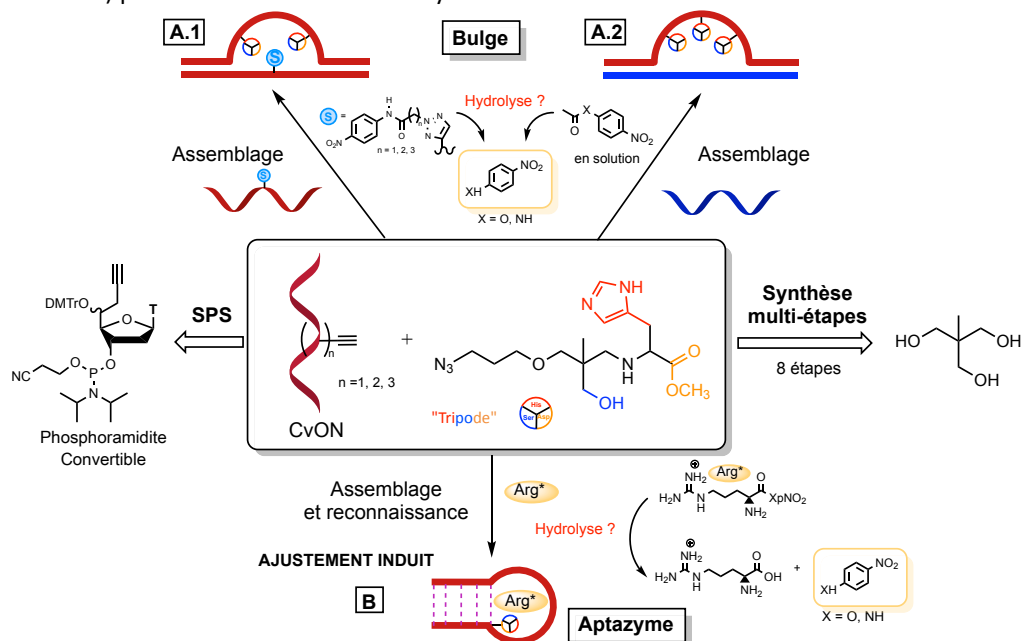
Crystalle Chardet, Corinne Payrastré, Jean-Marc Escudier, Gerland Béatrice.

SPCMIB, UMR 5068, Université Paul Sabatier, CNRS, Toulouse

* Correspondance : crystalle.chardet@univ-tlse3.fr ; beatrice.gerland@univ-tlse3.fr

Résumé :

La fonction amide est ubiquitaire au sein des protéines. Cependant, si l'hydrolyse chimique de cette fonction ne peut être obtenue qu'en conditions drastiques, dans la nature la coupure de la liaison peptidique est facilement réalisée par des protéases à sérine grâce à trois acides aminés coopératifs (acide aspartique, sérine et histidine) présents au site actif de l'enzyme.¹



Suivant une approche biomimétique, nous travaillons au développement de catalyseurs organiques à squelette d'oligonucléotides (ODN) porteurs des fonctions des chaînes latérales des trois acides aminés. Les ODN fonctionnalisés sont organisés suivant différentes structures secondaires que peut adopter l'ADN (bulge, hairpin...) pour tenter de reproduire le site actif des protéases à sérine. Pour ce faire, l'utilisation de la synthèse supportée d'ODN nous permet d'introduire des phosphoramidites alcynes convertibles, développés au sein du laboratoire, et ainsi de recréer un site actif nucléique à l'agencement contrôlé, fonctionnalisable post-synthèse.² Pour cela des azotures trifonctionnalisés dit "tripode", porteurs des trois fonctions **carboxylate**, **alcool** et **imidazole** rappelant les chaînes latérales des trois acides aminés sont introduits par réaction Click de type. Dans de précédents travaux, trois ODNs portant chacun une de ces trois fonctions ont été assemblés en une jonction 3 voies pour établir la preuve de concept.³ A présent, nous développons deux nouvelles stratégies utilisant toujours les propriétés de structuration contrôlée des acides nucléiques. La première est une approche covalente basée sur l'assemblage des structures de type bulges (A.) permettant l'augmentation de la concentration effective en catalyseur. La seconde, une approche dite "aptazyme" permettrait d'allier les propriétés d'assemblage et de reconnaissance de l'ADN en créant un "aptamère-enzyme" synthétique en se basant sur l'utilisation d'hairpins aptamères de l'argininamide (B.).

- (1) Hedstrom, L. Serine Protease Mechanism and Specificity. *Chem. Rev.* **2002**, 102 (12), 4501–4524. <https://doi.org/10.1021/cr000033x>.
- (2) Chardet, C.; Payrastré, C.; Gerland, B.; Escudier, J.-M. Convertible and Constrained Nucleotides: The 2'-Deoxyribose 5'-C-Functionalization Approach, a French Touch. *Molecules* **2021**, 26 (19). <https://doi.org/10.3390/molecules26195925>.
- (3) Addamiano, C.; Gerland, B.; Payrastré, C.; Escudier, J.-M. DNA Three Way Junction Core Decorated with Amino Acids-Like Residues-Synthesis and Characterization. *Molecules* **2016**, 21 (9), 1082. <https://doi.org/10.3390/molecules21091082>.

Keywords : Oligonucléotides fonctionnalisés ; phosphoramidites convertibles ; bulges ; aptazymes

2-Aminothiényrimidinones antiplasmodiales : sondes pour l'étude du mécanisme d'action par chromatographie d'affinité

Martins Enzo,^a Delage Marie,^a Verhaeghe Pierre,^a Deraeve Céline.^{a*}

a. LCC-CNRS, Université de Toulouse, CNRS, UPS, Toulouse, France

* Correspondance : celine.deraeve@lcc-toulouse.fr.fr

Résumé :

Le paludisme est la première parasitose en termes de mortalité à l'échelle mondiale, avec une estimation de 241 millions de cas et de 627 000 morts en 2020, selon l'Organisation Mondiale de la Santé.¹ Les traitements antipaludiques actuels reposent sur les thérapies combinées à base d'artémisinine (ACTs). Cependant l'efficacité clinique de ces traitements est menacée par l'émergence de souches de *Plasmodium* résistantes aux dérivées d'artémisinine et à leurs molécules partenaires dans les ACTs. Il apparaît donc nécessaire de développer de nouvelles molécules antiplasmodiales possédant une activité multi-stade et un mécanisme d'action novateur.

Nous disposons actuellement d'une molécule lead en série 2-aminothiényrimidinone, appelée gamhepathiopine, qui montre une activité contre *P. Falciparum* sur les trois stades du cycle parasitaire (stades sanguin, hépatique et sexué). La gamhepathiopine est également active sur les parasites résistants à l'artémisinine, et réduit la transmission du parasite au vecteur anophèle dans un modèle murin.^{2,3}

En parallèle de travaux de pharmacomodulation autour du squelette 2-aminothiényrimidinone, un de nos objectifs consiste à identifier le mécanisme d'action des composés issus de cette série, qui diffère des principaux mécanismes décrits pour les médicaments antipaludiques actuellement sur le marché.² Nous avons dans ce but développé des sondes pour l'étude du mécanisme d'action par chromatographie d'affinité.⁴

1. World Health Organization, *World malaria report 2021*.
<https://www.who.int/publications/i/item/9789240040496>
2. A. Cohen *et al.*, Discovery of new thienopyrimidinone derivatives displaying antimalarial properties toward both erythrocytic and hepatic stages of Plasmodium, *Eur J. Med. Chem.* **2015**, **95**, 16.
3. H Bosson-Vanga H *et al.*, A new thienopyrimidinone chemotype shows multistage activity against Plasmodium falciparum, including artemisinin-resistant parasites. *Microbiol Spectr* **2021**, **9**, e00274-21.
4. M. Knockaert *et al.*, Identifying in vivo targets of cyclin-dependent kinase inhibitors by affinity chromatography, *Biochem. Pharmacol.* **2002**, **64**, 819.

Mots-clé : 2-aminothiényrimidinone ; *Plasmodium falciparum* ; mode d'action moléculaire ; chromatographie d'affinité.

New specific copper (I) chelator's in Alzheimer's disease context

Clément Rulmont, Christelle Hureau, Charlène Esmieu.

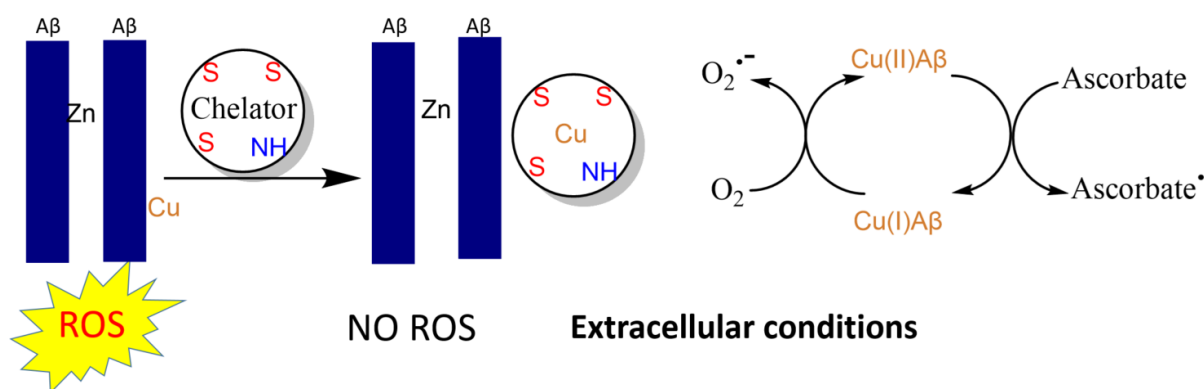
Laboratoire de Chimie de Coordination du CNRS, 205 route de Narbonne, 31077, Toulouse cedex 4, France.

clement.rulmont@lcc-toulouse.fr

Keywords : Copper, Alzheimer's disease, ROS production, Bio-inorganic chemistry

Summary :

Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disorder characterized by the presence of two major hallmarks in the brain, the tau tangles and the amyloid plaques. These later are formed by the aggregated amyloid-beta ($A\beta$) peptides and are rich in metal ions. The main metal ions found in the plaques are iron, zinc and copper (Fe, Zn, Cu). It has been evidenced that Cu bound to $A\beta$ is capable to produce reactive oxygen species (ROS) in presence of dioxygen and a biologically relevant reductant as ascorbate. To inhibit the toxic Cu-induced ROS production that kills the surrounding cells, a large set of Cu chelators have been studied, with the aim to remove Cu from $A\beta$ and to redox silent it. The majority of them have been designed to bind the Cu (II) redox state. So far, these compounds have faced different problems like solubility, selectivity, affinity.¹ In our lab, we are currently working on a new strategy that consists to target the Cu(I), which is the state directly reacting with O_2 . To date, Cu(I) has been overlooked in the ROS problematic in AD context.^{2 3} In this work we present the synthesis and the study of new copper chelators designed to bind Cu(I) by incorporating soft donor sulfur atoms. Their ability to extract Cu from $A\beta$, and stop associated ROS product, including in presence of Zn will be illustrated.



ANR Copperation granted to Esmieu Charlene is acknowledged for financial support.

References :

1. Esmieu, C. *et al.* Copper-Targeting Approaches in Alzheimer's Disease: How To Improve the Fallouts Obtained from in Vitro Studies. *Inorg. Chem.* **58**, 13509–13527 (2019).
2. Atrián-Blasco, E., Cerrada, E., Faller, P., Laguna, M. & Hureau, C. Role of PTA in the prevention of Cu(amyloid- β) induced ROS formation and amyloid- β oligomerisation in the presence of Zn. *Metallomics* **11**, 1154–1161 (2019).
3. Esmieu, C., Ferrand, G., Borghesani, V. & Hureau, C. Impact of N-Truncated $A\beta$ Peptides on Cu- and Cu($A\beta$)-Generated ROS: Cu^I Matters! *Chem. – Eur. J.* **27**, 1777–1786 (2021).

Quantitative Analysis of Quorum Sensing Signal Molecules by Ultrahigh-Performance liquid chromatography-tandem mass spectrometer (UHPLC-MS/MS).

E. Mideksa^{1,2*}, J. Teychene¹, A. Tourette Diallo², C. Claparols^{4,5*}, V. Sartor³, N. Dietrich¹, C. Guigui¹

1. TBI, INSA CNRS UMR 5504, INRA UMR 792, Université de Toulouse, 31077 Toulouse.
2. CIRIMAT, CNRS UMR 5085, Université Toulouse III – Paul Sabatier, 31062 Toulouse.
3. IMRCP, CNRS UMR 5623, Université Toulouse III – Paul Sabatier, 31400 Toulouse
4. ICT, CNRS UAR 2599, Université de Toulouse, Toulouse, France
5. LCC, CNRS UPR 8241, Université de Toulouse, Toulouse, France

**mideksa@insa-toulouse.fr* & **catherine.claparols@univ-tlse3.fr*

Abstract

Quorum Quenching (QQ) has recently emerged to be an innovative biofouling control to limit Quorum Sensing (QS) in Membrane bioreactors (MBRs)[1]. QS in MBRs is mainly based on the ability of bacteria to produce, release, and respond to chemical signals called autoinducers. In MBRs, the prevailing bacterial communication (QS), which has been proven to cause biofouling, has been provided by signaling molecules known as N-acyl-L-homoserine lactones (AHL)[1]. Quorum Quenching targets QS signals via the production of AHL-degrading enzymes which are secreted by bacteria entrapped in solid polymer materials (QQ-media). Since the development of QQ as a promising biofouling control mechanism, the mass transfer of the AHLs in MBRs from the liquid phase to the QQ-media and vice versa has become one of the essentials to address. Also, the impact of different QQ-media shapes, materials, and types of entrapped bacteria has made the study of mass transfer even more critical [1]. Considering the trace amounts of N-acyl-L-homoserine lactones in wastewater (<5ng/g), a more precise and sensitive analytical method was required to detect and quantify these signaling molecules [2]. In this context, the present study has used ultra-performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry (UHPLC-MS/MS) as an effective analytical tool for quantifying and detecting AHLs. UHPLC-MS/MS offers the advantages of shorter analytical time, higher sensitivity, and selectivity for quantifying the total adsorbed/transferred AHL quantity from the liquid phase into the QQ-media for different AHLs types. In the investigated operating conditions, the total amount of AHLs adsorbed per unit of mass of QQ media shows a rapid increase initially and an overall slow down until reaching equilibrium. UHPLC-MS/MS also yields good separation and defined peaks of all AHL types, which allowed the determination of AHL concentration [2].

Keywords: Membrane bioreactors (MBRs), Mass transfer, N-acyl-L-homoserine lactones (AHLs), Quorum Sensing (QS), Quorum Quenching (QQ), Ultrahigh-Performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UHPLC-MS/MS).

References

1. Bouayed N, Dietrich N, Lafforgue C, Lee CH, Guigui C. Process-oriented review of bacterial quorum quenching for membrane biofouling mitigation in membrane bioreactors (MBRs). *Membranes* (Basel). 2016;6(4). doi:10.3390/membranes6040052
2. Madani & J.Teychene, unpublished manuscript Biofouling control in membrane bioreactors using quorum quenching: mass transfer & filtration approach.

Plateforme technologique et d'expertise de l'Institut de Chimie de Toulouse (ICT)

Andreu Claude,^a Bourdon Valérie,^a Brunet Danielle,^a Claparols Catherine,^{a,b} Fabing Isabelle,^{a,c} Laborie Pascale,^a Lavedan Pierre,^a Leroy Eric,^a Mallet-Ladeira Sonia,^{a,b} Martin-Froment Nathalie,^a Routaboul Corinne,^a Saffon-Merceron Nathalie,^a Toppan Caroline,^a Vedrenne Marc^{a*}

- Institut de Chimie de Toulouse – ICT-UAR2599 - Université de Toulouse, CNRS, Université Toulouse 3 – Paul Sabatier, 118 Route de Narbonne, 31062 Toulouse Cedex 9, France.
- LCC-CNRS, Université de Toulouse, CNRS, 205 route de Narbonne, 31077 Toulouse cedex 4, France.
- Laboratoire de Synthèse et Physico-Chimie de Molécules d'Intérêt Biologique - Université de Toulouse, CNRS, Université Toulouse 3 – Paul Sabatier, 118 Route de Narbonne, 31062 Toulouse Cedex 9, France.

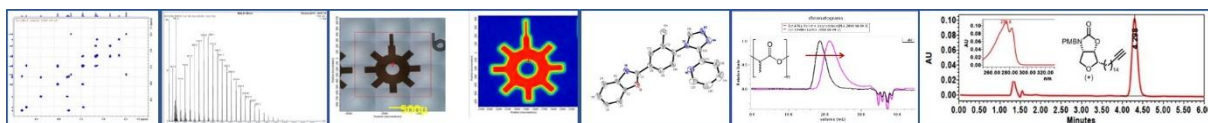
* Correspondance : ict.contact@univ-tlse3.fr

Résumé :

La plateforme technologique et d'expertise de l'ICT, certifiée ISO 9001 en 2022, regroupe six services scientifiques multidisciplinaires et complémentaires : résonance magnétique nucléaire, spectrométrie de masse, spectroscopie infrarouge, diffraction des rayons X (monocristaux), chromatographie liquide et Technopolym (service dédié à l'analyse de polymères).

Le parc d'équipements de haut niveau, la variété des techniques disponibles, leur complémentarité et les compétences existantes permettent de répondre à de nombreuses problématiques au travers de la détermination structurale de composés moléculaires, du suivi de synthèses chimiques, de l'étude de mécanismes réactionnels, de l'analyse de produits naturels, du dosage de traces, de l'étude des polymères, de contrôle de pureté... Les domaines d'activité de la plateforme sont nombreux et variés ; ils s'articulent autour de la santé humaine et animale, l'agroalimentaire, l'agrochimie, la cosmétique mais aussi de l'aéronautique, le spatial, l'armement, la catalyse, l'environnement, les matériaux et nanomatériaux, les technologies de l'information.

Au travers d'exemples choisis de réalisation, nous montrerons l'apport des techniques développées au sein de la plateforme dans le domaine de la chimie et de ses implications en biologie et pour la santé.



Keywords: chemical analysis techniques, characterization, detection, identification, purification

Biochemical and functional characterization of SARS-CoV-2 Nsp3 – RNA G4 complexes and therapeutic properties of G4-ligands inhibiting their formation

Boudria-Souilah Rofia^a, Helynck Olivier^b, Rigolet Pascal^c, Nowakowski Mireille^d, Brûlé Sébastien^e, Hoos Sylviane^e, Raynal Bertrand^e, Guittat Lionel^f, Beauvineau Claire^c, Petres Stéphane^d, Granzhan Anton^c, Geneviève Pratiel^g, Teulade-Fichou Marie-Paule^c, England Patrick^e, Guillon Jean^{h,*}, Mergny Jean-Louis^{f,*}, Munier-Lehmann Hélène^{b,*}, Lavigne Marc^{a,*}

^a Institut Pasteur, Dept of Virology, Paris, France

^b Institut Pasteur, PF-CCB, C2RT, CNRS UMR 3523, Paris, France

^c Institut Curie, Univ. Paris-Saclay, CNRS UMR 9187, Inserm U1196, Orsay, France

^d Institut Pasteur, PF-3PR, C2RT, CNRS UMR 3528, Paris, France

^e Institut Pasteur, PF-BMI, C2RT, CNRS UMR 3528, Paris, France

^f LOB, Ecole Polytechnique, Inserm U1182, CNRS UMR7645, Institut Polytechnique de Paris, Palaiseau, France

^g CNRS UPR 8241, Univ. Paul Sabatier, LCC, Toulouse, France

^h Inserm U1212, CNRS UMR 5320, ARNA, Univ. Bordeaux, Bordeaux, France

* Correspondance : marc.lavigne@pasteur.fr, helene.munier-lehmann@pasteur.fr, jean-louis.mergny@polytechnique.edu, jean.guillon@u-bordeaux.fr

Résumé :

The multi-domain non-structural protein 3 (Nsp3) plays a crucial role in the replication of SARS-CoV viruses¹. Many functions of this protein remain unknown and may be targeted by new antiviral drugs. We have recently shown that the SARS-Unique Domain (SUD) present in SARS-CoV-2 Nsp3 can bind to cellular RNA G-quadruplexes (RNA G4s)². These interactions can be disrupted by mutations that prevent oligonucleotides from folding into G4 structures and by G4 ligands. Interestingly, these later have antiviral activities on A549-Ace2 cells at sub micromolar range (*European patent 20 306 606.3*). Further biochemical and functional characterizations of the SARS- CoV-2 SUD/RNA G4 complexes formed in human cells and their impact on viral replication are currently underway.

Our project tackles a new viral/host interaction mediated by a protein/RNA G4 complex and pave the way for the use of inhibitors of this interaction as potential antiviral compounds³.

Acknowledgment: This work is supported by the Institut Pasteur Paris (*Task force Covid19, PFR 5 and 7*) and the ANR RA-COVID-19.

1. Lei, J.; Kusov, Y.; Hilgenfeld, R., Nsp3 of coronaviruses: Structures and functions of a large multi-domain protein. *Antiviral Res* **2018**, *149*, 58-74.
2. Lavigne, M.; Helynck, O.; Rigolet, P.; Boudria-Souilah, R.; Nowakowski, M.; Baron, B.; Brule, S.; Hoos, S.; Raynal, B.; Guittat, L.; Beauvineau, C.; Petres, S.; Granzhan, A.; Guillon, J.; Pratiel, G.; Teulade-Fichou, M. P.; England, P.; Mergny, J. L.; Munier-Lehmann, H., SARS-CoV-2 Nsp3 unique domain SUD interacts with guanine quadruplexes and G4-ligands inhibit this interaction. *Nucleic Acids Res* **2021**, *49* (13), 7695-7712.
3. Abiri, A.; Lavigne, M.; Rezaei, M.; Nikzad, S.; Zare, P.; Mergny, J. L.; Rahimi, H. R., Unlocking G-Quadruplexes as Antiviral Targets. *Pharmacol Rev* **2021**, *73* (3), 897-923.

Keywords: SARS-CoV2; G-quadruplexes (G4); G4 ligands; interactions; HTRF

Étude de l'affinité, de la spécificité, et de la métabolisation *in vitro* de candidats radiotraceurs fluorés vis-à-vis du site PCP des récepteurs NMDA.

Beurain Marie^{a*}, Talmont Franck^b, Monge Maude^a, Emmanuel Gras^c, Mathieu Danel^c, Pierre Payoux^a, Anne-Sophie Salabert^a

- a. Unité ToNIC (Toulouse NeuroImaging Center), Inserm UMR 1214, CHU PURPAN – Pavillon BAUDOT, Place du Dr Joseph Baylac, 31024 Toulouse
- b. Institut de pharmacologie et de biologie structurale, UMR 5089 CNRS, Université de Toulouse, 205 route de Narbonne, 31077 Toulouse
- c. LCC, CNRS UPR 8241, Université de Toulouse, UPS, INPT, 205 route de Narbonne, 31077, Toulouse, Cedex 4, France.

* Correspondance : marie.beurain@inserm.fr

Résumé :

Le dysfonctionnement des récepteurs N-méthyl-D-Aspartate (NMDARs) est présent dans de nombreuses pathologies psychiatriques et neurodégénératives. Le développement d'un traceur permettant l'objectivation des dysfonctionnements, *in vivo*, permettrait de mieux appréhender la physiopathologie de ces maladies. Les NMDARs sont des récepteurs ionotropiques, et le développement d'un traceur capable de se lier à l'intérieur du canal ionique, au niveau du site PCP, permettrait d'imager spécifiquement les récepteurs activés et donc d'observer une activation anormale de ces récepteurs. L'objectif de notre étude est d'évaluer l'affinité, la sélectivité et la métabolisation *in vitro* de plusieurs candidats traceurs TEP pour le site PCP des NMDARs : la fluoroéthylnormémantine (FNM)(1,2), ainsi que des molécules appartenant à la famille des diarylguanidines.

L'affinité de ces molécules pour le site PCP des NMDARs a été évaluée par des études de liaison ligand-récepteur à l'aide du [³H]-TCP sur des fractions membranaires préparées à partir de cerveaux de rats. La sélectivité a été étudiée selon le même protocole par compétition avec ligands tritiés spécifiques d'autres récepteurs cérébraux sur lesquels ces molécules sont susceptibles de se lier : la [³H]-glycine (site glycine des NMDARs, situé à l'extérieur du canal ionique), la [³H]-diprénorphine (récepteurs opioïdes), l' [³H]-AMPA (récepteurs AMPA), l' [³H]-acide kaïnique (récepteurs kaïnate), le [³H]SCH23390 (récepteurs dopaminergiques D1), et le [³H]raclopride (récepteurs dopaminergiques D2). Une étude de métabolisation des diarylguanidines a également été réalisée sur des microsomes hépatiques humains.

Les candidats radiotraceurs sélectionnés pour la phase de radiofluoration seront donc ceux présentant la meilleure affinité et sélectivité pour la cible tout en étant peu métabolisé. La recherche de la molécule idéale est un enjeu majeur pour la mise au point de radiotraceurs performants utilisables en cliniques et permettant de la quantification intracérébrale de l'activation du récepteur NMDA. Un tel traceur pourrait être un outil précieux pour étudier les maladies neurodégénératives et psychiatriques.

1. Salabert AS, Fonta C, Fontan C, Adel D, Alonso M, Pestourie C, et al. Radiolabeling of [18F]-fluoroethylnormemantine and initial *in vivo* evaluation of this innovative PET tracer for imaging the PCP sites of NMDA receptors. Nucl Med Biol. août 2015;42(8):643- 53.

Type de communication : communication orale flash affiche

-
2. Salabert AS, Mora-Ramirez E, Beurain M, Alonso M, Fontan C, Tahar HB, et al. Evaluation of [18F]FNM biodistribution and dosimetry based on whole-body PET imaging of rats. Nucl Med Biol. avr 2018;59:1- 8.

Keywords: Récepteurs NMDA; Imagerie Moléculaire; Neuroimagerie

Phospholes fluorescents fonctionnalisés pour le marquage de peptides

Emmanuelle Rémond,^{a*} Jean-Alain Fehrentz,^a Laure Liénart,^a Sébastien Clément,^b Jean-Louis Banères,^a Florine Cavelier^a

a. Pôle Chimie Balard, IBMM - UMR 5247, 1919, route de Mende, 34293 MONTPELLIER cedex 5

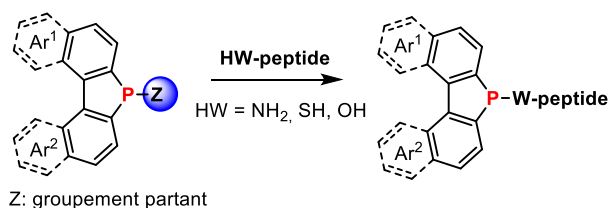
b. Pôle Chimie Balard, ICGM - UMR 5253, 1919, route de Mende, 34293 MONTPELLIER cedex 5

* Correspondance : emmanuelle.remond@umontpellier.fr

Résumé :

L'étude par fluorescence des interactions moléculaires impliquées dans des processus biologiques connaît un essor considérable, grâce au développement des réactions bioorthogonales et aux nombreux fluorophores disponibles [1]. Parmi les fluorophores, les phospholes qui sont des diènes pontés par un atome de phosphore tétraédrique, ont été très étudiés dans le domaine des matériaux π -conjugués. Ils présentent une excellente résistance au photoblanchiment et le centre phosphoré est facilement transformable pour conduire à des dérivés aux propriétés spectroscopiques modulables [2]. Mais malgré ces propriétés optiques intéressantes, ces structures ont été peu exploitées pour le marquage des acides aminés et des peptides [3]. Dans ce domaine, nous avons récemment décrit la synthèse stéréosélective d'acides aminés phosphole-boranes par formation d'une liaison P-C sur la chaîne latérale [4]. Cependant, cette stratégie requiert la préparation d'anions phospholides en présence d'un excès de métal et ces conditions opératoires ne sont pas transposables au marquage des biomolécules.

Pour contrer cette limitation, nous avons étudié le couplage d'une nouvelle classe de phospholes fluorescents fonctionnalisés, avec des groupements amine, hydroxyle ou thiol dans des conditions douces, par formation de liaison P-N, P-O ou P-S. Nous décrivons la synthèse de phospholes porteurs d'un groupement partant (Z) sur le centre phosphoré et leur couplage avec des fonctions amine d'acides aminés et de peptides, dans les conditions requises pour la synthèse en solution ou sur support solide. Cette nouvelle méthode a été illustrée par le marquage du JMV2959 qui est un puissant antagoniste du récepteur sécrétagogue de l'hormone de croissance de type 1a (GHS-R1a).



[1] Singh, H.; Tiwari, K.; Tiwari, R.; Pramanik, S. K.; Das, A. *Chem. Rev.* **2019**, *119*, 11718-11760.

[2] Duffy, M. P.; Delaunay, W.; Bouit, P.-A.; Hissler, M. *Chem. Soc. Rev.* **2016**, *45*, 5296-5310.

[3] Wang, C.; Taki, M.; Sato, Y.; Fukazawa, A.; Higashiyama, T.; Yamaguchi, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 10374-10381.

[4] Arribat, M.; Rémond, E.; Clément, S.; Van Der Lee, A.; Cavelier, F. *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, *140*, 1028-1034.

keywords: phospholes fonctionnalisés; FRET; couplage peptidique; marquage de peptides par fluorescence

Fluorogenic Probes for Background-Free Live-Cell Imaging of GPCRs

Julie Karpenko,^{a*} Lucie Esteouille,^a Fabien Hanser,^a Mayeul Collot,^b François Daubeuf,^a Patrice Marchand,^c David Brasse,^c Andrey S. Klymchenko,^b Dominique Bonnet^{a*}

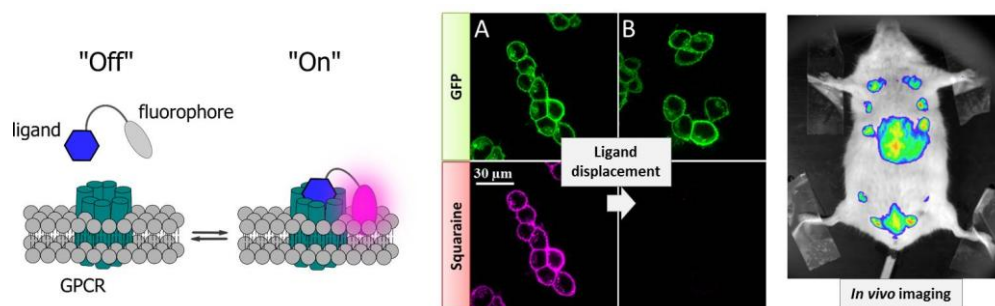
- Laboratoire d'Innovation Thérapeutique, UMR 7200 CNRS/Université de Strasbourg, Institut du Médicament de Strasbourg, 74 route du Rhin, 67401 Illkirch, France
- Laboratoire de Bioimagerie et Pathologies, UMR 7021 CNRS/Université de Strasbourg, 74 route du Rhin, 67401 Illkirch, France
- IPHC, UMR 7178 CNRS/Université de Strasbourg, 23 rue du Loess, 67000 Strasbourg, France

* Correspondance : dominique.bonnet@unistra.fr, julie.karpenko@unistra.fr

Résumé :

Fluorogenic (or turn-on) probes, which increase their fluorescence in response to a certain change in the microenvironment, are powerful tools in bioimaging. They allow for direct detection of analytes without removal of the unbound probe and thus for *in situ* monitoring of biomolecular interactions.¹ In particular, turn-on probes are of high interest to study G protein-coupled receptors (GPCRs), the largest and the most diverse group of transmembrane receptors in higher eukaryotes.

We describe here the first ligands that turn on their fluorescence in the red² and far-red³ spectral region after binding to the target GPCR *in situ* in living cells. We used ratiometric confocal fluorescence microscopy to demonstrate the ability of the probes derived from a solvatochromic dye Nile Red to embed into the lipid bilayer in the vicinity of the receptor in living cells and to report the properties of the local lipid microenvironment via the color-shifting emission of the fluorophore.⁴ We also report on a novel concept of fluorogenic dimers with polarity-sensitive folding⁵ for the background-free NIR imaging of an endogenous GPCR in a living mouse model.⁶ This concept opens the way to the non-invasive and non-ionizing fluorescence cartography of GPCRs in living animals.



¹ A. Nadler, C. Schultz, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 2408–2410.

² J. Karpenko, R. Kreder, C. Valencia, P. Villa, C. Mendre, B. Mouillac, Y. Mély, M. Hibert, D. Bonnet, A. S. Klymchenko, *ChemBioChem* **2014**, *15*: 359–363.

³ J. Karpenko, A. S. Klymchenko, S. Gioria, R. Kreder, I. Shulov, P. Villa, Y. Mély, M. Hibert, D. Bonnet, *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 2960–2963.

⁴ F. Hanser, C. Marsol, C. Valencia, P. Villa, A. S. Klymchenko, D. Bonnet, J. Karpenko, *ACS Chem. Biol.* **2021**, *16*, 4, 651–660.

⁵ J. Karpenko, M. Collot, L. Richert, C. Valencia, P. Villa, Y. Mély, M. Hibert, D. Bonnet, A. S. Klymchenko, *JACS* **2015**, *137* (1), pp 405–412.

⁶ L. Esteouille, F. Daubeuf, M. Collot, S. Riché, T. Durroux, D. Brasse, P. Marchand, J. Karpenko, A. S. Klymchenko* and D. Bonnet, *Chem. Sci.*, **2020**, *11*, 6824–6829.

Keywords: fluorescent probes; GPCR; live-cell imaging

Nouvelle méthode de criblage de ligands de l'alpha-glucosidase acide

Borie-Guichot Froger Marc,^a Zerguine Yann,^b Tremoulet Julie,^b Ballereau Stéphanie,^a Dehoux Cécile,^a Escudier Jean-Marc,^a Gerland Béatrice,^a Mazeret Serge,^b Salome Laurence,^b Tardin Catherine^b.

- a. SPCMIB ; UT3 ; Université Paul Sabatier, Bâtiment 2R1, 118, route de Narbonne, 31062 TOULOUSE Cedex 09, France
- b. Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale, Université de Toulouse, CNRS, UPS, 31 077 Toulouse, France

* Correspondance : marc.borie-guichot@univ-tlse3.fr

Résumé :

Les maladies de surcharge lysosomale sont causées par des défauts d'activité des protéines lysosomales conduisant à une accumulation de métabolites dans les lysosomes. Parmi elles, la maladie de Pompe causée par des mutations du gène *GAA*, génère une déficience de l'alpha-glucosidase acide (GAA) et donc l'accumulation de glycogène, aboutissant à une variété de symptômes pouvant entraîner la mort.¹ Un traitement par enzymothérapie substitutive existe depuis 2006 mais reste coûteux, phénotypique et avec des effets indésirables.

La thérapie par chaperon pharmacologique est une stratégie émergente pour le traitement des maladies dues au repliement défectueux d'enzymes. Cette approche thérapeutique utilise des chaperons pharmacologiques, molécules qui en assistant la protéine dans son repliement et sa stabilisation, permettent de restaurer l'activité enzymatique.² Il s'agit généralement d'inhibiteurs compétitifs de l'enzyme utilisés à des doses sous-inhibitrices. Cependant, un surdosage de ces chaperons pharmacologiques peut conduire à un effet inhibiteur non-souhaité de la protéine.

Afin de découvrir de nouveaux chaperons pharmacologiques inhibiteurs et non-inhibiteurs pour le traitement de la maladie de Pompe, nous souhaitons développer un test de liaison aux sites actifs et allostériques de l'enzyme *GAA* afin de découvrir de nouveaux chaperons pharmacologiques. Ce test original de liaison ligand-enzyme sera développé à partir d'une biopuce à molécules d'ADN uniques, mise au point et brevetée dans l'équipe de l'IPBS³, dans laquelle seront intégrés des oligonucléotides greffés avec des ligands d'intérêt synthétisés par l'équipe du SPCMIB. Cette technologie devrait permettre de caractériser thermodynamiquement et cinétiquement l'interaction de différents candidats chaperons pharmacologiques sur l'enzyme *GAA*. En outre, cette approche « molécule unique » doit permettre de révéler l'interaction de ligands avec des conformations de *GAA* minoritaires mais potentiellement importantes physiologiquement.

1. Naresh K., et al. *Biomolecules*. **2020**, *10*, 1339.
2. Lukas J., et al. *Mol. Ther.* **2015**, *23*, 456–464.
3. Plenat, T., et al. *Nucleic Acids Research* **2012**, *40*, e89–e89.

Mots-clés : maladie de surcharge lysosomale, criblage, biopuce à ADN, chimie « click »

Caractérisation des complexes [(TMPA)Cu(II)(SO₃)] et [(TMPA)Cu(II)(S₂O₃)] : Application à la détection rapide de sulfite et thiosulfate.

Berthonnaud Léonie,^{a,b} Esmieu Charlène,^a Mallet-Ladeira Sonia,^{a,c} Hureau Christelle.^{a,*}

- LCC-CNRS, Université de Toulouse, CNRS, Toulouse, France
- Division of Materials Science, Nara Institute of Science and Technology, 8916-5 Takayama, Ikoma, Nara, Japan
- Institut de Chimie de Toulouse, CNRS, Toulouse, France

* Correspondance : christelle.hureau@lcc-toulouse.fr

Résumé :

L'ion sulfite (E221) est un additif alimentaire et de boissons bien connu, utilisé comme agent de conservation pour contrer l'évolution et le brunissement des aliments^{1,2}. L'ion thiosulfate (E539, également appelé hyposulfite) est utilisé pour neutraliser les effets du chlore utilisé pour le traitement de l'eau, le blanchiment dans les industries du papier et du textile et comme médicament hautement spécifique³. Un équilibre est nécessaire car l'excès de sulfite a des effets secondaires indésirables pour la santé tels que des réactions allergiques et de l'asthme⁴. La consommation quotidienne est donc limitée (moins de 0,7 mg/kg de poids corporel)⁵. D'où le besoin de sondes permettant de détecter les ions sulfites et dans une moindre mesure les ions thiosulfate. Bien qu'il existe déjà des techniques pour détecter les ions sulfite et thiosulfate⁶, il est intéressant de les compléter par des sondes et des détecteurs faciles à utiliser.

Pour détecter de faibles niveaux de ces anions, nous avons utilisé un complexe Cu(II) du ligand Tris-Méthyl Pyridine Amine (TMPA), noté L. A l'état solide, la diffraction des rayons X a permis la caractérisation complète de [LCu(SO₃)] et [LCu(S₂O₃)]. A notre connaissance, aucune structure cristalline d'un complexe Cu(II)-sulfite n'a été rapportée jusqu'à présent.

À titre d'exemple, nous avons déterminé la teneur en sulfites d'un sucre cristallisé commercial.

- R. Franco, G. Navarro, E. Martínez-Pinilla, Antioxidants versus food antioxidant additives and food preservatives, *Antioxidants* 8 (11) (2019) 542.
- E. Kontaxakis, E. Trantas, F. Ververidis, Resveratrol: a fair race towards replacing sulfites in wines, *Molecules* 25 (10) (2020) 2378.
- P.L. McGeer, E.G. McGeer, M. Lee, Medical uses of sodium thiosulfate, *J. Neurol. Neuromed.* 1 (3) (2016) 28–30.
- I.J. Skypala, M. Williams, L. Reeves, R. Meyer, C. Venter, Sensitivity to food additives, vaso-active amines and salicylates: a review of the evidence, *Clin. Transl. Allergy* 5 (1) (2015) 34.
- Summary of Evaluations Performed by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Sulfur Dioxide, Food and Agriculture Organization/World Health Organization, Rome, Italy and Geneva, Switzerland, 2007.
- C.S. Pundir, R. Rawal, Determination of sulfite with emphasis on biosensing methods: a review, *Anal. Bioanal. Chem.* 405 (10) (2013) 3049–3062.

Keywords: Copper (II), TMPA, Sulfite, Thiosulfate, structures cristallographiques

Synthesis of polycationic phosphorus dendrimers: evaluation of biological properties.

Régis Laurent^a, Jieru Qiu^a, Liang Chen^a, Vishwa Deepak Tripathi^a, Ramakrishna Gandikota^a, Jean-Pierre Majoral^a, Anne-Marie Caminade^a

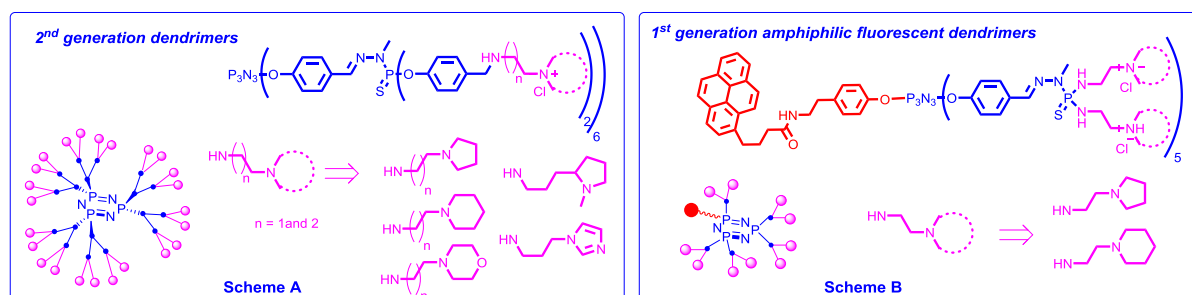
a. Laboratoire de Chimie de Coordination du CNRS, 31077 Toulouse, Cedex 4, France ; LCC-CNRS, Université de Toulouse, CNRS, 31077 Toulouse, France.

* Correspondance : regis.laurent@lcc-toulouse.fr

Dendrimers¹ constitute a unique class of polymers that are distinguished from all other synthetic macromolecules by their globular shape resulting from their highly perfectly branched architecture (in which all bonds emerge radially from a central core). The size (typically 1-20nm), molecular weight, and chemical functionality of these nano-objects can be easily controlled through the synthetic methods used for their preparation. The multivalent character and the modularity of their assembly suggest and enable their use in different domains from material science to biology.

We have developed during the last years different methodologies to prepare and to functionalize phosphorus-containing dendrimers², with a special focus in the synthesis of positively charged phosphorus dendrimers³; multi-charged dendrimers are particularly interesting, since they are generally soluble in water, opening the way to numerous biological uses, in particular as transfection⁴ and as therapeutics agents⁵.

Three examples of our last contributions in these fields will be presented. First, cationic phosphorus dendrimers with different generations and cyclic ammonium groups on the surface has been synthesized (scheme A) and used as nonviral vectors for gene delivery towards cancer therapy⁶. Secondly the same type of dendrimers has shown therapeutic activity per se to treat tuberculosis infection⁷. Finally we have prepared amphiphilic cationic phosphorus dendrimers which have the ability to aggregate in solution to form micelles; these nano-objects have shown antiproliferative activities against a panel of tumor cell lines⁸. For some of them, a fluorescent probe has been introduced in the structure to combined imaging properties and therapeutic activity (scheme B).



1. Dendrimers. Towards Catalytic, Material and Biomedical Uses. A.M. Caminade, C.O. Turrin, R. Laurent, A. Ouali, B. Delavaux-Nicot, Eds., John Wiley & Sons, Chichester (UK), 2011; D. Astruc, E. Boisselier, C. Ornelas, Chem. Rev., 2010, 110, 1857.
2. A.M.Caminade, Chem. Soc. Rev., 2016, 45, 5174.
3. A.M. Caminade, J.P. Majoral, New.J. Chem., 2013, 37, 3358.
4. K. Madaan, S. Kumar, N. Poonia, V. Lather, D. Pandita, J. Pharm. BioAllied Sci. 2014, 6,139.
5. V. Gajbhiye, V.K. Palanirajan, R.K. Tekade, N.K. Jain, J. Pharm. Pharmacol., 2009, 61, 989.
6. L. Chen, J. Li, Y. Fan, J. Qiu, L. Cao, R. Laurent, S. Mignani, A.M. Caminade, J.P. Majoral, X. Shi, Biomacromolecules, 2020, 21, 2502.
7. S. Mignani, V.D. Tripathi, D. Soam, R.P. Tripathi, S. Das, S. Singh, R. Gandikota, R. Laurent, A. Karpus, A.M. Caminade, A. Steinmetz, A. Dasgupta, K.K. Srivastava, J.P. Majoral, Biomacromolecules, 2021, 22, 2659.
8. J. Qiu, L. Chen, M. Zhan, R. Laurent, J. Bignon, S. Mignani, X. Shi, A.M. Caminade, J.P. Majoral, Bioconjugate Chem., 2021, 32, 339.

Keywords: dendrimers; phosphorus; synthesis; nanomedicine

Chaperons pharmacologiques multivalents à base de dendrimères pour la maladie de Gaucher

Tran My Lan,^{a*} Borie-Guichot Froger Marc,^a Génisson Yves,^a Turrin Cédric-Olivier,^{b,c} Abdelouahd Oukhrib,^c Claparols Catherine,^d Martins-Froment Nathalie,^d Ballereau Stéphanie,^a Dehoux Cécile.^a

- a. SPCMIB ; UT3 ; Université Paul Sabatier, Bâtiment 2R1, 118, route de Narbonne, 31062 TOULOUSE Cedex 09, France
- b. LCC ; CNRS ; 205, route de Narbonne, 31077 Toulouse Cedex 4, France
- c. IMD-Pharma, bâtiment de Chimie, 205, route de Narbonne, 31077 Toulouse Cedex 4, France
- d. Service de spectrométrie de masse ; ICT ; UT3 CNRS ; Université Paul Sabatier, Bâtiment 2R1, 118, route de Narbonne, 31062 TOULOUSE Cedex 09, France

* Correspondance : ngoc-my-lan.tran@univ-tlse3.fr

Résumé :

La maladie de Gaucher est une maladie orpheline et héréditaire appartenant à la famille des maladies lysosomales. Elle est due à un défaut d'activité de l'enzyme lysosomale β -glucocérébrosidase (GCase) provoqué par un mauvais repliement de cette protéine. Ce dysfonctionnement entraîne l'accumulation de glucosylcéramide dans les macrophages provoquant différents symptômes observés chez les malades.¹ Trois approches thérapeutiques principales sont utilisées contre la maladie de Gaucher : 1) la perfusion d'enzyme β -glucocérébrosidase recombinante, 2) l'inhibition de la glucosylcéramide synthase, l'enzyme catalysant la production du glucosylcéramide et 3) l'utilisation de chaperons pharmacologiques. Cette dernière thérapie est la plus récente et innovante. Elle consiste en l'utilisation de petites molécules aidant au bon repliement et à la stabilisation de la GCase déficiente. Il n'existe actuellement aucun chaperon pharmacologique commercialisé pour la maladie de Gaucher car ils ne sont pas assez sélectifs et/ou efficaces comparés aux deux autres thérapies.² La stratégie adoptée par notre équipe est le greffage de chaperons pharmacologiques sur des supports multivalents visant l'observation d'un effet de multivalence.³ Cet effet permettrait d'augmenter la sélectivité mais aussi l'efficacité des chaperons. Notre équipe étudie deux iminosucres: la *N*-hexyl-désoxynojirimycine, comme composé de référence et, l'AR88, un chaperon pharmacologique original développé au sein de notre équipe. Nous avons pu greffer par chimie « click » (SPAAC) 6 et 12 copies de ces chaperons sur un dendrimère original développé par le LCC. Les molécules finales ont été caractérisées par ionisation electrospray (ESI) par le service de masse de l'ICT. L'activité inhibitrice de ces molécules a ensuite été évaluée sur la GCase et des effets de multivalence ont été observés.

1. Stirnemann, J.; Belmatoug, N.; Camou, F.; Serratrice, C.; Froissart, R.; Caillaud, C.; Levade, T.; Astudillo, L.; Serratrice, J.; Brassier, A.; Rose, C.; Billette de Villemeur, T.; Berger, M. A Review of Gaucher Disease Pathophysiology, Clinical Presentation and Treatments. *Int. J. Mol. Sci.* **2017**, *18* (2), 441.
2. Pereira, D. M.; Valentão, P.; Andrade, P. B. Tuning Protein Folding in Lysosomal Storage Diseases: The Chemistry behind Pharmacological Chaperones. *Chem. Sci.* **2018**, *9* (7), 1740–1752.
3. Compain, P. Multivalent Effect in Glycosidase Inhibition: The End of the Beginning. *Chem. Rec.* **2020**, *20* (1), 10–22.

Keywords: Multivalence, maladie de Gaucher, maladie de surcharge lysosomale, chaperon pharmacologique, chimie "click", SPAAC, dendrimère, iminosucre, ESI.

Vers de nouveaux inhibiteurs d'InhA découvert par cristallographie combinatoire dynamique aux rayons X

Rasoul TAMHAEV^{a,b}, Laurent MAVEYRAUD^b, Lionel MOUREY^b, Christian LHERBET^a

^aLaboratoire de Synthèse et Physico-Chimie de molécules d'intérêt biologique UMR5068, Université Toulouse III – Paul Sabatier, Bâtiment 2R1, 118 Route de Narbonne, 31062 Toulouse Cedex 9, France

^bInstitut de Pharmacologie et de Biologie structurale UMR5089 CNRS, 205 Route de Narbonne, 31077 Toulouse Cedex 4, France

correspondance : lionel.mourey@ipbs.fr ; christian.lherbet@univ-tlse3.fr

Résumé :

La tuberculose, une des maladies les plus anciennes, est causée par *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) et reste un enjeu sanitaire majeur en tant que principale cause de mortalité due à une maladie infectieuse dans le monde. L'isoniazide (INH), médicament antituberculeux de première ligne, agit comme un promédicament qui nécessite une activation préalable par la catalase-peroxydase KatG. L'adduit NAD-INH résultant cible la protéine InhA, une enoyl acyl carrier protein reductase (ENR) du système Fatty Acid Synthase II (FAS-II), impliquée dans la biosynthèse des acides mycoliques, essentiels à la survie du MTB. Avec l'essor des bactéries résistantes aux médicaments, en particulier à l'INH, différents inhibiteurs directs de l'InhA ne nécessitant aucune activation préalable par KatG ont été découverts. Cependant aucuns d'entre eux n'ont, à ce jour, été approuvée pour une utilisation clinique. De ce fait, il y a un besoin urgent d'identifier de nouveaux inhibiteurs d'InhA afin de lutter efficacement contre MTB.

Une méthode pouvant faciliter la découverte de nouveaux inhibiteurs est la cristallographie combinatoire dynamique aux rayons X (DCX). Cette méthode utilise des fragments avec des fonctions chimiques compatibles susceptible de combiner ensemble et générer une librairie combinatoire dynamique (DCL). La réversibilité des combinaisons permet de générer des composés adaptés à leur environnement. En utilisant une protéine comme modèle, plus précisément les contraintes tridimensionnelles du site actif, des inhibiteurs ciblant cette protéine peuvent être identifiés à partir de fragments. La combinaison des informations de cristallographie et des données enzymatiques permettent d'identifier les interactions les plus impactant et pourrait conduire à de nouveaux inhibiteurs potentiels d'InhA.

References:

1. Global tuberculosis report 2021, World Health Organisation
2. Chollet et al., *J Struct Biol.* **2015**, vol 190, 328-337

3. Congreve, M.S. et al. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, 42, 4479–4482

4. Milon Mondal and Anna K. H. Hirsch. *Chem. Soc. Rev.*, **2015**, 44, 2455-2488

Tuberculose; inhibiteurs

Fluorescent Turn-ON Detection of Bacteria with Targeted Bioconjugates

Lucille Weiss,^a Patrick Wagner,^a Stéphanie Riché,^a Dmytro Dziuba,^b Patrice Rassam,^b Yves Mély,^b Pierre Fechter,^c Dominique Bonnet,^{a*} Julie Karpenko.^{a*}

- Laboratoire d'Innovation Thérapeutique, UMR 7200 CNRS/Université de Strasbourg, Institut du Médicament de Strasbourg, 74 route du Rhin, 67401 Illkirch.²
- Laboratoire de Bioimagerie et Pathologies, UMR 7021 CNRS/Université de Strasbourg, 74 route du Rhin, 67401 Illkirch.
- Biotechnologie et Signalisation Cellulaire, UMR 7272 CRNS/Université de Strasbourg, ESBS, 300 Bd Sébastien Brant, 67412 Illkirch.

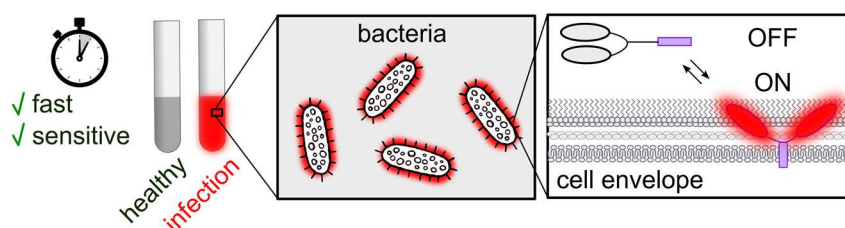
* dominique.bonnet@unistra.fr, julie.karpenko@unistra.fr, lucilleweiss@unistra.fr

Résumé:

Rapid detection and identification of bacterial infections are among the key actions to prevent antibiotic misuse and limit the spread of resistant bacteria. An instantaneous mix-and-read assay for the detection of bacteria in human body fluids and identification of its antibiotic susceptibility would be of high value to public health and society. Fluorescent probes hold great promise in the field of biomedical express diagnostics.¹ However, existing fluorescent bacterial probes are poorly suitable for direct and fast detection of bacterial infections in complex biological samples, such as blood or urine.²

Here we propose a new concept of targeted fluorescent turn-on probes for bacteria, based on aggregation caused quenching (ACQ).^{3,4} The probes are composed of bacteria-targeting vectors (antibiotics, antimicrobial peptides) and covalent dimers of far-red aromatic dyes, which exist in water in the form of non-fluorescent π -stacked H-aggregates (the OFF state). In a less polar medium (such as organic solvents or components of the bacterial cell envelope), the H-aggregate is disturbed, and the fluorescence of the probes is restored (the ON state).

A set of Cy5.5 and squaraine dimers have been synthesized and coupled to bacteria-targeting molecular vectors. Fluorescence studies in a series of solvents demonstrated the ability of these probes to generate a strong fluorescence turn-on response when passing from an aqueous to a less polar medium. The most efficient probes were characterized by high selectivity for bacterial vs eukaryotic cells and enabled the detection of living bacteria in no-wash conditions by fluorescence spectroscopy and fluorescence microscopy.



- Kobayashi, H.; Ogawa, M.; Alford, R.; Choyke, P. L.; Urano, Y. *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 2620. DOI: 10.1021/cr900263j
- Mills, B.; Bradley, M.; Dhaliwal, K. *Clin Transl Imaging*, 2016, *4*, 163. DOI: 10.1007/s40336-016-0180-0
- Karpenko, I.; Collot, M.; Richert, L.; Valencia, C.; Villa, P.; Mély, Y.; Hibert, M.; Bonnet, D.; Klymchenko, A. *JACS*, 2015, *137* (1), 405–412. DOI: 10.1021/ja5111267
- Estéouille, L.; Daubeuf, F.; Collot, M.; Riché, S.; Durroux, T.; Brasse, D.; Marchand, P.; Karpenko, J.; Klymchenko, A.; Bonnet, D. *Chem. Sci.*, **2020**, *11*, 6824–6829. DOI: 10.1039/d0sc01018a

Keywords: fluorescent probes; bacterial detection; turn-on fluorophores

Design, synthesis and biological evaluation of new fluorinated compounds derived from Spexin for the potential treatment of pain

Yann Berthomé^{(a,c)*}, Rosine Fellmann-Clauss^(b), Claire Marsol^(a,c), Maria Vittoria Spanedda^(d), Line Bourel^(d), Frédéric Simonin^(b,c), Dominique Bonnet^(a,c)

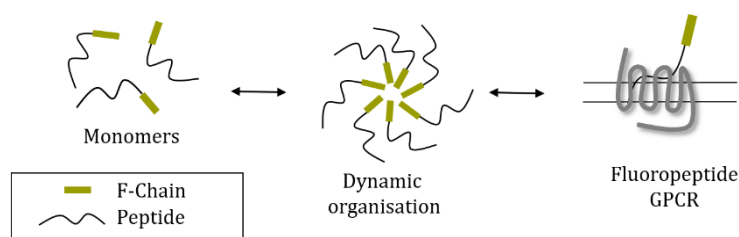
- Laboratoire d'Innovation Thérapeutique, UMR7200 CNRS/Université de Strasbourg, Institut du Médicament de Strasbourg, 67401 Illkirch-Graffenstaden
- Biotechnologie et Signalisation Cellulaire, UMR7242 CNRS/Université de Strasbourg, ESBS, 67401 Illkirch-Graffenstaden
- EURIDOL, 8 allée du Général Rouvillois, 67000 Strasbourg
- Laboratoire de conception et application de molécules bioactives, UMR 7021 CNRS/Université de Strasbourg, 67401 Illkirch-Graffenstaden

* Correspondence: yann.berthome@unistra.fr ; dominique.bonnet@unistra.fr

Abstract:

Chronic pain is a major public health issue, which has a huge impact on society. Approximately 40% adults worldwide suffer from chronic pain and its total cost has been estimated at 560-635 billion dollars/year in the United States⁽¹⁾. Even if research progresses and new targets appear for treating acute and chronic pain, opiates still represent the gold standard analgesics. However, opioid treatments induce several adverse side effects among which analgesic tolerance and opioid-induced hyperalgesia (OIH) are of major importance.

Hence, there is an urgent need to develop novel analgesics with fewer side effects. In this context, a promising neuropeptide, Spexin (SPX), has been discovered using bioinformatic methods⁽²⁾ and was recently deorphanized. Ligand-receptor interaction studies have showed that SPX specifically activates two subtypes of the G protein-coupled receptor GalaninR2 and R3 (GALR2/3)⁽³⁾. Moreover, SPX was found to induce a dose-dependent and opioid-independent analgesic response when centrally injected in rats⁽⁴⁾. To increase the metabolic stability and the in vivo efficacy of biologically active peptides, our team has recently developed a new approach named FluoroPEP. This is based on the introduction of a perfluorinated carbon chain (F-chain) onto peptides to induce their self-organization as fluoropeptide counterparts in aqueous solution, resulting in the protection of the native peptides from enzymatic degradation (**Figure 1**). This strategy was first validated on apelin GPCR peptide⁽⁵⁾. In this communication, we will present the extension of the FluoroPEP approach to SPX, especially the design, the synthesis and the biological evaluations of the first fluorospexins to study the implication of GPCR GALR2 in pain modulation and to develop potential novel agents for the treatment of pain.



- Gaskin, D. J.; *et al.* *The Journal of Pain* **2012**, *13*, 715–724. DOI: 10.1016/j.jpain.2012.03.009
- Mirabeau, O.; *et al.* *Genome Research* **2007**, *17*, 320. DOI: 10.1101/gr.5755407
- Kim, D.-K.; *et al.* *Endocrinology* **2014**, *155*, 1864. DOI: 10.1210/en.2013-2106
- Toll, L.; *et al.* *FASEBJ.*, **2012**, *26*, 947-54. DOI: 10.1096/fj.11-192831
- Llorens Cortes, C.; Bonnet, D.; *et al.* *Nat. Commun.* **2021**, *12*, 305. DOI: 10.1038/s41467-020-20560-y

Keywords: Fluoro-peptides, GPCR, stabilization, pain

Élaboration de matériaux microporeux, comme supports de culture bactérienne et la délivrance de probiotiques.

Leluc Adeline ^a, Franceschi Sohie ^a, Perez Emile ^a, Garrait Ghislain ^b

a. Laboratoire des interactions moléculaire et réactivité Chimique (IMRCP), UMR 5623. Université Paul Sabatier, 31062 TOULOUSE Cedex 09, FRANCE.

b. MEDIS, Université Clermont Auvergne, INRA, Clermont-Ferrand, France.

* Correspondance : adeline.leluc@univ-tlse3.fr

Résumé :

L'être humain vit en symbiose avec tout un écosystème que l'on nomme microbiote. Il se définit comme un ensemble de micro-organismes tels que des bactéries, levures, champignons et virus vivants. Le microbiote intestinal humain est composé d'environ 10^{14} micro-organismes et joue un rôle important dans la digestion et l'immunité.

Les travaux présentés font suite à un projet, qui consistait à mettre au point des matériaux poreux à base d'organogels ou d'hydrogels, permettant la protection et la délivrance de souches de probiotiques « vivants » (*Lactobacillus plantarum*). Ces matériaux ont conduit à une protection des microorganismes vis-à-vis de l'environnement digestif et à une libération prolongée au sein de l'intestin grêle. Les organogels poreux étaient composés d'huile de soja et d'acide 12- hydroxyoctadécanoïque (HSA) comme agent gélifiant, et avec un porogène dans le but de créer un réseau poreux dans le matériau. Dans ce contexte, le saccharose a été utilisé comme agent porogène permettant ainsi l'immobilisation des probiotiques. Quant aux hydrogels, ils étaient constitués d'un réseau d'agarose dont l'eau a été éliminée par lyophilisation afin de former des pores, pouvant encapsuler les probiotiques dans le matériau. Bien que des résultats intéressants de libération prolongée aient été obtenus en appareil de dissolution, une faible résistance mécanique du matériau a été observée en système digestif artificiel TIM (péristaltisme et enzyme). Afin d'assurer une meilleure efficacité des probiotiques, ces derniers doivent rejoindre intacts et vivants le côlon (site d'action préférentiel).

Ainsi, de nouveaux matériaux plus résistants ont donc été développés afin de résister au péristaltisme intestinal et d'assurer une libération colonique des probiotiques. Pour cela, un nouvel agent gélifiant (cire de carnauba) d'une très grande dureté a été utilisé en forte proportion (25 et 50%, m/m) afin d'augmenter la résistance des matériaux finaux. La formation de pores au sein de la matrice a été assurée par l'utilisation de sel comme nouvel agent porogène, dont la granulométrie a été contrôlée (90 et 250 μm). Ces nouveaux matériaux ont été caractérisés par microscopie électronique à balayage afin de déterminer la taille et la morphologie des pores, et la conductivité a permis d'évaluer la tortuosité du réseau poreux. Ensuite, des analyses de texturométrie ont été réalisées dans le but de quantifier la résistance mécanique des organogels. Enfin, en collaboration avec l'UMR MEDIS de Clermont-Ferrand, l'évaluation biopharmaceutique des différents matériaux a été réalisée. Les taux d'encapsulation de *Lactobacillus plantarum*, la résistance des matériaux ainsi que la libération des probiotiques par un système de dissolution (appareil à palettes tournantes - USP2) et de digestion artificielle (TIM-1) ont ainsi été mesurés pour chacun des matériaux.

(1) Canal, M. Elaboration de Matériaux 3D Pour l'administration Orale de Probiotiques. Rapport de Stage M2 Chimie Santé., 2021.

(2) [theses.fr](http://www.theses.fr) – Lyubov Lukyanova, *Préparation de matrices microporeuses d'organogel et évaluation en culture cellulaire*. <http://www.theses.fr/2009TOU30022> (accessed 2022-05-10).

Keywords: Organogel microporeux, Cire de carnauba, Huile de soja, Probiotiques, Culture bactérienne.

PhotoCORMs-based nanomaterials: towards new agents for antimicrobial therapeutics

Guilbaud Valentine ^{a*}, Benoist Eric ^a, Bedos-Belval Florence ^a, Vanucci-Bacqué Corinne ^a, Ouk Tan-Sothea ^b, Ndong-Ntoutoume Gauthier Mark Arthur ^b, Sol Vincent ^b, Fery-Forgues Suzanne ^a.

a. Laboratoire SPCMIB, Université de Toulouse III, France.

b. Laboratoire PEREINE, Université de Limoges, France.

* Correspondance : valentine.guilbaud@univ-tlse3.fr

Résumé :

Since the widespread use of antimicrobials, many antibiotic-resistant bacteria have developed, forcing scientists to redouble their inventiveness to develop alternative solutions. For the past decade, carbon monoxide (CO) has been identified as an inhibitor of bacteria proliferation and a potent antibacterial agent. However, given the dangerousness of CO gas, it is necessary to use these molecules in a perfectly safe way. In this context, photochemically CO-releasing molecules (PhotoCORMs), which can produce CO in a timely- and spatially controlled way when excited by light, have raised high hopes as novel antimicrobial agents in the post-antibiotic era ¹. Remarkably, photoCORMs have proved to be much more efficient bactericides than CO gas alone, possibly due to the concomitant generation of reactive oxygen species (ROS), and to a direct bactericidal effect of these molecules.

PhotoCORMs based on biocompatible tricarbonyl-rhenium(I) complexes were recently developed in the team. The photochemical generation of CO is very efficient and may be monitored by a color change of the phosphorescence emission ². Highly reactive singlet oxygen is also produced. However, it is important to improve the water solubility of these charged, but hydrophobic complexes, and to endow them with selectivity towards the most dangerous bacteria. Therefore, associating the complexes with a water-soluble and biocompatible platform such as cellulose nanocrystals (CNCs) seems to be a good option. In fact, the negative surface of CNCs allows adsorbing both photoactive agents and recognition molecules, directly or via functionalized cyclodextrins ³.

We show here the preliminary results about the development of a first system consisting of rhenium(I) complexes directly adsorbed on CNCs, and another system composed by adamantyl-substituted rhenium(I) complexes encapsulated into charged cyclodextrins, which are adsorbed on the CNCs. Both systems have been characterized, their photoreactivity has been thoroughly quantified and compared. Their antibacterial properties will be measured in a near future.

1. Kottelat, E. ; Zobi, F. *Inorganics*. **2017**, 5, 24.
2. Hernández Mejías, Á.D., Poirot, A., Rmili, M., Leygue, N., Wolff, M., Saffon-Merceron, N., Benoist, E. Fery-Forgues, S. *Dalton Trans*. **2021**, 50: 1313–1323.
3. Ndong Ntoutoume, G. M. A.; Granet, R.; Mbakidi, J.-P.; Constantin, E.; Bretin, L.; Léger, D. Y.; Liagre, B.; Chaleix, V.; Brégier, F.; Sol, V. *Med. Chem. Lett.* **2021**, 41, 128024.

Keywords: PhotoCORM, cellulose nanocrystal, antimicrobial.

Fluorescence Expansion Microscopy a tool servicing Bioorthogonal chemistry.

Masson Yannick,^{a,*} Lion Cédric,^a Spriet Corentin,^{a,b} Olivier-Van Stichelen Stéphanie,^c Biot Christophe.^a

- Univ. Lille, CNRS, UMR 8576 – UGSF - Unité de Glycobiologie Structurale et Fonctionnelle, F 59000 Lille, France
- Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, US 41 - UMS 2014 - PLBS, F-59000 Lille, France
- Medical College of Wisconsin, Milwaukee, WI 53226, États-Unis.

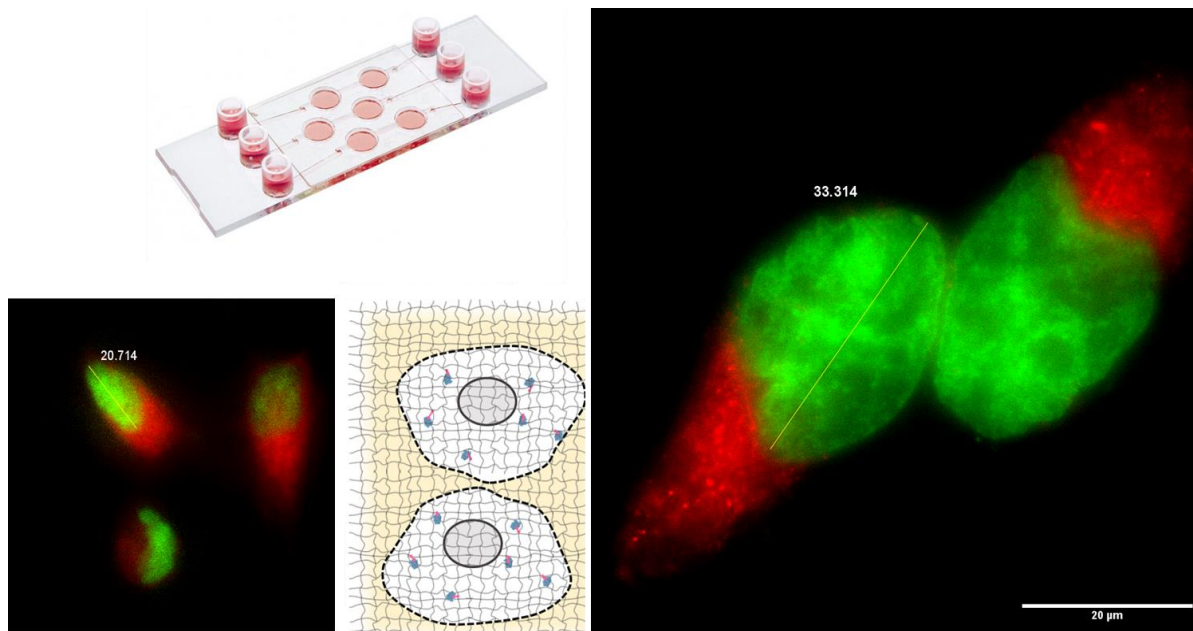
* Correspondance : yannick.masson@univ-lille.fr

Résumé :

The use of conventional fluorescence microscopy is a useful tool to visualise subcellular structures in cells but with many limitations with regards to observation of post-translational modifications through click chemistry. Indeed, at the nanoscale, resolution is lost thus inducing fuzziness. High-resolution techniques bypass this problem but are often hard and costly to implement and require powerful microscopes which are not accessible as routine equipment. As a compromise Fluorescence Expansion Microscopy (FluoExM) is a recent technology that allows us to tackle both aspects. Fluorescence Expansion Microscopy is an easy and cost efficient technology that allows the achievements of high-resolution imaging with confocal microscopes that are readily available in most labs.

This technique consists in encasing the biological sample in a polyelectrolyte swellable gel. Before expanding the gel in dialyzed water, the sample must be digested using proteases to avoid the distortion of the sample ratio and thus ensure an isotropic expansion.

Here we proposed the first use of FluoExM using a microfluidic system for high-resolution observation of glycosylation.



- Sun, De., Fan, X., Shi, Y. et al. Click-ExM enables expansion microscopy for all biomolecules. *Nat Methods* 18, 107–113 (2021).
- Xiaoyu Shi, Qi Li, Zhipeng Dai, Arthur A. Tran, Siyu Feng, Alejandro D. Ramirez, Zixi Lin, Xiaomeng Wang, Tracy T. Chow, Jiawei Chen, Dhivya Kumar, Andrew R. McColloch, Jeremy F. Reiter, Eric J. Huang, Ian B. Seiple, Bo Huang; Label-retention expansion microscopy. *J Cell Biol* 6 September 2021; 220 (9): e202105067.

Type de communication : communication orale flash affiche

3. Chen, F., Tillberg, P. W., & Boyden, E. S. (2015). Expansion microscopy. *Science*, 347(6221), 543–548.

Keywords: Expansion Microscopy; Bioorthogonal Chemistry; Microfluidic

Neutral NHC-gold(I) complexes with fluorinated ligand for antileishmanial activity

Salis Chloé^a, Ftouh Soumia^a, Bourgeade-Delmas Sandra^b, Valentin Alexis^b, Hemmert Catherine^{a*}, Gornitzka Heinz.^{a*}

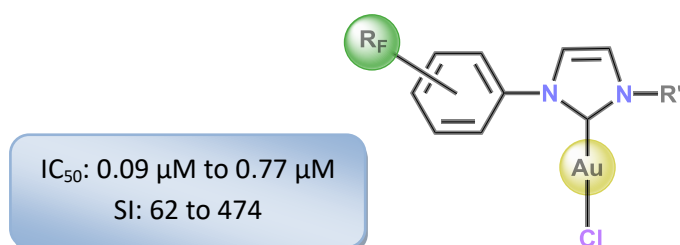
- LCC-CNRS, Université de Toulouse, CNRS, UPS, Toulouse, France.
- UMR 152 PHARMA-DEV, Université de Toulouse, IRD, UPS, France.

* Correspondance : heinz.gornitzka@lcc-toulouse.fr

Résumé :

With an estimated annual incidence of one million cases, leishmaniasis is one of the top five vector-borne diseases. Currently available medical treatments involve side effects, including toxicity, nonspecific targeting, and resistance development. Thus, new antileishmanial chemical entities are of the utmost importance to fight against this disease.¹

We have shown in previous studies that gold(I) complexes bearing *N*-heterocyclic carbene (NHC) ligands with nitrogen- or sulfur-containing side arms have interesting biological activities in the field of cancer, malaria and leishmaniasis^{2,3,4}. The present study evaluates the *in vitro* antileishmanial effects on *L. infantum* axenic amastigotes and their cytotoxicity for the human THP1 cell line of a new family of six new imidazolium salts and their corresponding neutral (NHC)AuCl complexes bearing fluorinated groups. All new compounds have been characterized by classical analytical methods, and three gold complexes have been analyzed by X-ray structure determinations. We showed that best one of the six gold complexes has IC₅₀ value of 0.11 μM and selectivity index (SI) value of 474. These values are much better than for the reference drugs : best IC₅₀ = 0.71 and best SI = 140. All new complexes show remarkable leishmanicidal activity *in vitro* making them candidates for further *in vivo* studies.



- Chami, G. F.; Bundy D.A. P. *More medicines alone cannot ensure the treatment of neglected tropical diseases. Lancet* **2019**, *19*(9), e330.
- Paloque, L.; Hemmert, C.; Valentin, A.; Gornitzka, H. *Synthesis, characterization, and antileishmanial activities of gold(I) complexes involving quinoline functionalized N-heterocyclic carbenes. Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *94*, 22-29.
- Ftouh, S.; Bourgeade-Delmas, S.; Belkadi, M.; Deraeve, C.; Hemmert, C.; Valentin, A.; Gornitzka, H. *Synthesis, Characterization, and Antileishmanial Activity of Neutral Gold(I) Complexes with N-heterocyclic Carbene Ligands Bearing Sulfur-Containing Side Arms. Organometallics* **2021**, *40*, 1466-1473.

Keywords: NHC-gold(I) complexes; Leishmaniasis.

Self-assembly properties of murine versus human amyloid-beta peptide can not explain why mice do not develop the Alzheimer's disease

de Cremoux Lucie,^{a*} Borghesani Valentina,^a Hureau Christelle^a

- a. LCC-CNRS, Université de Toulouse, CNRS, Toulouse, France
- Corresponding authors: lucie.decremoux@lcc-toulouse.fr

Abstract :

The Alzheimer's disease is one of the most common and one of the most studied neurodegenerative disease in the world.^{1,2} It is characterised by senile plaques constituted of self-assembled amyloid- β peptides^{1,2} and high amounts of Cu(II) and Zn(II) ions bound to the peptides^{3,4,5}. In order to understand better this pathology, investigations on rat and mouse animal models are required. As they can not develop the Alzheimer's disease naturally, the use of genetically modified mice is thus mandatory.^{6,7} It was found that the coordination site of Cu(II) and Zn(II) ions differ between human and murine amyloid peptides.^{8,9} Here, we studied the effect of these ions on the self-assembly of human and murine amyloid- β peptides. The addition of Cu(II) and Zn(II) ions were studied at different concentrations on each studied peptide and their impact on the kinetics of their self-assembly were evaluated. Furthermore, the impact of these ions on different mixtures of human and murine amyloid- β peptides, at different ratios, were also investigated in order to mimic the concentrations of these peptides in transgenic animals. We found out that the kinetic results obtained with murine amyloid- β peptide and the mixtures of the two peptides in presence of Cu(II) and Zn(II) ions differ to the kinetics obtained with human amyloid- β peptide with these ions. It was hypothesised that the interactions and self-assembly of Cu(II) and Zn(II) with human amyloid- β peptide were modified in murine models due to the presence of murine amyloid- β peptide. Many other factors are also important in the Alzheimer's disease, these differences should be considered in future studies with transgenic mouse animal models.

1. Alzheimer's Disease International, "World Alzheimer Report 2018: The state of the art of dementia research: New frontiers," can be found under <https://www.alzint.org/resource/world-alzheimer-report-2018/>.
2. Holtzman, D. M.; Morris, J. C.; Goate A. M. *Sci Transl Med.* **2011**, *3*, 77sr1. DOI: 10.1126/scitranslmed.3002369.
3. Miller, L.M.; Wang, Q.; Telivala, T. P.; Smith, R. J.; Lanzirrotti, A.; Miklossy, J. *J. Struct. Biol.* **2006**, *155*, 30–37 DOI: 10.1002/biof.199.
4. Duce, J. A.; Bush, A. I.; Adlard, P. A.; *Future Neurol.* **2011**, *6*, 641–659. DOI: 10.2217/fnl.11.43.
5. Lovell, M. A.; Robertson, J. D.; Teesdale, W. J.; Campbell, J. L.; Markesbery, W. R.; *J. Neurol. Sci.* **1998**, *158*, 47–52. DOI: 10.1016/s0022-510x(98)00092-6.
6. Duyckaerts, C.; Potier, M.C.; Delatour B. *Acta Neuropathol.* 2008, *115*, :5-38. DOI: 10.1007/s00401-007-0312-8.
7. Philipson, O.; Lord, A.; Gumucio, A.; O'Callaghan, P.; Nilsson, L. N. G. *FEBS Journal* **2010**, *277*, 1389–1409. DOI: 10.1111/j.1742-4658.2010.07564.x
8. Eury, H.; Bijani, C.; Faller, P.; Hureau, C. *Angew Chem Int Ed Engl.* **2011**, *50*, 901-905. DOI: 10.1002/anie.201005838
9. Aliès, B.; Borghesani, V.; Noël, S.; Sayen, S.; Guillon, E.; Testemale, D.; Faller, P.; Hureau, C. *Chem. Eur. J.*, **2018**, *24*, 14233–14241. DOI: 10.1002/chem.201802759

Keywords: Aggregation; Amyloid beta peptides; bioinorganic chemistry

Acknowledgments: The ERC-StG grant 638712, aLzINK is thanked for its financial support. The integrative electron microscopy platform METi is also warmly acknowledged for its support and their advices.

La Plateforme Intégrée de Criblage de Toulouse (PICT) : du criblage au design moléculaire

Nahoum Virginie^{a*}

a. Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale, IPBS, Université de Toulouse, CNRS, UPS, 31077, Toulouse, France.

* Correspondance : pict@ipbs.fr

Résumé :

La plateforme PICT propose une approche globale reposant sur des champs d'expertise complémentaires développés par trois laboratoires partenaires : l'Institut de pharmacologie et de biologie structurale (IPBS), le laboratoire de Synthèse et physicochimie de molécules d'intérêt biologique (SPCMIB) et le Toulouse biotechnology institute (TBI). Ces laboratoires mènent activement des recherches de pointe dans leur propre domaine et dédient savoir-faire technologique, équipements et personnels à la plateforme.

PICT met à disposition de ses utilisateurs les outils et l'expertise scientifique nécessaires à la détermination de structures macromoléculaires par cristallographie aux rayons X et RMN, la modélisation moléculaire et le criblage *in silico*, le criblage et la mesure d'interactions par des approches biophysiques, la synthèse chimique pour le développement de bibliothèques de composés focalisées et l'optimisation de ligands « hit-to-lead », l'analyse, la purification et l'identification de diverses familles de molécules et de protéines de faible poids moléculaire, l'ingénierie, l'évolution dirigée et le criblage à haut débit des enzymes optimisées, et enfin, la métagénomique fonctionnelle pour la découverte de nouvelles enzymes. La plateforme offre également un accès à ses bibliothèques de fragments (~ 1 000), de produits chimiques (> 11 000) et de peptides (> 20 000).

PICT occupe ainsi une position centrale dans le processus de développement de nouveaux médicaments, en aval de la découverte et de la validation d'une cible thérapeutique et en amont des études ADMET (Absorption, Distribution, Métabolisme, Élimination, Toxicité) et de la pharmacologie clinique.

Keywords: Criblage ; Biophysique structurale; Synthèse chimique ; Chromatographie; Découverte/ingénierie d'enzymes

Mécanochimie pharmaceutique. Synthèse, études spectroscopiques et activités biologiques de deux hydrazones à motif 3-aminorhodanine

Kapusterynska Anna,* Baltas Michel,^a Vendier Laure,^a Coppel Yannick.^a

a. Laboratoire de Chimie de Coordination (LCC)

* Correspondance : anna.kapusterynska@univ-tlse3.fr

Résumé :

Depuis les années '60 les problèmes environnementaux liés la croissance des activités industrielles humaines sont devenus un problème important et majeur depuis la fin du XXème siècle. C'est dans ce cadre que la « chimie verte » a vu le jour et a été structuré autour de 12 principes de P. Anastas et J. Warner¹. La mécanochimie est une des méthodes non conventionnelles développées de manière exponentielle dans le cadre d'une chimie plus respectueuse de l'environnement.

La rhodanine constitue un fragment privilégié depuis le début du 20ème siècle en chimie pharmaceutique. Les différents dérivés de cet hétérocycle ont montré des activités antibactériennes, antidiabétiques, antifongiques, antivirales, antimalariques, antitumorales, anti-inflammatoires et cardiotoniques.²

D'autre part, le fragment nitrofurane s'est également révélé prometteur dans le domaine de la conception de médicaments, ses dérivés présentant une activité en tant qu'agents antileishmaniens et antifongiques.³

Enfin, les hydrazones apparaissent depuis plusieurs décennies maintenant comme des dérivés importants en industrie chimique fine et industrie pharmaceutique.⁴ La synthèse des hydrazones par voie mécanochimique est un thème en développement dans l'équipe depuis une dizaine d'années.⁵

Dans cette étude, deux hydrazones potentiellement bioactives contenant à la fois un fragment 3-aminorhodanine et deux fragments différents de furane substitué ont été synthétisées par une méthode mécano-chimique "verte" utilisant soit le vibro-broyeur MM400 soit le broyeur planétaire Pulverisette 7. Les composés obtenus ont été analysés par différentes méthodes dédiés aux solides (RMN ¹³C, DRX), mais aussi en solution (RMN ¹H) et caractérisés aussi par spectrométrie de masse (MS). Nous présenterons également les résultats préliminaires concernant leurs activités en tant qu'agents antileishmaniens, antipaludiques, antituberculeux et antimicrobiens.

1. Paul T. Anastas, John Charles Warner, *Green Chemistry: Theory and Practice*; Oxford University Press; **1998**
2. Tomašić T. et Mašič L.P. Rhodanine as a scaffold in drug discovery: A critical review of its biological activities and mechanisms of target modulation. In *Expert Opinion on Drug Discovery*; **2012**
3. Ozildéia S. Trefzger et al. Design, synthesis, antileishmanial, and antifungal biological evaluation of novel 3,5-disubstituted isoxazole compounds based on 5-nitrofurane scaffolds; *Arch Pharm Chem Life Sci.*; **2020**
4. a) Wahbeh J, Milkowski S. The Use of Hydrazones for Biomedical Applications; *SLAS TECHNOLOGY: Translating Life Sciences Innovation*; **2019**; pp161-168
b) Abdel-Zaher A. Elassar et al. Chemistry of carbofunctionally substituted hydrazones. In *Reviews and Accounts*; **2007**; pp. 272-315
5. a) P.F. M. Oliveira et al., *RSC Advances*, 2014, 4, 56736-56742.
b) L. Gonnet et al., *ACS Sustainable Chem. Eng.* **2020**, 8, 3114–3125

Keywords: mécanochimie pharmaceutique, fragments, 3-aminorhodanine, 5-nitrofurane, hydrazones, activités biologiques.

Synthèse de molécules hybrides à cibles multiples à visée antituberculeuse

Dyhia Amrane, Remi Chauvin, Vania Bernardes-Génisson

Laboratoire de Chimie de Coordination (LCC), CNRS UPR 8241, 205, route de Narbonne, 31077, Toulouse.

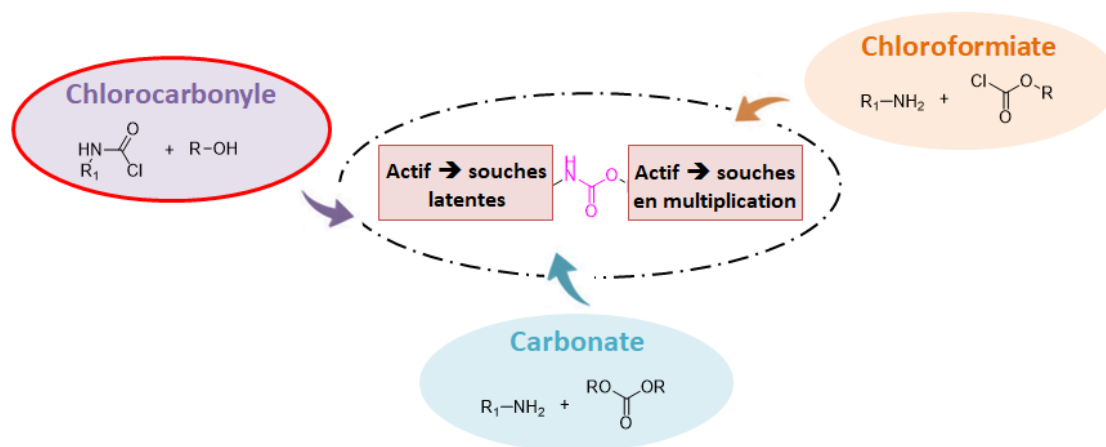
Correspondance : dyhia.amrane@lcc-toulouse.fr, vania.bernardes-genisson@lcc-toulouse.fr

Résumé :

La tuberculose est une maladie infectieuse causée par *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*). En 2020, l'OMS estimait à 1,3 millions le nombre de décès annuel par cette maladie dans le monde, [1] et qu'un quart de la population mondiale serait porteuse de l'agent pathogène sous une forme latente. La résistance de cette forme latente aux médicaments utilisés aujourd'hui rend l'éradication de la tuberculose très difficile. Le protocole standard du traitement de la tuberculose fait appel à quatre molécules présentant différents mécanismes d'action [2]. L'efficacité des traitements disponibles actuellement est menacée par l'émergence de souches de *Mtb* multi-résistantes aux antituberculeux classiques [3].

L'objectif du travail est de développer de nouveaux systèmes moléculaires de type pro-drogue hybrides à cibles multiples agissant, après activation, sur des souches latentes et en phase de multiplication de la mycobactérie, mais également sur des souches résistantes aux médicaments de première intention [3]. Dans cette perspective, une stratégie de développement des molécules hybrides associant deux pharmacophores via un lien carbamate a été entreprise. L'intérêt de ces molécules hybrides de type 'pro-drogue' est qu'elles seraient préférentiellement activées au sein de la bactérie en agissant sur différentes cibles biologiques.

L'étude de la synthèse de ces pro-drogues hybrides ainsi que la mise en place d'un système d'activation chimique potentiellement biomimétique seront décrits dans la communication.



1. Organisation Mondiale de la Santé : Tuberculose. Site disponible sur : https://www.who.int/fr/teams/global_tuberculosis-programme/tb-report/ (page consultée le 25/04/2022).
2. Miotto, P.; Zhang, Y.; Cirillo, D.M.; Yam, W.C. Drug Resistance Mechanisms and drug susceptibility testing for Tuberculosis. *Respirology*. **2018**, *23*, 1098-1113.
3. Laborde, J.; Deraeve, C.; Bernardes-Génisson, V. Update of Antitubercular Prodrugs from a Molecular Perspective: Mechanisms of Action, Bioactivation Pathways, and Associated Resistance. *ChemMedChem* **2017**, *12*, 1657-1676.

Mots-clés: pro-drogue; tuberculose; carbamate.

Screening and profiling of bioactive molecules at the CMBA platform

Caroline Barette,^a Emmanuelle Soleilhac,^a Sophie Gerbaud,^a Agnès Journet,^a Marie-Odile Fauvarque.^{a,b,*}

a. Univ. Grenoble Alpes, CEA, Inserm, IRIG, UMRS_1292, Plateforme de Criblage pour des Molécules Bioactives, 38000 Grenoble, France

* Correspondance : caroline.barette@cea.fr

Résumé :

Bioactive molecules are chemical compounds modifying the activity of a biological target *in vitro* or *in vivo*. Such molecules are critical for both drug discovery and the development of chemical tools to study protein function in a temporal and putatively reversible manner. On the one hand, molecules selected from biochemical or enzymatic *in vitro* assays are used to disrupt full, or part, of protein activity. On the other hand, phenotypic screening based on *in cellulo* assays greatly enhances the probability to select molecules active in a living organism. Moreover, subsequent determination of their target can provide new information on proteins and signaling pathways regulating physiological or pathological processes such as cell growth and differentiation, inflammation and carcinogenesis.

The CMBA screening platform is an open facility managing more than 75,000 compounds, which helps in developing robust miniaturized assays and performs large-scale automated screens (HTS).¹ The CMBA also develops innovative high-content analysis (HCA) protocols to monitor complex cell phenotypes using automated microscopy, for the high-content screening (HCS) of small collections of chemicals or for the in-depth characterization of compounds of interest and their analogues, at the cellular level.^{2,3} In this frame, we have designed a number of in-house protocols to establish the bioactivity profiling of chemicals based on the cell behavior or phenotype, such as viability, proliferation, apoptosis, migration, cytoskeleton, signaling, autophagy...

Beside our activity of service, we aim at searching for molecules specifically interfering with members of the deubiquitinating enzymes family (DUBs) which mutations are associated with various diseases including chronic inflammation, cancer and neurodegeneration. To date, most of the hundred known DUBs have unknown substrates and only a handle of molecules targeting DUBs have been published. We address this issue by combining genetics, cell biology and chemogenomics approaches.

1. Barette C., Soleilhac E., Charavay C., Cochet C. and Fauvarque MO. **2015**. [Strength and specificity of the CMBA screening platform for bioactive molecules discovery]. Med Sci (Paris). (4):423-31
2. Soleilhac, E., Nadon, R. and Lafanechere, L. **2010**. High-content screening for the discovery of pharmacological compounds: Advantages, challenges and potential benefits of recent technological developments. Expert Opin. Drug Discov. 5, 2-10.
3. Brodin P., DelNery E. and Soleilhac E. **2015**. [High Content Screening in chemical biology: overview and main challenges]. Med Sci (Paris). (2):187-96.

Keywords: bioactive compounds; HTS; HCS/HCA; profiling; DUBs

Sondes luminescentes lanthanidiques pour le suivi *in situ* de l'ATP extracellulaire et des ROS lors de la neuroinflammation

F. Collin,^{a*} C. Galaup,^{b*} C. Fonta,^c R. Mauricot,^d S. Balayssac,^a F. Couderc,^a L. Gibot,^a V. Gilard,^a N. Leygue,^b L.G. Nowak,^c L. Perquis,^a.

- a. Laboratoire des Interactions Moléculaires et Réactivité Chimique et Photochimique (IMRCP), CNRS UMR 5623, Université Paul Sabatier – Toulouse III.
- b. Laboratoire de Synthèse et Physico-Chimie de Molécules d'Intérêt Biologique (SPCMIB), CNRS UMR 5068, Université Paul Sabatier – Toulouse III.
- c. Centre de Recherches Cerveau et Cognition (CerCo), CNRS UMR 5549, Université Paul Sabatier – Toulouse III.
- d. Centre d'Elaboration de Matériaux et d'Etudes Structurales (CEMES), CNRS UPR 8011, Toulouse.

* Correspondance : fabrice.collin@univ-tlse3.fr, chantal.galaup@univ-tlse3.fr

Résumé :

Les réactions inflammatoires sont couramment associées à des infections et des lésions aiguës du système nerveux, ainsi qu'avec des pathologies chroniques. L'état inflammatoire chronique est connu pour contribuer à la progression de maladies neurodégénératives, et l'inflammation pour être associée à des conditions de stress oxydant, c'est-à-dire un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et les systèmes de défense antioxydants. Ces conditions conduisent *in fine* à l'apparition de lésions neuronales. Cependant, la contribution des ROS à la réponse inflammatoire est encore peu connue. Il est possible d'étudier la réponse inflammatoire en travaillant sur des tranches de cerveau, maintenues en vie, pour lesquelles l'architecture tissulaire des régions du cerveau est conservée.

Le projet consiste à suivre l'évolution *in situ* des niveaux d'ATP et de ROS (HO^\bullet et $\text{O}_2^{\bullet-}$) sur des modèles des tranches de cerveau maintenues en vie, en condition d'inflammation. La quantification de ces espèces, en très faibles concentrations, sera réalisée par microscopie de fluorescence résolue en temps au moyen de trois sondes luminescentes lanthanidiques, actuellement développées. L'intérêt de telles sondes est leur spécificité et leur sensibilité de détection grâce à une mesure en temps résolu qui permet de s'affranchir de l'autofluorescence des milieux biologiques. L'étude des perturbations métaboliques par RMN et UPLC/MS, en cours de développement, apportera des informations complémentaires afin de relier inflammation et stress oxydant. Les premiers résultats obtenus dans le cadre de ce projet sont présentés ici.

Ce projet a obtenu un financement CNRS MITI-Metallo-Mix (2021 et 2022).

Keywords: stress oxydant, neuroinflammation, sondes lanthanidiques, imagerie de fluorescence

Type de communication : affiche

Vers de nouveaux agents antimicrobiens potentiels inspirés de produits naturels acétyléniques

Allouda Sarah , Maraval Valérie, Chauvin Remi et Bernardes-Génisson Vania

Laboratoire de Chimie de Coordination (LCC), CNRS UPR 8241, 205, route de Narbonne, 31077, Toulouse.

Correspondance : sarah.allouda@lcc-toulouse.fr; chauvin@lcc-toulouse.fr; vania.bernardes-genisson@lcc-toulouse.fr

Résumé :

L'objectif du projet est de développer de nouveaux agents antituberculeux inspirés du falcarinol¹ (Figure 1), métabolite secondaire produit dans des racines de carottes et doté de propriétés antimicrobiennes connues de longue date [1]. Ce produit naturel est caractérisé par une forte lipophilie et une faible solubilité dans l'eau, ce qui le rend peu compatible avec les critères d'un futur candidat médicament. Dans ce contexte, nous proposons la synthèse d'une molécule simplifiée, en remplaçant la chaîne lipidique par un groupe polaire et rigide centré sur un noyau thiophène, celui-ci relié à une portion apolaire plus courte *via* une double/triple liaison (C=C, C≡C) ou un pont carboxamide.

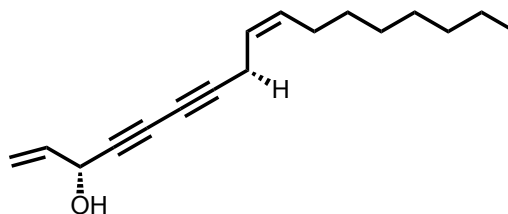


Figure 1. falcarinol, produit naturel à propriétés antimicrobiennes [1].

Références

[1] H. Li, T. O'Neill, D. Webster, J. A. Johnson, C. A. Gray, *J. Ethnopharmacology* **2012**, *140*, 141; b) T. O'Neill, J. A. Johnson, D. Webster, C. A. Gray, *J. Ethnopharmacology* **2013**, *147*, 22.

Mots clés : alcynylcarbinol, falcarinol, antituberculeux, thiophène

Probing protein structural dynamics by nitroxide-based SDSL-EPR at room-temperature in bacterial cells.

Annalisa Pierro,^{a,b} Alessio Bonucci,^a Ketty Tamburrini,^c Emilien Etienne,^a Guillaume Gerbaud,^a Bruno Guigliarelli,^a Axel Magalon,^d Barbara Zambelli,^e Valérie Belle,^a Elisabetta Mileo.^{a,*}

- a. Aix Marseille Univ, CNRS, BIP, Bioenergetique et Ingenierie des Protéines, UMR7281, Marseille, France.
- b. Department of Chemistry, University of Konstanz, Universitätsstraße 10, 78457 Konstanz, Germany.
- c. Aix Marseille Univ, CNRS, AFMB, Architecture et Fonction des Macromolécules Biologiques, UMR 7257, Marseille, France,³ INRAE, Aix Marseille Univ, BBF, Biodiversité et Biotechnologie Fongiques, UMR 1163, 13288 Marseille, France.
- d. Aix Marseille Univ, CNRS, LCB, Laboratoire de Chimie Bacterienne, UMR7283, Marseille, France.
- e. Laboratory of Bioinorganic Chemistry, Department of Pharmacy and Biotechnology, University of Bologna, Bologna, Italy.

* Correspondance : emileo @imm.cnrs.fr

Résumé :

Understanding how the intracellular medium modulates protein structural dynamics and protein-protein interactions is an intriguing but required topic scientists search to address by studying biomolecules in their native environment. As the cellular environment cannot be reproduced in vitro, investigation of biomolecules directly inside cells has attracted a growing interest in the past decade. Indeed, efforts in magnetic resonance spectroscopies have enabled important improvements in the study of structural dynamics directly in the cellular context.

Among magnetic resonances approaches, site-directed spin labeling coupled to electron paramagnetic resonance spectroscopy (SDSL-EPR) has demonstrated to be one of the powerful approaches to study structural properties of biomolecules. In particular, nitroxide-based SDSL-EPR couples the benefits of high sensitivity and the lack of size constraints for the biomolecule of interest with the ability to study protein structural transitions and interactions at physiological temperature. In this work, we will discuss the results achieved in the investigation of the structural dynamics features of two cytosolic proteins directly inside cells, by combining the use of nitroxide labels and EPR (cw-EPR and pulsed dipolar experiments) spectroscopy. In particular, we focused on two chaperones proteins, NarJ from *E. coli* and UreG from *S. pasteurii*, both delivered inside the Gram-negative bacterium *E. coli*.

Thanks to this approach, we showed that *i)* the cellular environment can have a site-specific impact on the structural dynamics of both proteins; *ii)* these dynamics are not reproducible in non-in-cell scenarios (e.g., crowded solutions or cytoplasmatic extracts of the host); *iii)* both the delivery and EPR experiments are non-destructive; in particular, we found that NarJ was still active once delivered in cells whose strain had been deprived of the native *narJ* gene, restoring the activity of the nitrate reductase enzyme.

These results, taken together, demonstrate that nitroxide-based SDSL-EPR is a valuable approach to extract dynamics data directly in a physiological environment.

Keywords: protein structural dynamics; EPR spectroscopy; in cell spectroscopy; spin labels.

Novel Imiquialines : Chemical Biology in the service of OncoMedChem

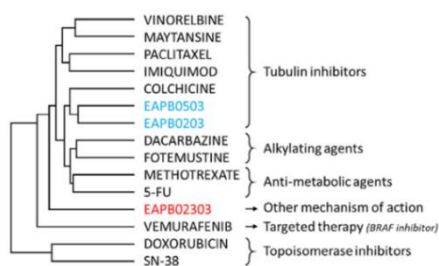
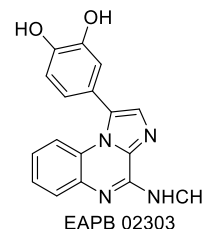
Deleuze-Masquéfa Carine,^b Bonnet Pierre-Antoine,^a Patinote Cindy.^{a,*}

- a. Institut des Biomolécules Max Mousseron, UMR 5247, Equipe F16, 1919 route de Mende, 34090 Montpellier.

* Correspondance : cindy.patinote@umontpellier.fr

Résumé :

Imiquialine is an original small heterocyclic chemical family we have developed based on the quinoxalinic moiety and protected by 2 patents.^{1,2} Among these first-in-class compounds^{3,4,5}, **the identified lead EAPB 02303 displays outstanding nanomolar activities comparable or better to those of the current best anticancer agents on a panel of human cancer cell lines, notably on poorly sensitive or resistant cancers (pancreas and melanoma).**⁶



Transcriptomic studies on A375 cell line.
First Generation: EAPB0203 and EAPB 0503 Hits.
Second Generation: EAPB02303 Lead.

The mechanistic study using transcriptomic analyses confirms **an original mechanism of action** of EAPB 02303 different from a panel of well-known anti-cancer agents. Flow cytometry and immunofluorescence reveal **cellular cycle arrest in mitosis and DNA accumulation**. Chemical biology tools, such as affinity chromatography using the SILAC method, allowed the identification of 10 protein targets from pancreatic and melanoma cell lines. Molecular modelisation study with potent targets confirmed the possible affinity.

To assess **EAPB 02303 efficacy on *in vivo* models**, MTD of single and repeated *ip* administrations and pharmacokinetic parameters have been determined.⁷ Experiments on A375 human melanoma and on Capan pancreatic xenografted mice to confirm the potent anti-cancer effect of the lead are ongoing.

1. New Imidazo[1,2-a]quinoxalines and Derivates Thereof for the Treatment of Cancer. WO 2016/107895 A1. Cuq P. *et al.*
2. Imidazo[1,2-a]quinoxalines and derivatives thereof for treating cancers. WO 2009/043934 A1. Deleuze-Masquefa C. *et al.*
3. Novel and Selective TLR7 Antagonists among the Imidazo[1,2-a]pyrazines, Imidazo[1,5-a]quinoxalines, and Pyrazolo[1,5-a]quinoxalines Series. Bou Karroum N, *et al.* J Med Chem. **2019**. doi: 10.1021/acs.jmedchem.9b00411.
4. Imidazo[1,2-a]quinoxalines derivatives drafted with amino acids: Synthesis and evaluation on A375 melanoma cells. Chouchou A. *et al.* **2018**. doi: 10.3390/molecules23112987.
5. Imidazo[1,2-a]pyrazine, Imidazo[1,5-a]quinoxaline and Pyrazolo[1,5-a]quinoxaline derivatives as IKK1 and IKK2 inhibitors. Patinote C. *et al.* **2017**. Eur J Med Chem. 2017. doi: 10.1016/j.ejmech.2017.07.021.
6. Imidazo[1,2-a]quinoxalines for melanoma treatment with original mechanism of action. Patinote C. *et al.* Eur J Med Chem. **2021**. doi: 10.1016/j.ejmech.2020.113031.
7. Liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry method for quantitative estimation of new imiquialine leads with potent anticancer activities in rat and mouse plasma. Chouchou A. *et al.* **2017**. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. doi: 10.1016/j.jpba.2017.10.025.

Keywords: affinity chromatography, SILAC, RAS, melanoma, pancreatic cancer.

Liste des participants

- Allouda Sarah
- Amrane Dyhia
- Arimondo Paola B
- Atkinson Robert
- Azéma-Despeyroux Joëlle
- Bacque Corinne
- Ballereau Stéphanie
- Barbe Sophie
- Barette Caroline
- Baron Rudi
- Beaurain Marie
- Bedos-Belval Florence
- Benoist Eric
- Bernardes-Génisson Vania
- Berthomé Yann
- Berthonnaud Léonie
- Biot Christophe
- Blanchard-Desce Mireille
- Bon Cécile
- Bonnet Dominique
- Borie-Guichot Froger Marc
- Bossuat Margaux
- Bouchiba Younes
- Bourdon Valérie
- Bourdon Valérie

- Bourdreux Yann
- Bourgeais Mathieu
- Bouvier Corentin
- Britton Sébastien
- Burger Alain
- Calsou Patrick
- Campoy Martin
- Carayon Chantal
- Carlier Mathieu
- Chardet Crystalle
- Chebaiki Mélina
- Claparols Catherine
- Collin Fabrice
- Constant Patricia
- Contreras Jean
- Costache Iulia
- Dalko Peter
- Danoun Saadia
- De Cremoux Lucie
- Defrancq Eric
- Dehoux-Baudoin Cécile
- Deleuziere Maëlle
- Delfourne Evelyne
- Delmas Agnès
- Demay-Drouhard Paul
- Deraeve Céline
- Drommi Marielle
- Durvin Nina
- Eliseeva Svetlana
- Escudier Jean-Marc
- Esmieu Charlène
- Fabing Isabelle

- Fauré Régis
- Fort Sébastien
- Freyermuth Chloé
- Friscourt Frederic
- Galaup Chantal
- Galzi Jean-Luc
- Gély Camille
- Genisson Yves
- George Riya
- Gerland Beatrice
- Gilleron Martine
- Gomez Zamorano Dennis Carlos
- Goncalves Fernanda
- Grosjean Emeline
- Guianvarch Dominique
- Guilbaud Valentine
- Guillen Frédéric
- Hacker Stephan
- Hureau Christelle
- Johannes Ludger
- Kapusterynska Anna
- Karpenko Julie
- Khalaf Tarek
- Laborie Pascale
- Lafanechère Laurence
- Lauray Jean-Baptiste
- Laurent Régis
- Lefevre Margot
- Leluc Adeline
- Lemassu Anne
- Leonelli Dimitri
- Leroy Eric

- Leygue Nadine
- Lherbet Christian
- Lopez Marie
- Mailhol Damien
- Mallet-Ladeira Sonia
- Maraval Valérie
- Marrakchi Hedia
- Martins Enzo
- Martins-Froment Nathalie
- Masquefa Carine
- Masson Yannick
- Mathieu Emilie
- Maveyraud Laurent
- Mayor Matthias
- Mileo Elisabetta
- Monteillet Méguie
- Mourey Lionel
- Mouysset Baptiste
- Munier-Lehmann Hélène
- Nahoum Virginie
- Nguyen Clément Michel
- Ombrouck Laurena
- Oriol Lauriane
- Patinote Cindy
- Payrastra Corinne
- Petoud Stéphane
- Poinot Pauline
- Pratviel Geneviève
- Ramos Pascal
- Rémond Emmanuelle
- Rivière Michel
- Rivière Chloé

- Rodriguez Frédéric
- Rols Marie-Pierre
- Rulmont Clément
- Saffon-Merceron Nathalie
- Sagan Sandrine
- Sai Mariam
- Salis Chloé
- Saurel Olivier
- Seemann Myriam
- Sinou Véronique
- Soleilhac Emmanuelle
- Stigliani Jean-Luc
- Tamhaev Rasoul
- Tardin Catherine
- Theillet Francois-Xavier
- Thuru Xavier
- Torbeev Vladimir
- Tran My Lan
- Tranier Samuel
- Van Heijenoort Carine
- Vauzeilles Boris
- Vedrenne Marc
- Vichier-Guerre Sophie
- Weiss Lucille
- Wong Yung-Sing
- Zerguine Yann
- Zuber Guy