

dans le cerveau, augmente la durée de vie de la dopamine.

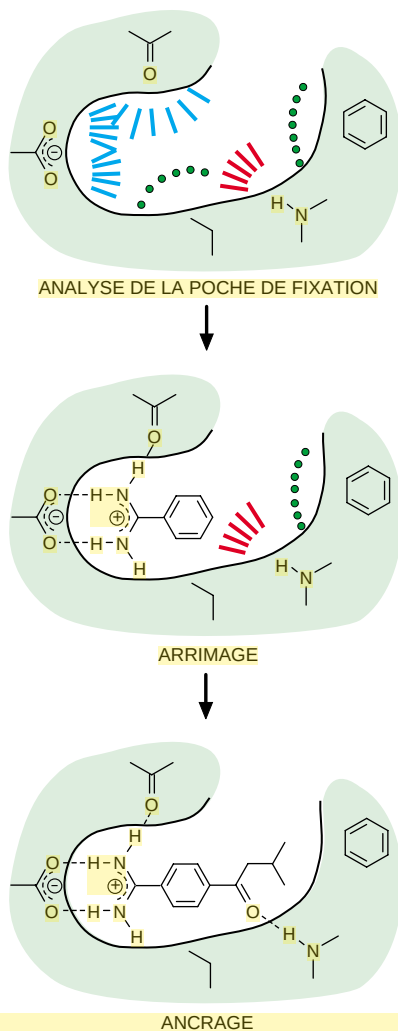
Les médicaments agissent généralement sur des enzymes, sur des récepteurs, sur des transporteurs, sur des canaux ioniques ou sur des protéines servant de signaux. Ceux qui agissent sur les enzymes les inhibent généralement. Ceux qui s'ancrent sur des récepteurs déclenchent des effets analogues à ceux des molécules de l'organisme (agonistes) ou bloquent le fonctionnement des récepteurs (antagonistes). Ceux qui se lient aux molécules servant de transporteurs de molécules endogènes bloquent les transports. Ceux qui se lient aux canaux ioniques stabilisent ces derniers en configuration ouverte, ou bien, au contraire, en position fermée. Enfin, ceux qui agissent sur les protéines de communication cellulaire modifient l'activité des enzymes, des récepteurs ou des canaux ioniques.

Des cibles moléculaires pour les substances actives

Dans tous les cas, le médicament n'est efficace que s'il se lie aux molécules de l'organisme, de sorte que la conception rationnelle d'un nouveau principe actif se fonde sur une connaissance approfondie des structures de reconnaissance de l'organisme. Toutes les cibles des médicaments sont des macromolécules ou des associations de plusieurs molécules. Le plus souvent, ce sont des protéines, c'est-à-dire des chaînes de plusieurs centaines d'acides aminés repliées sur elles-mêmes en pelote.

Les fonctions des protéines sont variées. Dans les membranes cellulaires, par exemple, des protéines assurent la transmission des signaux chimiques : ce sont des récepteurs. Des protéines transmembranaires ont une fonction de canaux ioniques, de pores ou de pompes. Certaines protéines de transport sont composées de plusieurs protéines : ainsi des transporteurs d'acides aminés introduisent dans les cellules des molécules qui participent à l'édification des structures cellulaires, ou font traverser la barrière hémato-encéphalique à des molécules qui nourrissent les cellules cérébrales ; des protéines de résistance font sortir des cellules les substances étrangères, dont certains médicaments.

Généralement les protéines comportent des sites auxquels se lient spécifiquement des molécules variées : hormones, acides aminés, acides nucléiques, sucres, graisses ou produits du métabolisme cellulaire... Le plus souvent, ces ligands sont petits



3. LE PROGRAMME DE CONCEPTION ASSISTÉE PAR ORDINATEUR LUDI facilite l'étude de nouveaux ligands des protéines. Quand on connaît la structure atomique d'une protéine, l'utilisateur peut définir un site de fixation et tester la liaison, à ce site, de petites molécules de structure connue. Dans un premier temps, le programme analyse le site de fixation et définit les positions que doivent occuper les partenaires de l'interaction (*en haut*) ; sur cette figure, des domaines donneurs de liaisons hydrogène (X-H) sont représentés par des traits bleus, les zones acceptrices de liaisons hydrogène (Y) par des traits rouges, et les régions lipophiles par des points verts. Puis le programme détermine comment des ligands potentiels se lieraient en les disposant de toutes les façons possibles. Les molécules qui se lient bien sont alors mises en mémoire avec l'évaluation de leur affinité. Lors de la dernière étape, on peut ajouter divers groupes sur les structures ainsi trouvées, afin d'augmenter les forces de liaison.

et de masse moléculaire inférieure à 1 000, mais la règle n'est pas absolue : les enzymes du système digestif qui sont chargées de l'assimilation des aliments doivent interagir avec de gros biopolymères pour les transformer, ce qui ne les empêche pas d'être bloquées par des ligands de faible masse moléculaire lorsque ces derniers s'adaptent à la poche de fixation et y adhèrent plus fortement que le ligand naturel. L'inhibition est alors compétitive.

On connaît également des molécules actives qui se fixent en un autre site que le site de fixation naturel du ligand et qui modifient ainsi le repliement de la protéine ou la configuration du groupe de protéines. Certaines de ces modifications changent la structure du site de fixation et bloquent la fixation du ligand, inhibant la protéine. De telles inhibitions « allostériques » sont plus fréquentes pour les protéines membranaires, tandis que l'inhibition compétitive est de règle chez les enzymes.

Les molécules d'ADN sont également des cibles thérapeutiques importantes pour les techniques de conception rationnelle de médicaments. En effet, l'ADN contient l'information nécessaire à la synthèse de toutes les protéines des cellules. Cette synthèse a lieu quand des protéines de signalisation se lient à des séquences particulières de la molécule. Des médicaments qui se logent entre les deux brins qui constituent la double hélice d'ADN ou qui se lient aux protéines de signalisation bloquent toutefois la transcription en ARN.

Enfin, les membranes sont une cible longtemps négligée, mais des découvertes récentes ont montré leur rôle fondamental dans la stabilisation des protéines qui y sont plongées et aussi, parfois, dans leur capacité à former des complexes. Les membranes cellulaires humaines sont constituées de deux feuillets, rigidifiés par des sortes de « clous », que sont les molécules de stéroïdes, tel le cholestérol. En revanche, chez les champignons, la stabilisation des membranes est assurée par l'insertion de molécules d'ergostérol, un composé qui n'existe pas chez l'homme. De ce fait, on peut inhiber un champignon responsable de mycoses à l'aide d'un médicament qui bloque l'enzyme de synthèse de l'ergostérol.

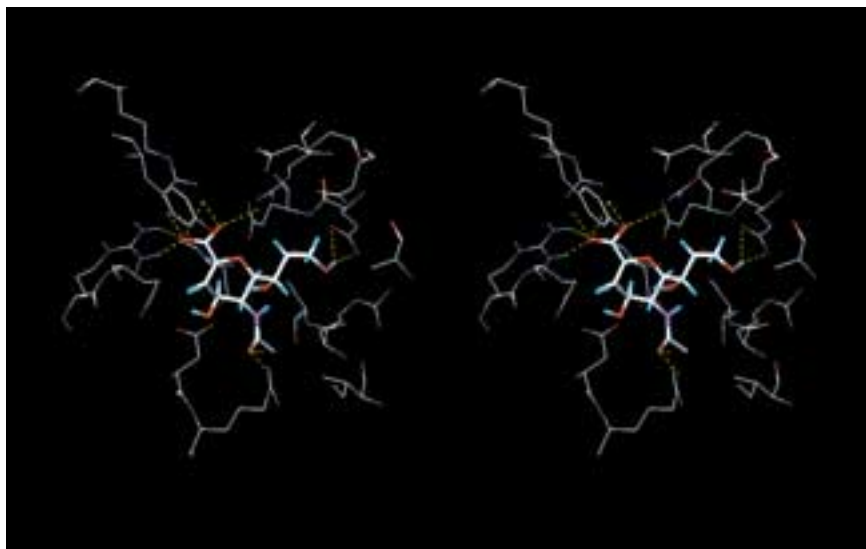
L'exploration du site de fixation

Une cible biologique étant identifiée, comment construire une molécule qui s'y liera (voir la figure 2)? On conçoit naturellement la structure du ligand d'après celle de la cible, mais, pour que le ligand reste en place de manière stable et durable, la seule prise en compte de la forme des molécules est insuffisante ; les atomes ou groupes d'atomes en vis-à-vis doivent s'attirer. Ces interactions peuvent être de plusieurs types : par exemple, des liaisons hydrophobes s'exercent entre des groupes non solubles dans l'eau ; des liaisons hydrophiles s'exercent, inversement, entre des molécules solubles dans l'eau. Les liaisons hydrogène, plus fortes, s'établissent quand un atome d'hydrogène (H) lié à un atome électronégatif (X) tel qu'un atome d'oxygène ou d'azote est proche d'un atome (Y) chargé de manière partiellement négative : une structure de type X-H...Y se forme.

Les liaisons hydrogène imposent des orientations particulières des médicaments et de leur cible. Leur contribution à la force de liaison est très variable : des expériences d'introduction d'un groupe hydroxyle (-OH) supplémentaire dans un ligand peuvent aussi bien augmenter la force de liaison d'un facteur 100 millions que la réduire. En revanche, le remplissage de la poche hydrophobe d'un site de fixation avec un résidu hydrophobe stabilise toujours la liaison.

Enfin, la «chiralité» des molécules biologiques doit être prise en compte : une molécule est chirale quand, telle une main (*cheir*, en grec), elle n'est pas superposable à son image dans un miroir. Les acides aminés, par exemple, sont chiraux, tout comme les protéines qu'ils constituent. De même qu'un gant gauche s'adapte mieux à une main gauche qu'à une main droite, les médicaments contre une cible chirale doivent avoir la chiralité appropriée.

On a ainsi observé entre deux énantiomères (les deux formes d'une molécule chirale) des différences considérables (avec une des formes jusqu'à 500 000 fois plus active que l'autre), et l'on sait que les molécules miroir de certains médicaments chiraux sont toxiques. Le pharmacologue doit donc veiller, lors de la syn-



4. LA NEURAMINIDASE, une enzyme présente à la surface du virus de la grippe, est une bonne cible thérapeutique, car cette enzyme n'existe pas chez l'homme : quand on la bloque spécifiquement, on ne provoque pas d'effets secondaires gênants. Cette enzyme élimine un sucre, nommé neuramine ou acide sialique, de glycoprotéines cellulaires auxquelles le virus se lie lors de l'infection. L'étude des neuraminidases des virus de la grippe de types A et B et des neuraminidases de diverses bactéries a montré que le site de fixation de la neuramine comprend trois arginines, un acide glutamique, la tyrosine, et une poche hydrophobe. Depuis les années 1970, on connaissait un inhibiteur faible de la neuraminidase, le Neu5Ac2en, qui co-cristallise bien avec l'enzyme. Lorsque la structure de ce complexe a été établie par analyse aux rayons X, au début des années 1990, on a utilisé la structure spatiale exacte du site de fixation, représenté ici sous la forme d'une paire de vues stéréoscopiques, où les atomes de carbone, d'oxygène, d'azote et d'hydrogène sont respectivement représentés en blanc, rouge, violet et bleu (pour voir la molécule en relief, loucher de façon que les deux images fusionnent ; après plusieurs secondes, l'image en relief apparaît). Avec de telles données, on a entrepris la mise au point d'inhibiteurs perfectionnés.

thèse de médicaments, à produire d'emblée la bonne configuration ou bien à séparer le produit utile de son énantiomère (la forme opposée).

Comment déterminer la forme géométrique du site de fixation d'une enzyme et les atomes qui sont présents à sa surface? L'analyse aux rayons X est largement utilisée : quand on irradie un cristal de protéine par un faisceau de rayons X, on obtient un cliché de diffraction à partir duquel on détermine la position dans l'espace de tous les atomes. Généralement une résolution comprise entre 0,15 et 0,3 nanomètre est suffisante, car elle permet déjà de reconnaître des détails structuraux tels que la formation de liaisons hydrogène entre les ligands et leurs sites de fixation.

Naturellement on ne peut faire de telles analyses que si l'on sait cristalliser les protéines ; pour les enzymes solubles, les techniques de cristallisation sont aujourd'hui mieux au point : comme de nombreuses protéines restent actives à l'état cristallin, on sait que leur configuration repliée n'a pas été modifiée notablement au cours de la cristallisation.

Dans le cas des protéines difficiles à cristalliser, l'observation au microscope électronique à très basse température révèle parfois la configuration de surface avec une résolution atomique. Grâce à des techniques de modélisation fondées sur la connaissance de la séquence en acides aminés et sur les données de structure secondaire, acquises par des techniques tant biochimiques que spectroscopiques, on connaît même bientôt les détails moléculaires. Aujourd'hui déjà, ces techniques de microscopie électronique assistée par la modélisation ont indiqué que l'acétylcholine (un neuromédiateur) ne se lie à son récepteur que dans une orientation déterminée.

Les molécules en solution peuvent être étudiées par résonance magnétique nucléaire quand elles ne sont pas trop grosses. Pour les protéines, la limite est un nombre d'acides aminés égal à 300 environ, de sorte que les récepteurs sont inaccessibles par résonance magnétique nucléaire. En revanche, la technique permet d'étudier les interactions entre un ligand et son récepteur protéique à la tem-