

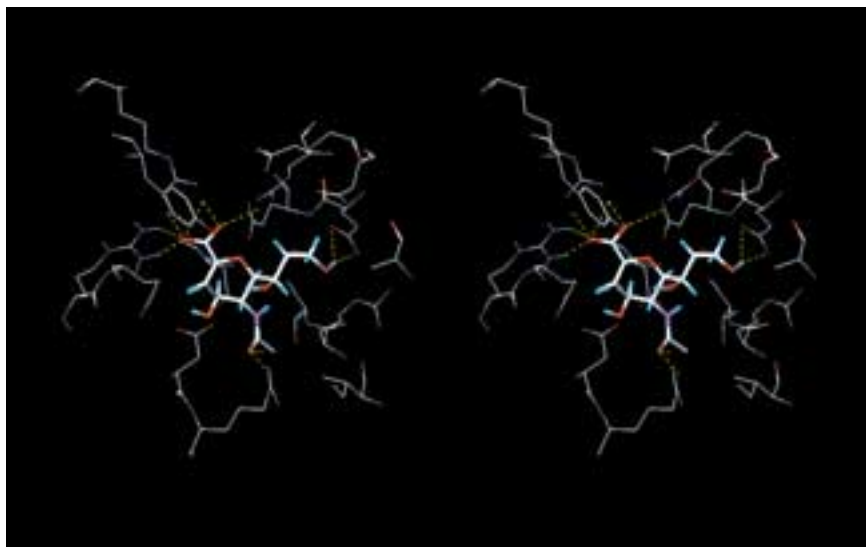
L'exploration du site de fixation

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-