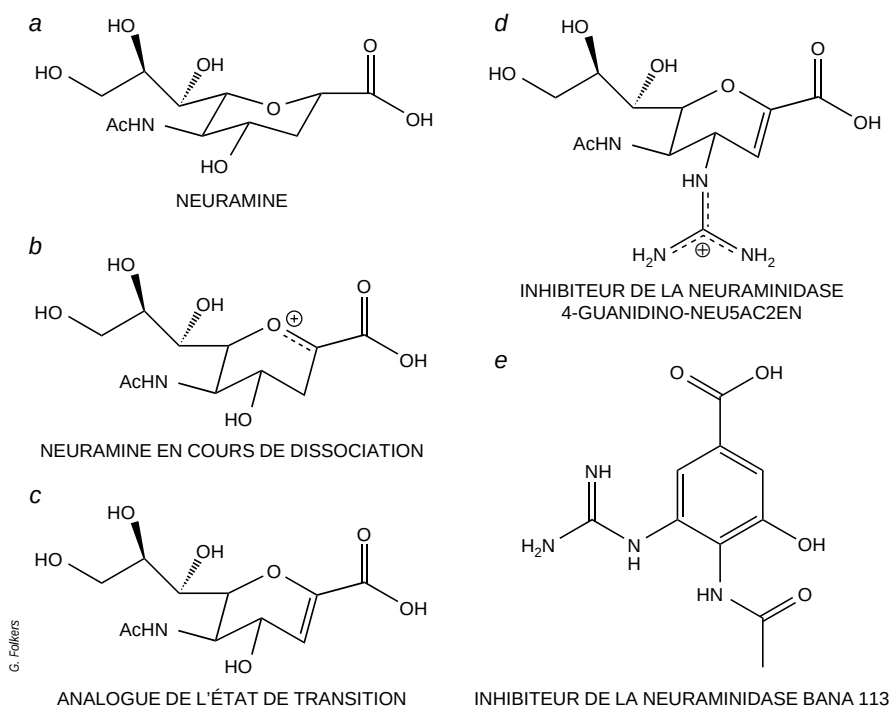




5. POUR SYNTHÉTISER un inhibiteur de la neuraminidase, les chimistes sont partis du substrat naturel de l'enzyme : la neuramine (sur la figure a, Ac désigne le groupe acétate $-\text{COO}-\text{CH}_3$). Les chimistes se sont intéressés à la forme que cette molécule prend lors de sa coupure (b), lorsque l'enzyme y est liée. Ils ont alors mis au point un analogue de l'état de transition (c), qui présentait des propriétés inhibitrices intéressantes. Puis une analyse détaillée de la structure de la poche de fixation a conduit à une augmentation de cette efficacité par un facteur 10 000, après le greffage sur cette molécule de guanidine (d). D'autres modélisations ont ensuite conduit à une autre classe de composés plus faciles à synthétiser : des dérivés de l'acide benzoïque, au noyau hexagonal plan (e).

pérature ambiante et en solution aqueuse, c'est-à-dire dans des conditions quasi physiologiques. Comme les signaux enregistrés dépendent notamment de la distance entre les atomes, on peut déduire des spectres la position tridimensionnelle des atomes et «résoudre» ainsi la structure des groupes observés.

D'autre part, de nouveaux micro-calorimètres, à base d'alliages très bons conducteurs de la chaleur, permettent désormais d'étudier la fixation d'un ligand sur une protéine : dans un récipient où l'on dispose une quantité infime de la protéine à étudier, on ajoute de petites quantités connues de ligand et l'on mesure le dégagement de chaleur qui accompagne la fixation. Encore peu utilisée, cette méthode complète pourtant bien les études purement structurales.

Après avoir ainsi déterminé la structure et les caractéristiques d'un site de fixation, on peut vérifier expérimentalement la justesse des modèles par des techniques de biologie moléculaire et de génie génétique. Quand les études de cristallographie aux

rayons X, de microcalorimétrie et de chimie quantique montrent qu'un acide aminé particulier de la poche de fixation joue un rôle important dans l'interaction avec le médicament, par exemple, on peut remplacer cet acide aminé par un autre et voir à quelle vitesse et avec quelle affinité le ligand se fixe alors. Par cette méthode, on a montré qu'un acide aminé soufré, la méthionine, dans un site actif de la thymidine kinase des virus, se liait au ligand par une force hydrophobe : le remplacement de cet acide aminé par une isoleucine, dotée d'une chaîne latérale purement hydrophobe, réduisait considérablement l'activité de l'enzyme.

La conception d'un ligand

Les données des analyses structurales et biochimiques, ainsi que les résultats des études de biologie moléculaire et de chimie quantique sont à la base des travaux de modélisation moléculaire : à l'aide d'ordinateurs, on calcule des modèles tridimensionnels que l'on affiche sur un écran sous l'angle que

l'on veut. Sur ces modèles, on peut faire apparaître diverses propriétés des molécules, telles des caractéristiques électroniques d'un ligand ou de certains de ses substituants. On visualise ainsi les diverses possibilités d'interaction avec le centre actif.

De tels modèles tridimensionnels servent de base à la conception rationnelle de composés qui se fixeront aux cibles biochimiques. Parfois on part de molécules déjà connues pour leur capacité de fixation spécifique, on analyse quels sont les éléments de leur structure qui assurent cette capacité, et l'on optimise la structure chimique afin de trouver des molécules qui se lient plus fortement aux molécules visées. Parfois aussi, on conçoit des ligands entièrement nouveaux, dont la structure est complètement imaginée à partir de la structure chimique du récepteur visé. Des programmes tels que LUDI, dû à Hans-Joachim Böhm, de la Société BASF, essaient d'adapter au modèle tridimensionnel de petites molécules qui établissent un nombre maximal d'interactions (voir la figure 3). Le programme montre comment des ligands peuvent s'introduire dans la poche de fixation quand ils sont munis de groupes latéraux appropriés. On identifie ainsi, pour chaque site de fixation, plus de 100 000 substances d'une masse moléculaire inférieure à 500. De tels programmes guident le choix parmi des milliers de ligands intéressants, et permettent de n'en synthétiser que quelques-uns, qui seront ensuite étudiés expérimentalement.

Lutte contre les virus

Au cours des cinq dernières années, les procédés rationnels de conception des médicaments ont obtenu de nombreux succès. On a notamment conçu des inhibiteurs d'une enzyme du virus d'immunodéficience humaine (VIH), responsable du SIDA : des chimistes de la Société *DuPont/Merck* ont montré que certaines urées cycliques se lient bien au centre actif de l'enzyme virale, une protéase (qui forme plusieurs protéines virales en découpant un pré-curseur). Ces «inhibiteurs de protéase», utilisés en trithérapie du SIDA, réduisent la concentration virale à des valeurs inférieures à la limite de détection, chez certains malades.

Les nouvelles techniques ont été également utiles contre la grippe. Les vaccins antigrippaux ont l'inconvénient que les antigènes principaux des virus grippaux – l'hémagglutinine et la neuraminidase – changent rapidement, tout en conservant leurs fonctions. Pour lutter plus efficacement contre le virus de la grippe, on a cherché à attaquer les protéines de surface du virus.

Le virus se fixe sur les cellules de l'organisme par son hémagglutinine : la molécule s'attache à la neuramine, qui constitue l'extrémité de glycoprotéines, de glycolipides et d'oligosaccharides qui font saillie à la surface des cellules. Ultérieurement, l'enzyme virale nommée neuraminidase élimine les sucres afin que les nouvelles particules virales n'y restent pas accrochées, lors de leur sortie des cellules infectées.

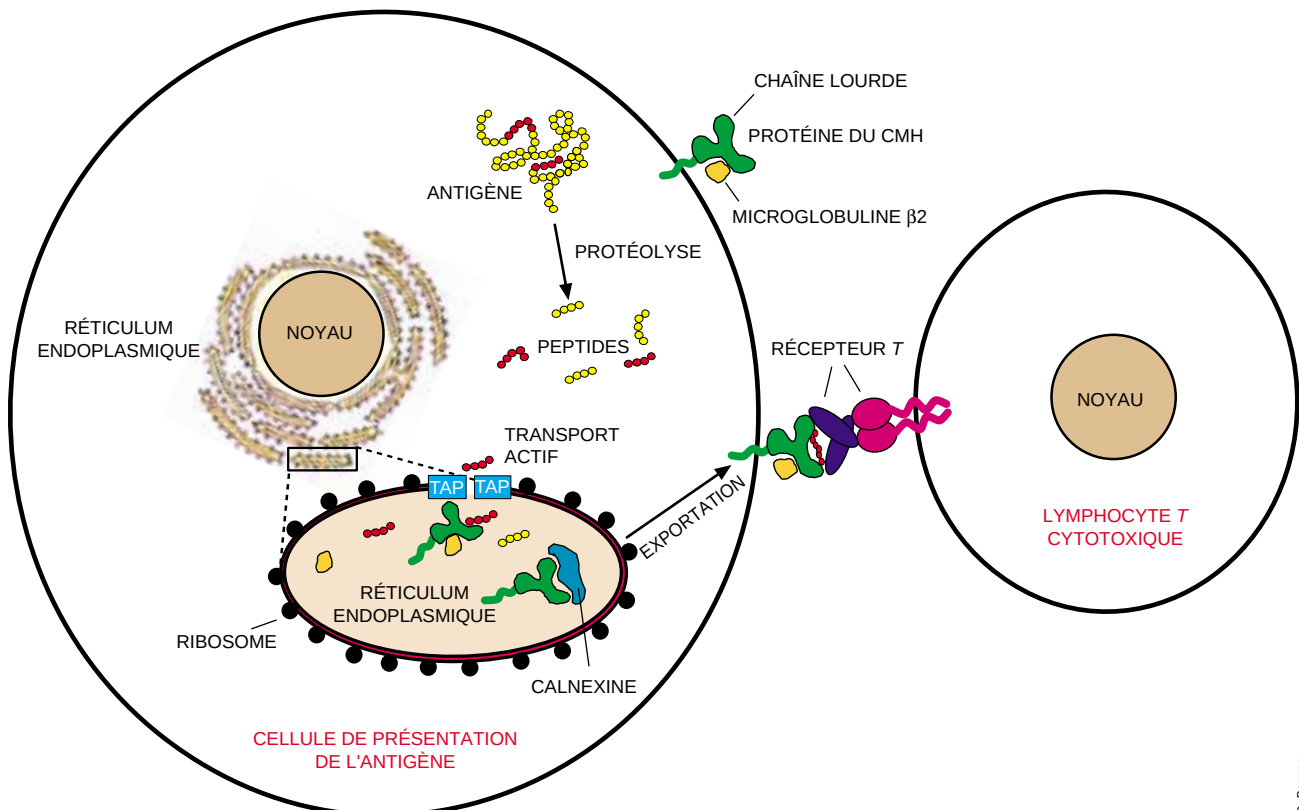
Depuis les années 1970, on connaît un analogue de la neuramine (Neu5Ac2en) capable d'inhiber faiblement la neuraminidase et de cristalliser avec cette enzyme. On a étudié le complexe formé par cristallographie aux rayons X, et l'on a ainsi identifié le centre actif de l'enzyme (voir la figure 4) : ayant observé qu'il contient une crevasse que l'inhibiteur Neu5Ac2en ne remplit pas, on a imaginé de greffer sur ce dernier un groupe chimique qui s'introduirait dans cette crevasse et assurerait une meilleure fixation.

Au cours de cette recherche, des chimistes australiens trouvèrent qu'un groupe ammonium ($-NH_3^+$) ou amidinium ($-C(NH_2)_2^+$) se liait à la poche de fixation vide. Ils remplacèrent alors le groupe hydroxyle ($-OH$) présent à l'endroit correspondant de la molé-

cule d'inhibiteur par un groupe guanidine, chargé positivement (voir la figure 5) : la molécule résultante, la 4-guanidino-Neu5Ac2en, aujourd'hui nommée inhibiteur GLAXO GG167, se révéla 10 000 fois plus active que le composé initial. Une analyse aux rayons X de la neuraminidase du virus influenza B cocrystallisée avec le nouvel inhibiteur confirma les prévisions théoriques. Le virus ne deviendra probablement pas résistant à cet inhibiteur, car des modifications du site catalytique de la neuraminidase perturberaient sa fonction.

La lutte contre les rhumatismes

La conception rationnelle a également apporté beaucoup contre les maladies auto-immunes, au cours desquelles



6. LA RÉACTION IMMUNITAIRE due aux lymphocytes T résulte de la reconnaissance de molécules spécifiques, à la surface des cellules infectées. Les cellules de présentation des antigènes découpent les antigènes, ou protéines étrangères, en peptides qui sont placés dans le réticulum endoplasmique sous la forme d'un complexe avec deux protéines de transport. Le réticulum endoplasmique est constitué de vésicules membranaires aplaties où les protéines sont importées lors de leur synthèse par les ribosomes qui tapissent l'extérieur de ces vésicules. Parmi ces protéines figurent les molécules de présentation des antigènes, que l'on nomme protéines du CMH, car elles sont codées par le complexe majeur d'histocompatibilité. Dès que des peptides apparaissent (en rouge), les protéines du CMH forment avec eux un complexe qui migre vers la surface de la cellule. Lorsque des lymphocytes T cytotoxiques munies d'un

récepteur approprié se fixent à ce complexe, ils sont activés, se multiplient et tuent toutes les cellules qui présentent le peptide étranger. Une maladie auto-immune peut se déclencher lorsqu'une protéine d'un micro-organisme pathogène renferme par hasard une séquence suffisamment longue que l'on retrouve dans une protéine de l'organisme. Si, par hasard, la personne ainsi infectée possède des molécules du CMH qui sont capables de se lier à cette séquence, le système immunitaire attaque non seulement les cellules qui contiennent la protéine étrangère, mais aussi celles qui synthétisent cette protéine de l'organisme. Même quand l'infection est vaincue, le système immunitaire continue d'attaquer les tissus de l'organisme reconnus à tort. La molécule du CMH responsable de cette reconnaissance erronée est une cible des médicaments dirigés contre les maladies auto-immunes.

D. Rogran