

# Chimie *du* et *pour* le vivant :

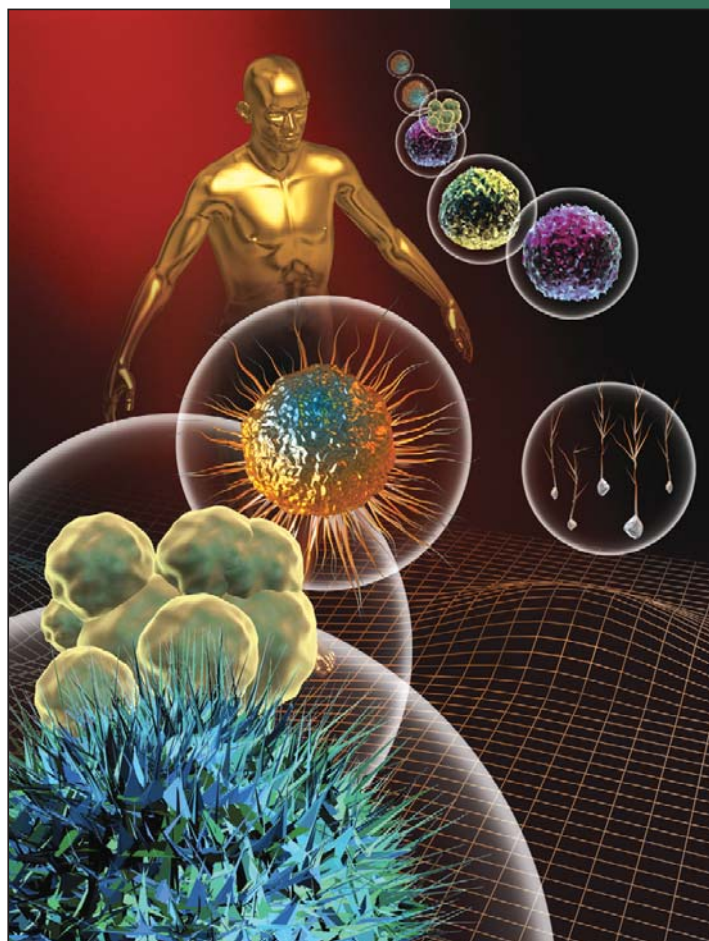
## objectif santé

Depuis de nombreuses années, la compréhension des mécanismes du vivant fait partie des axes majeurs de la recherche dans le domaine de la santé. Les progrès sans précédent et le développement spectaculaire des sciences du vivant au cours des trente dernières années ont permis d'établir des bases scientifiques solides pour les années à venir, en particulier grâce à l'établissement de *bases de données sur les molécules du vivant* (ensemble des gènes, des protéines et des métabolites d'un grand nombre d'organismes), aujourd'hui accessibles et utilisables par tous (**Encart « Dans la famille des "omes" »**).

De nombreuses perspectives s'ouvrent ainsi à la communauté scientifique, notamment pour les chimistes qui jouent, depuis de nombreuses années déjà, un rôle essentiel dans le domaine de la santé. Beaucoup reste à faire pour comprendre la « **chimie du vivant** » (paragraphe 1), c'est-à-dire l'ensemble des

réactions qui interviennent dans le fonctionnement de nos cellules et de notre organisme (**Figure 1**).

Les chimistes jouent aussi un rôle important dans le



**Figure 1**

*Les sciences du vivant ont connu des progrès sans précédent dans la compréhension du fonctionnement de notre organisme.*

domaine de la santé en élaborant de nouvelles méthodes et en construisant de nouveaux objets (molécules, matériaux...), pour permettre ou faciliter la compréhension du vivant, mais aussi pour intervenir sur certains de ses dysfonctionnements. Citons les médicaments, les matériaux biocompatibles pour prothèses, les produits de diagnostic, etc. C'est ainsi qu'ils développent une « **chimie pour le vivant** » (paragraphe 2).

Par ailleurs, les chimistes développent aussi une véritable « **chimie d'après le vivant** », inspirée par la richesse et la complexité de la chimie du vivant (paragraphe 3).

## 1 La chimie du vivant

### 1.1. La chimie ouvre les portes de la compréhension des mécanismes moléculaires du vivant : des perspectives pour la santé

Dans les vingt années à venir, le premier domaine de la santé

où l'on s'attend à des améliorations considérables grâce aux chimistes est le domaine de *la chimie du vivant*. De fait, tout organisme vivant est le siège d'un fourmillement de réactions chimiques dont les acteurs sont des enzymes, ainsi que des millions d'autres molécules telles que les sucres, les lipides ou les **médiateurs chimiques**, qui jouent des rôles clés dans le fonctionnement de l'organisme (*Figure 3*).

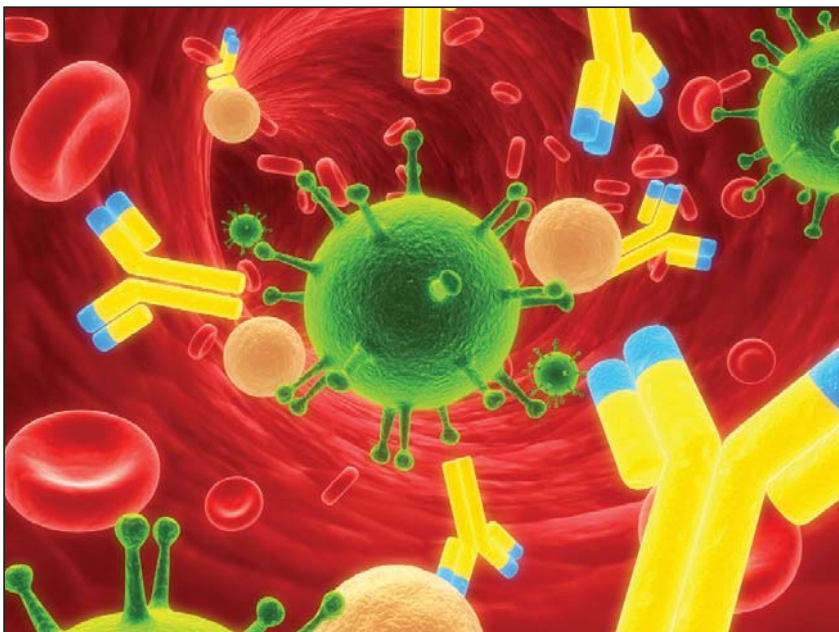
Le décryptage récent des génomes et des protéomes de nombreux organismes a montré que 30 à 40 % des gènes et des protéines ainsi mis en évidence sont « orphelins », c'est-à-dire qu'on ne connaît rien de leur(s) fonction(s) biologique(s). La recherche des rôles de ces protéines « orphelines » est un enjeu majeur des années à venir pour les chimistes et les biochimistes. Nul doute que cette recherche va conduire à la découverte de nouveaux schémas métaboliques, de nouveaux systèmes enzymatiques, de nouvelles réactions, de nouveaux catalyseurs et médiateurs, lesquels sont à la base des fonctions physiologiques de l'organisme.

### 1.2. Un exemple de nouveau médiateur récemment découvert : l'oxyde nitrique

L'une des découvertes récentes les plus marquantes dans le domaine des médiateurs est celle du rôle clé joué par l'oxyde nitrique (NO) dans diverses fonctions physiologiques. Cette toute petite molécule, composée de deux atomes, un azote et un

Figure 3

Des millions de molécules sont à la base du fonctionnement de notre organisme.



## DANS LA FAMILLE DES « ...OMES »

### Un peu de génomique fonctionnelle...

Le début de ce <sup>XXI</sup><sup>e</sup> siècle est marqué par l'essor d'une discipline nouvelle que les scientifiques ont baptisée la **génomique** et qui marque un tournant révolutionnaire dans leurs recherches pour comprendre... comment fonctionne l'être vivant.

La longue histoire a réellement débuté avec la découverte fondamentale en 1953 de la structure en double hélice de l'ADN (Acide DésoxyriboNucléique), la molécule constitutive du génome, le support de l'hérédité. Puis en 2001, sont publiées les premières données sur le **séquençage complet du génome humain** (l'ADN et le génome sont abordés en détail dans le *chapitre de C. Giovannangeli*).

Un travail titanesque a maintenant commencé dont le but est de comprendre « quels gènes pilotent quelles fonctions physiologiques de l'organisme ? » Pour cela, il faut passer par l'identification et le recensement de milliers de gènes et d'ARN, ainsi que de millions de protéines et métabolites ! Se constituent alors des bases de données sur les molécules du vivant : génome, transcriptome, protéome, métabolome, et même physiome (*Figure 2*).

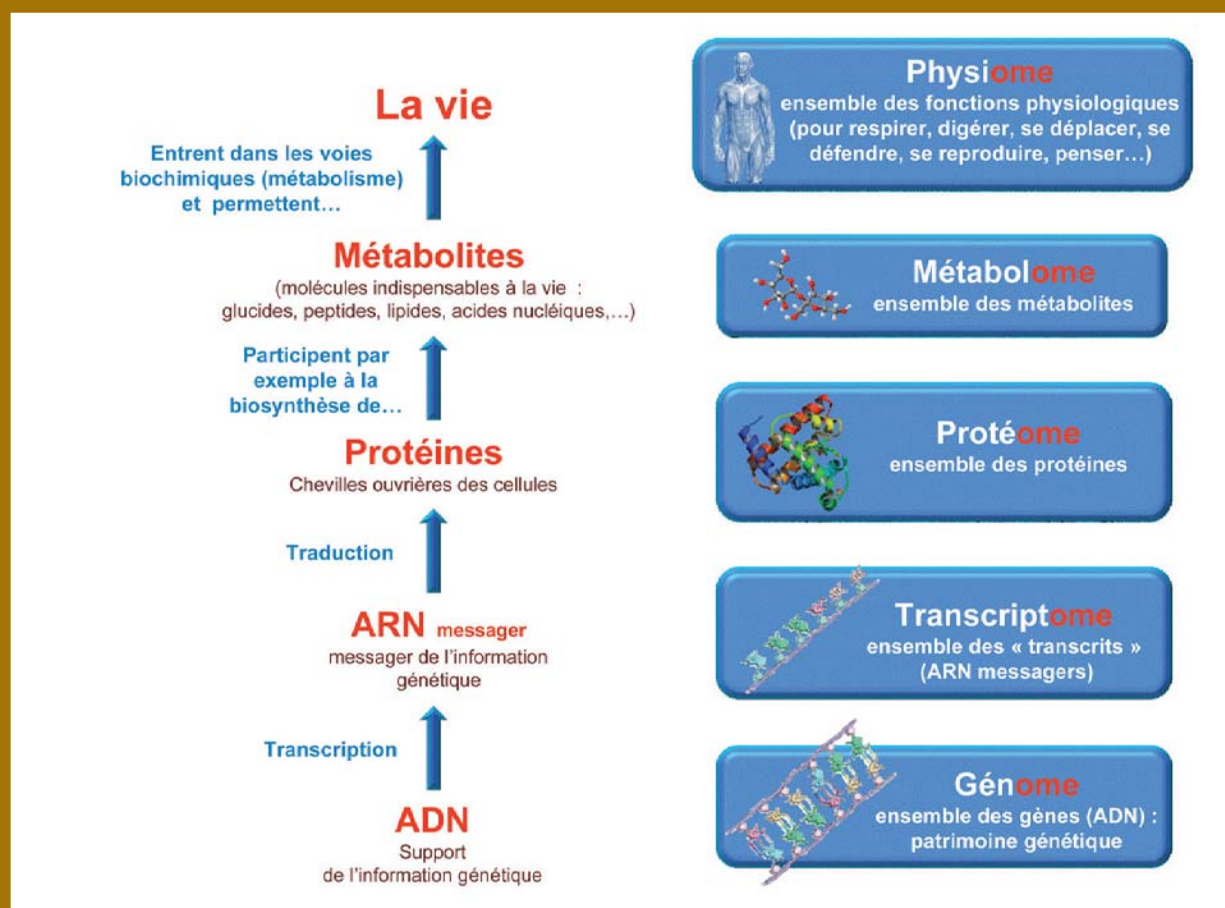


Figure 2

### Du gène à la fonction physiologique : la génomique fonctionnelle.

Dans les cellules vivantes, les gènes sont transcrits en ARN messagers, qui sont traduits en protéines, lesquelles participent par exemple à la biosynthèse de métabolites, qui assurent le fonctionnement de notre organisme. Chacune de nos milliers de milliards de cellules renferme quelque 25 000 gènes (ou fragments d'ADN), qui forment le génome. Les ARN messagers (de l'ordre de 45 000) constituent le transcriptome. Le protéome est encore plus fourni, car il regroupe de très nombreuses protéines (enzymes, récepteurs, anticorps, hormones, etc.).

## LES ENZYMES, CES CATALYSEURS DE NOTRE ORGANISME

Les organismes vivants possèdent des millions d'enzymes. Il s'agit généralement de protéines, formant typiquement des amas de chaînes entremêlées (hélices, feuillets et coudes, de tailles différentes, *Figure 4*, voir aussi *l'encart « La structure des protéines » du chapitre de F. Dardel*) qui transforment des substrats de notre organisme en produits nécessaires à son fonctionnement.

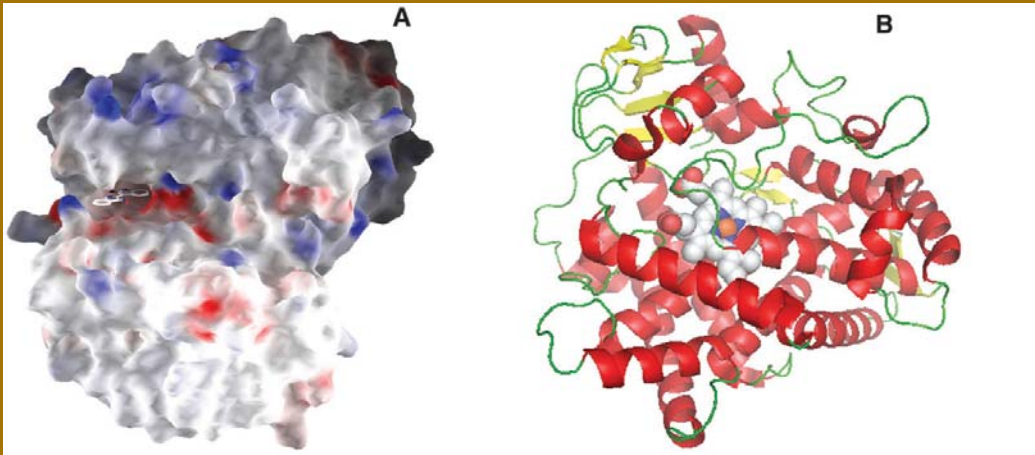


Figure 4

Les scientifiques modélisent les protéines, soit sous forme d'un amas d'atomes (A), soit par un ensemble constitué d'hélices, de feuillets et de coudes (en B est représentée une enzyme : le cytochrome P450 2D6). Nous retrouverons ces représentations dans les chapitres suivants. Rappelons que les enzymes possèdent des noms se terminant par « -ase ».

Le scénario classique de l'action d'une enzyme est le suivant : le substrat vient se fixer sur le « site actif » de l'enzyme pour former le complexe substrat-enzyme. Dans ce site actif se produit alors une série de réactions chimiques, aboutissant à la formation d'un produit, qui va pouvoir être utilisé par l'organisme (*Figure 5*).

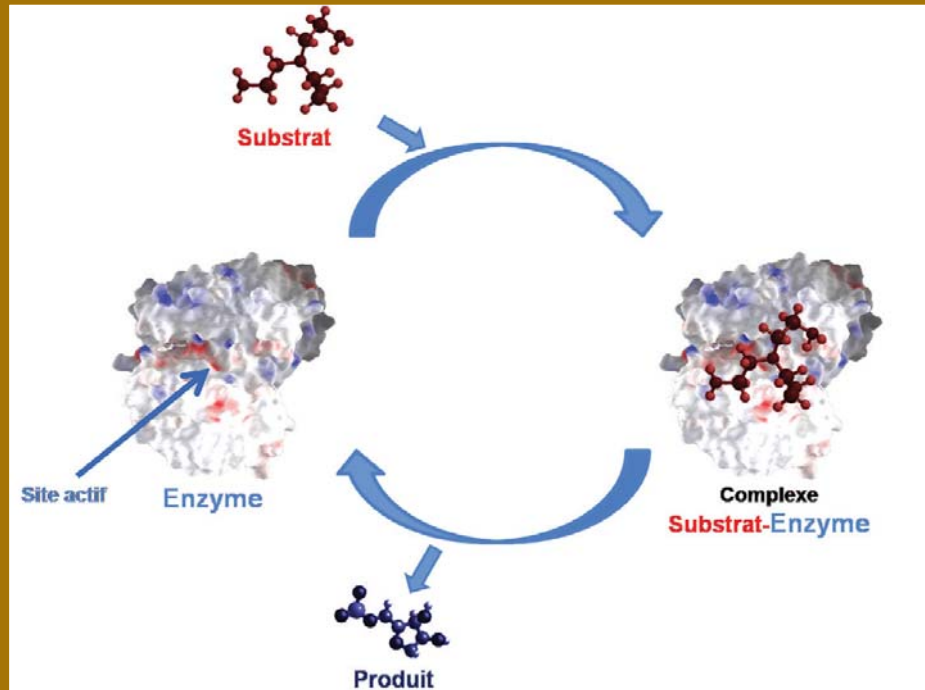
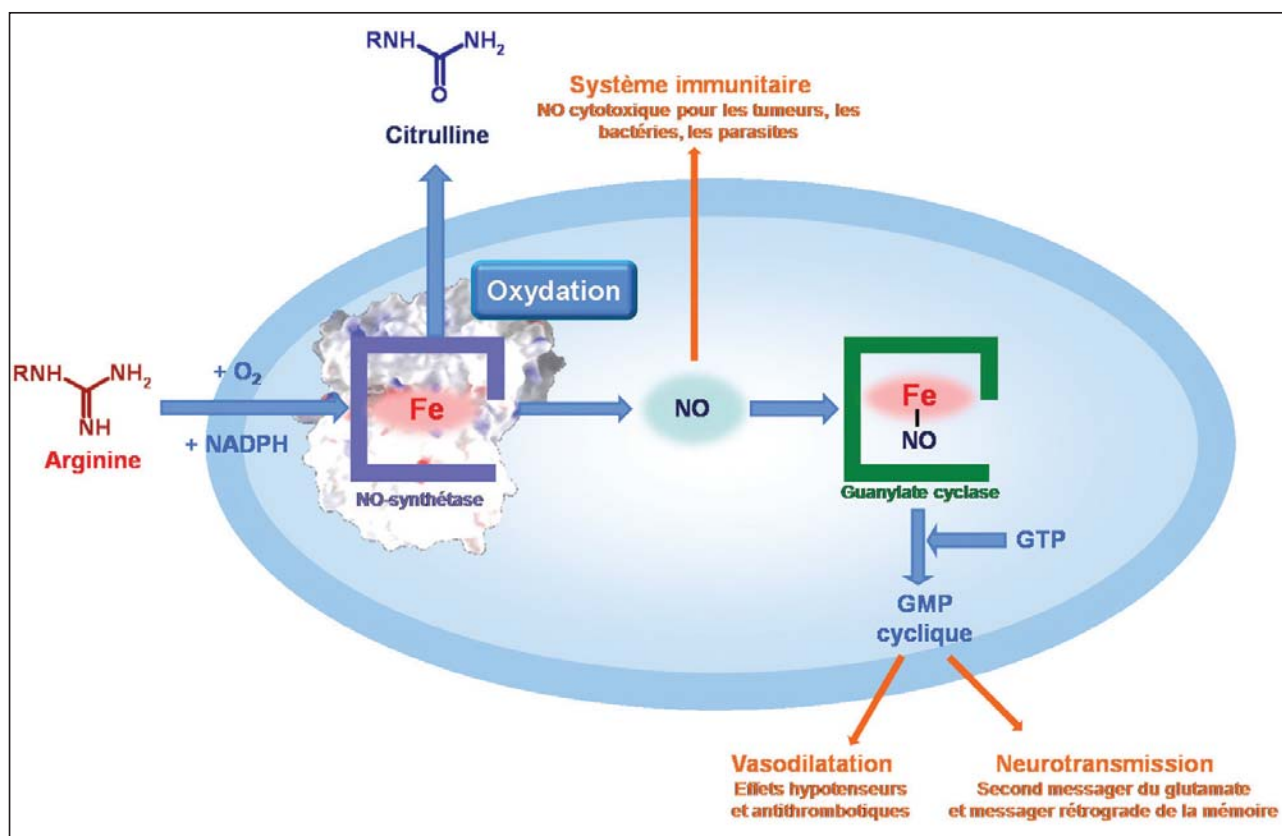


Figure 5

Schéma général d'une réaction enzymatique : une succession de réactions chimiques.

Les enzymes sont des **catalyseurs** qui accélèrent les réactions jusqu'à des millions de fois, et sont, comme les catalyseurs chimiques classiques, régénérées à la fin de chaque cycle de transformation. Certaines enzymes ont besoin d'alliés pour travailler : des **cofacteurs**. Ces molécules s'insèrent dans l'enzyme à proximité du substrat, et participent à la réaction enzymatique.



oxygène, était au départ considérée comme un polluant et un gaz toxique, tout comme le monoxyde de carbone (CO) qui lui ressemble. Des recherches effectuées dans les années 1990 ont mis en avant son implication dans de nombreuses fonctions physiologiques.

### 1.2.1. Comment notre organisme produit-il de l'oxyde nitrique et dans quel but ?

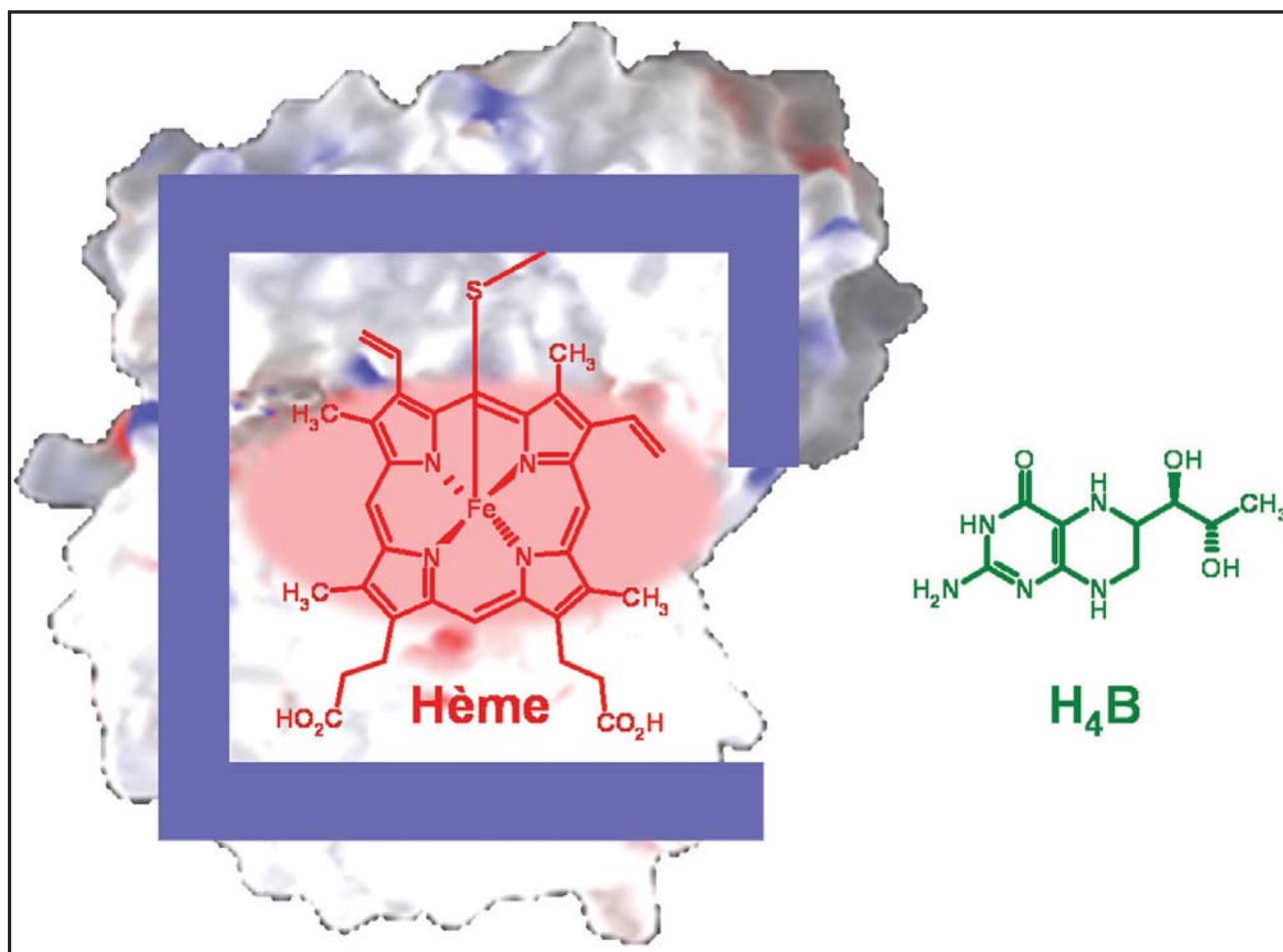
Aujourd'hui, nous savons que les mammifères fabriquent naturellement de l'oxyde nitrique pour leur fonctionnement – ce qu'on appelle la biosynthèse. Cette biosynthèse fait intervenir une enzyme (**Encart « Les enzymes, ces catalyseurs de notre organisme »**), la **NO-synthétase**, « l'enzyme chargée de synthétiser le NO ». Elle appartient à la famille des hémoprotéines : elle comporte une molécule d'hème (**Figure 7**), au cœur de laquelle se trouve un atome de fer (comme l'hémoglobine).

La NO-synthétase catalyse l'oxydation d'un de nos acides aminés essentiels, l'arginine, conduisant à la formation de citrulline et d'oxyde nitrique, comme représenté sur la **Figure 6**. Une fois généré, cet oxyde nitrique va avoir pour cible majeure une autre hémoprotéine : la guanylate cyclase. Au moment où il se fixe sur le fer de cette enzyme, celle-ci est activée et se met alors à jouer son rôle catalytique en transformant du GTP en GMP cyclique, médiateur très important de la signalisation cellulaire (**Figure 6**).

C'est de cette façon que l'oxyde nitrique agit au niveau du **système cardiovasculaire**, puisque ce processus est à la base de ses effets vasodilatateurs, mais aussi de ses effets hypotenseurs et antithrombotiques. Cette petite molécule joue aussi un rôle au niveau du **système nerveux central**, dans la neurotransmission : c'est le second messager du glutamate, mais c'est aussi un messager très important dans les processus d'apprentissage et de mémorisation. L'oxyde

**Figure 6**

*Biosynthèse de l'oxyde nitrique (NO) dans nos cellules et ses principales cibles physiologiques. L'enzyme NO-synthétase transforme l'arginine en citrulline et en oxyde nitrique. Celui-ci peut jouer divers rôles dans l'organisme, via dans certains cas la synthèse par l'enzyme guanylate cyclase de GMP cyclique (guanosine monophosphate cyclique) à partir de GTP (guanosine triphosphate).*



**Figure 7**

La NO-synthétase comporte deux cofacteurs, l'hème (en rouge) et la tétrahydrobioptérine H<sub>4</sub>B (en vert), pour réaliser la biosynthèse de l'oxyde nitrique. L'hème, également appelé protoporphyrine de fer, est relié à l'enzyme par une liaison Fe-S avec un acide aminé de la protéine, la cystéine ; la tétrahydrobioptérine H<sub>4</sub>B est un cofacteur riche en électrons utilisé dans un grand nombre d'autres systèmes enzymatiques.

nitrique joue aussi un rôle clé au niveau du **système immunitaire** : il est un élément majeur de notre défense vis-à-vis des organismes invasifs. Il fait partie de la panoplie d'espèces réactives produites par l'organisme pour détruire les bactéries, les virus, les parasites ou les tumeurs, au même titre que l'eau oxygénée H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ou l'hypochlorite ClO<sup>-</sup>, couramment employés par l'homme pour sa défense naturelle.

### 1.2.2. Le mécanisme moléculaire de la formation de l'oxyde nitrique

La NO-synthétase fait appel à deux cofacteurs pour réaliser la transformation de l'arginine en oxyde nitrique : l'hème et la tétrahydrobioptérine H<sub>4</sub>B (Figure 7). L'action concertée de ces deux cofacteurs est nécessaire pour que l'enzyme puisse produire très sélectivement le monoxyde d'azote

NO, sans formation d'autres oxydes d'azote comme le dioxyde d'azote NO<sub>2</sub>.

Arginine, hème et H<sub>4</sub>B se fixent dans le site actif de la NO-synthétase. À partir du moment où ces trois acteurs majeurs de la réaction sont ainsi correctement positionnés, des réactions chimiques peuvent prendre place, dont le scénario complexe a pu être complètement élucidé par les chimistes. L'oxydation de l'arginine a lieu en deux étapes :

- 1) transformation de l'arginine en N-hydroxyarginine ;
- 2) coupure oxydante de la liaison C=N de la N-hydroxyarginine, qui conduit à la formation de la citrulline et de l'oxyde nitrique.

L'encart « Biosynthèse de l'oxyde nitrique dans notre organisme » nous dévoile le mécanisme détaillé de la première étape catalysée par la NO-synthétase.

## BIOSYNTHESE DE L'OXYDE NITRIQUE DANS NOTRE ORGANISME : MECANISME DETAILLE DE L'ETAPE 1 : N-HYDROXYLATION DE L'ARGININE

### Les trois acteurs sur la scène de la NO-synthétase

Arginine, hème et  $H_4B$  sont positionnés dans le site actif de la NO-synthétase grâce à un réseau complexe de liaisons hydrogènes (*Figure 8*), ce qui permet une bonne communication entre les trois acteurs et une grande efficacité dans les transferts de protons et d'électrons nécessaires.

### Déroulement du scénario

La réaction enzymatique se déroule alors en plusieurs étapes, chacune étant une réaction chimique qui a lieu entre les trois acteurs. Le scénario est décomposé sur la *Figure 8*.

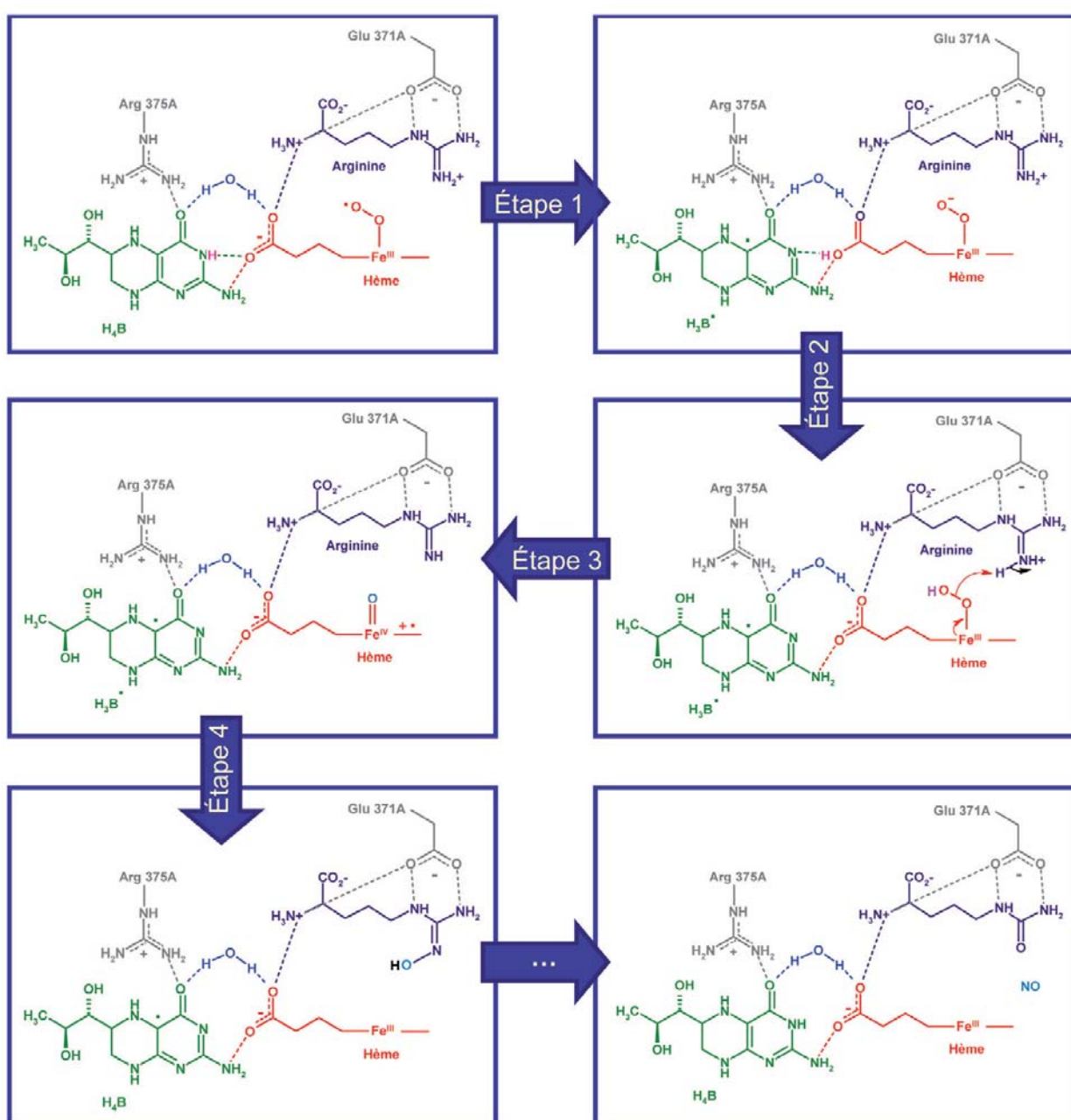


Figure 8

Les chercheurs ont mis en évidence, par rayons X, un réseau important de liaisons hydrogène (représentées en pointillés) entre l'hème, l'arginine (dont la fonction guanidine est située à 4 Å au-dessus du plan de l'hème) et la  $H_4B$  (située également à bonne distance de l'hème). Toutes les conditions sont réunies pour réaliser la réaction enzymatique (les parties en gris sont des régions du site actif de l'enzyme).

**Étape 1** : au cours d'une première étape, la  $H_4B$  transfère simultanément vers l'espèce  $Fe^{II}O_2$  ( $Fe^{III}-OO^{\cdot}$ ) un proton et un électron. Le transfert du proton (**H**) a été facilité par la liaison hydrogène (pointillés verts) qui existait entre le NH de la  $H_4B$  et un atome d'oxygène O de l'hème.

**Étape 2** : le proton transféré dans la première étape (H) est ensuite transféré de nouveau (probablement grâce à la présence de molécules d'eau  $H_2O$ ), jusqu'au fer de l'hème pour former une nouvelle espèce :  $Fe(III)-O-OH$ .

**Étape 3** : cette liaison O-OH nouvellement formée est très faible et facilement rompue après protonation du deuxième oxygène par l'arginine. L'hème se retrouve finalement sous une nouvelle forme  $Fe(IV)=O$  (radical-cation de la porphyrine) qui est une espèce à haut degré d'oxydation du fer, extrêmement réactive.

**Étape 4** : l'espèce  $Fe=O$  transfère son atome d'oxygène dans la liaison N-H de l'arginine.

**Étape 5** : lors d'un deuxième cycle catalytique dont les étapes ne sont pas détaillées ici, la molécule obtenue, la N-hydroxyarginine, est ensuite coupée pour libérer l'oxyde nitrique NO.

Voilà un bel exemple de scénario complexe, et insoupçonné il y a encore peu de temps, qui se déroule au sein de notre organisme, et que les progrès de la chimie ont fortement contribué à élucider. Il reste encore un grand vide dans la connaissance de la chimie du vivant, et les chimistes ont ici un rôle majeur à tenir dans les années à venir.

## 2 La chimie pour le vivant

### 2.1. De nouveaux outils au service de la santé

Le deuxième domaine d'action des chimistes réside dans l'élaboration de nouveaux outils et objets (molécules, matériaux...) pour permettre ou faciliter la compréhension du vivant, et pour en corriger certains dysfonctionnements.

De tels outils ont été mis en place ces dernières années et ont trouvé de nombreuses applications dans les domaines pharmaceutiques, agroalimentaires, ou encore du diagnostic et des biomatériaux : implants,

prothèses, cœurs artificiels, etc. (Figure 9). Parmi ces outils, on trouve par exemple des puces à ADN, des sondes spécifiques (*in vivo* ou *in vitro*) ou encore de nouvelles techniques d'imagerie et de spectroscopie sophistiquées (voir la Partie 3 de cet ouvrage) permettant d'élucider les structures d'assemblages complexes de protéines et/ou d'acides nucléiques (ADN), et de mettre en évidence les fonctions physiologiques des molécules du vivant.

### 2.2. L'apport de la chimie pour le vivant dans le domaine pharmaceutique

La chimie pour le vivant trouve l'une de ses principales applications dans le domaine pharmaceutique. Elle permet par exemple de mieux comprendre pour prévoir comment réagit notre organisme face à l'intrusion d'un composé étranger. Ce type de composés, appelés « xénobiotiques » (du grec *xénos* = « étranger » et *bios* = « vie »), peuvent être aussi divers que des médicaments, des



additifs alimentaires, des polluants, etc.

En comprenant mieux comment notre organisme métabolise ces xénobiotiques, les chercheurs peuvent évaluer plus facilement et plus tôt les effets toxiques susceptibles d'apparaître lors du **métabolisme** d'un médicament. En effet, lorsque l'on ingère un médicament, il est traité par l'organisme comme n'importe quel xénobiotique. Il sera donc transformé en générant de nouvelles molécules, qui peuvent s'avérer dangereuses, d'où les effets secondaires de certains médicaments, à certaines doses.

C'est en comprenant comment l'organisme métabolise les xénobiotiques qu'il est possible de prévoir un grand nombre d'effets secondaires néfastes des médicaments.

### 2.2.1. Comment l'homme métabolise-t-il les médicaments ?

Il est tout d'abord fondamental de comprendre de quelle manière et dans quelles conditions l'organisme métabolise les xénobiotiques, c'est-à-dire comment il transforme les composés exogènes pour les éliminer plus facilement.

Chez la plupart des organismes vivants, le métabolisme des xénobiotiques fait intervenir deux étapes (**Figure 10, flèches en bleu clair**) :

– **une étape de fonctionnalisation** : les xénobiotiques

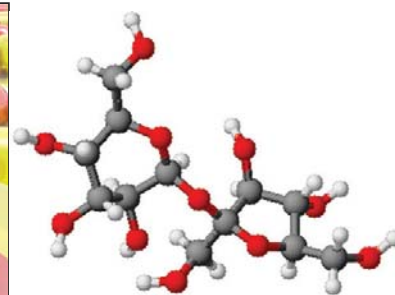


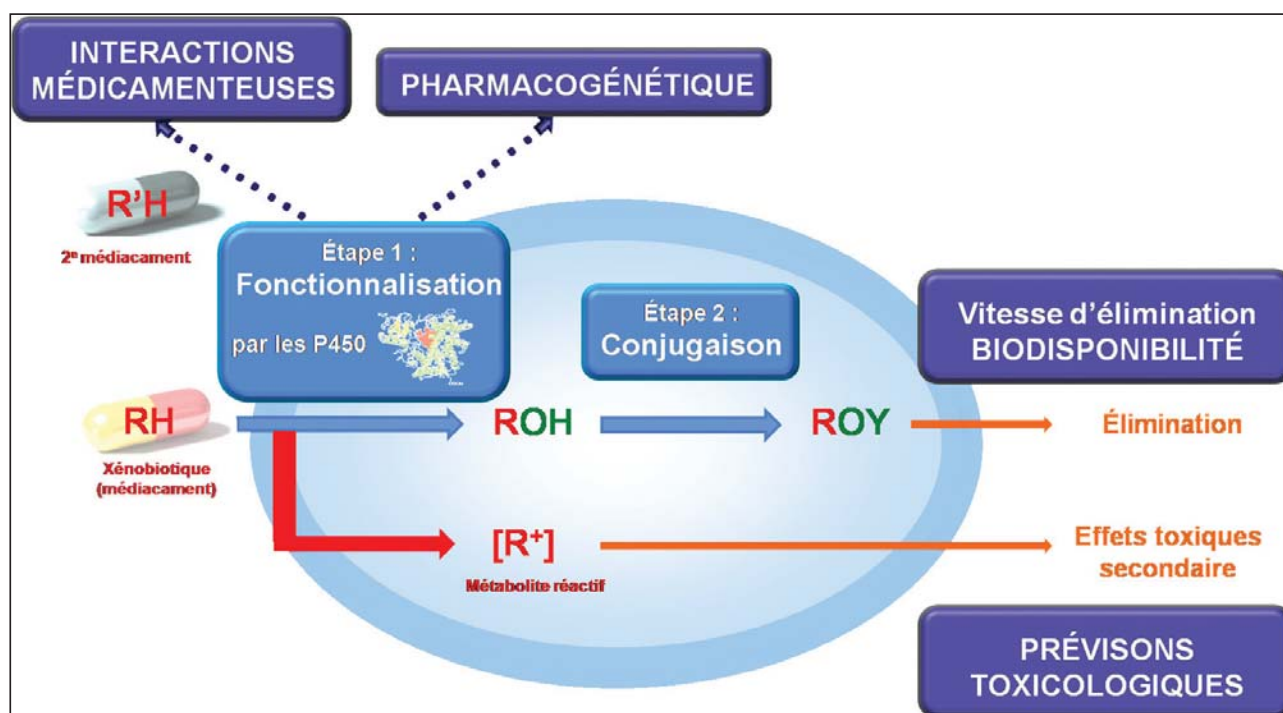
Figure 9

Molécules, prothèses, produits de contraste pour l'imagerie... la chimie crée une grande variété d'objets contribuant à notre santé.

sont souvent hydrophobes et inertes chimiquement. Cette première étape consiste à les rendre plus fonctionnels, le plus souvent par insertion d'un atome d'oxygène (**Figure 10, étape 1**). Elle est très souvent catalysée par une classe d'enzymes, les monooxygénases à **cytochrome P450** (l'une de ces enzymes est représentée sur la **Figure 4**) ;

– **une étape de conjugaison** : cette étape permet de rendre les molécules encore plus solubles dans l'eau et donc de faciliter leur élimination par l'organisme.

La transformation des médicaments par ces monooxygénases à cytochrome P450 a de nombreuses conséquences en pharmacologie et en toxicologie. Conséquences en ce qui concerne



**Figure 10**

Dans la recherche de nouvelles molécules actives, il est important d'avoir une bonne connaissance du métabolisme du médicament chez l'homme.

la **biodisponibilité** des médicaments, dans la mesure où l'étape cinétiquement déterminante de l'élimination de ces médicaments est souvent celle qui est catalysée par les cytochromes P450 (**Figure 10**, étape 1). Conséquences aussi en ce qui concerne la **pharmacogénétique**, car les individus ne sont pas égaux dans leur capacité à métaboliser et à éliminer les médicaments. En effet, une petite partie de la population possède certains des cytochromes P450 sous une forme mutée, peu active ou inactive catalytiquement. Les individus en question ne vont donc pas être capables d'éliminer aussi efficacement les médicaments pris en charge par ces cytochromes P450 ; cela peut conduire à la survenue d'effets toxiques de ces médicaments qui sont en quelque sorte « surdosés ».

C'est aussi au niveau des cytochromes P450 qu'interviennent diverses **interactions médicamenteuses** qui ont conduit dans certains cas au retrait de médicaments du marché. Ces interactions sont dues au fait que certains médicaments agissent soit

comme des inhibiteurs, soit comme des inducteurs de ces enzymes.<sup>1</sup> L'administration d'un tel médicament inhibiteur (ou inducteur), en même temps qu'un deuxième médicament qui se trouve être majoritairement métabolisé par un P450 inhibé (ou induit) par le premier médicament, peut conduire à un problème d'interaction médicamenteuse, due à la perturbation du métabolisme et de l'élimination du deuxième médicament par le premier (**Figure 10**).

Une autre conséquence très importante de la transformation des médicaments par les cytochromes P450 est la formation possible de métabolites réactifs ([R<sup>+</sup>] sur la **Figure 10**), la plupart du temps électrophiles, qui sont susceptibles d'établir des liaisons covalentes avec les sites nucléophiles des composants cellulaires comme les protéines et les acides nucléiques (typiquement de l'ADN).

1. Un inducteur est un composé qui déclenche une augmentation du taux d'expression d'une protéine, ici d'un cytochrome P450.

Ces réactions sont souvent à l'origine d'effets secondaires toxiques des médicaments. En fait, les cytochromes P450 sont, dans l'organisme, les sites privilégiés de formation de tels métabolites réactifs, car ils font intervenir dans leur cycle catalytique d'oxydation des substrats des espèces à haut degré d'oxydation du fer qui sont parmi les espèces les plus oxydantes connues en biologie. Ce type d'effet toxique secondaire va être abordé dans le paragraphe qui suit.

### 2.2.2. Vers une meilleure analyse de la toxicité des xénobiotiques

La détection la plus précoce possible des effets toxiques éventuels des candidats médicaments est une préoccupation majeure des firmes pharmaceutiques. La mise sur le marché d'un nouveau médicament n'a lieu qu'après examen, entre autres, des résultats d'un grand nombre de tests toxicologiques, faisant l'objet d'une lourde procédure de demande d'autorisation de mise sur le marché (**Encart « L'autorisation de mise sur le marché (AMM) d'un médicament »**).

En fait, depuis 2007, une nouvelle réglementation européenne, « **REACH** » (*Registration, Evaluation and Authorization of CHemicals*), exige que, de façon plus générale, toute substance chimique produite à plus d'une tonne par an fasse l'objet d'un enregistrement auprès d'une agence européenne, après examen de son dossier toxicologique. Il est donc plus que

tous les chimistes à la toxicologie et de leur donner les connaissances de base en toxicologie moléculaire pour prévoir, au moins en partie, si une nouvelle molécule a de fortes chances ou non d'être toxique.

À titre d'exemple des divers rôles qu'un chimiste est susceptible de jouer dans le domaine de la toxicologie moléculaire, considérons le cas d'un médicament, un **diurétique** : l'acide tiénilique. Avant sa mise sur le marché, ce composé avait passé toutes les barrières de la toxicologie animale, sans aucune indication d'effet toxique. Toutefois, après quelques années d'utilisation comme médicament, un certain nombre d'hépatites de type immuno-allergique (pathologie du foie que nous allons décrire ci-après) ont été observées avec une incidence faible, un patient sur 10 000 environ. Ce phénomène a conduit au retrait du médicament dans les années 1990.

#### L'AUTORISATION DE MISE SUR LE MARCHÉ (AMM) D'UN MÉDICAMENT

Pour être commercialisé, tout médicament doit faire l'objet d'une autorisation de mise sur le marché (AMM), délivrée par les autorités compétentes européennes (Agence européenne du médicament, EMEA) ou nationales (Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé, Afssaps, en France). Les laboratoires pharmaceutiques déposent un dossier de demande d'AMM, pouvant comporter jusqu'à des milliers de pages, et qui décrit à la fois la fabrication du principe actif, la fabrication du produit fini (principe actif mis en forme avec ses excipients par la galénique), les études cliniques et non cliniques (toxicité chez l'animal, chez l'homme). L'évaluation du médicament est effectuée selon des critères scientifiques de qualité, de sécurité et d'efficacité.

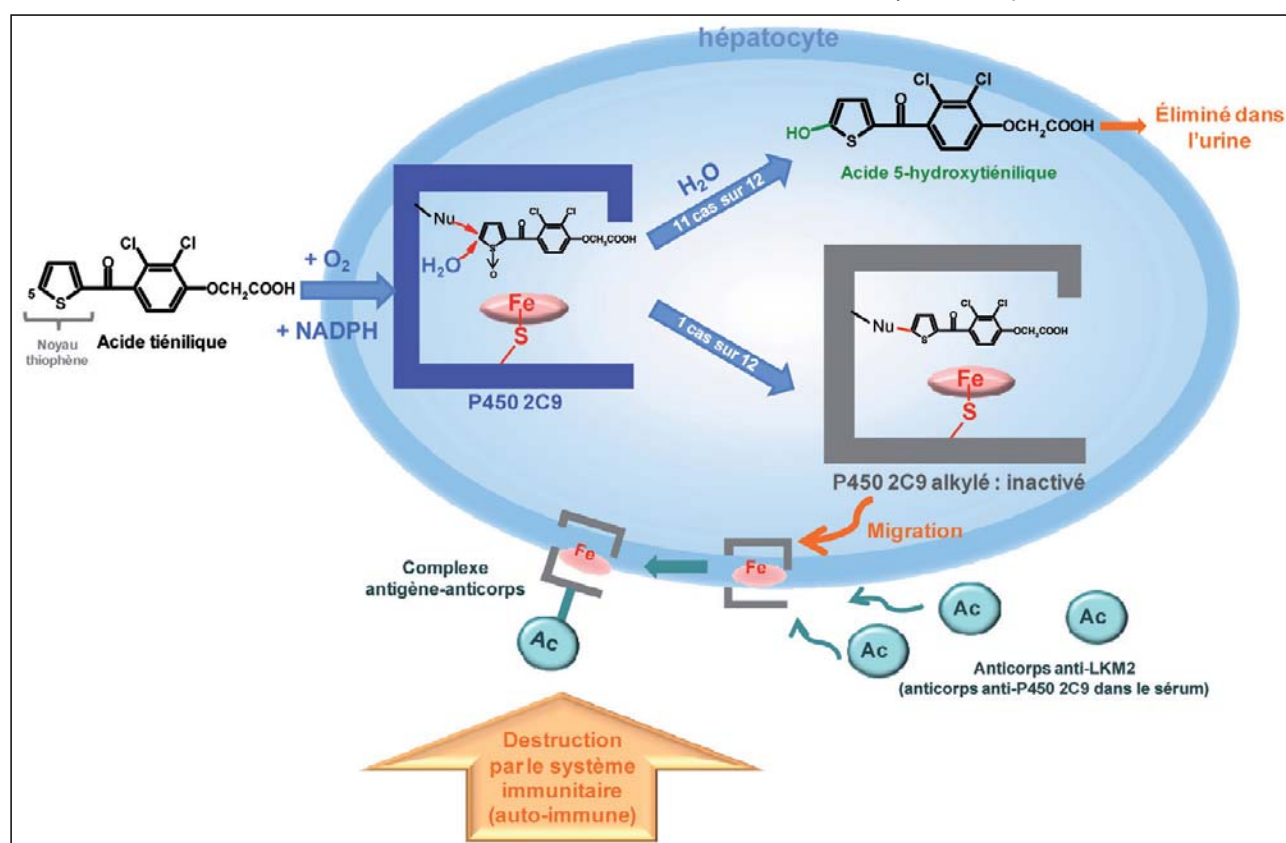
Figure 11

Après absorption d'acide tiénilique, ce médicament est principalement métabolisé au niveau du foie par le P450 2C9. Cette enzyme l'oxyde au niveau de son noyau thiophène, pour former un sulfoxyde très électrophile [2]. Celui-ci l'est d'autant plus qu'il a un substituant électroattracteur CO-aromatique. De ce fait, le carbone en position 5 du noyau thiophène est particulièrement électrophile et peut alors réagir avec tout nucléophile présent dans son environnement, c'est-à-dire dans le site actif du P450 2C9. Le plus souvent (11 fois sur 12), il va réagir avec l'eau présente dans ce site actif pour former l'acide 5-hydroxytiénilique, métabolite majeur retrouvé dans l'urine. Plus rarement (1 fois sur 12), il va réagir avec un nucléophile (Nu) faisant partie de la structure même de l'enzyme, à savoir un acide aminé, la sérine. Cette réaction d'alkylation de l'enzyme lui fait perdre son activité catalytique, et conduit au phénomène antigénique

Des études réalisées en collaboration avec la société qui l'avait mis sur le marché ont permis de proposer un mécanisme pour expliquer l'apparition de ces hépatites [1]. Après son administration, l'acide tiénilique est métabolisé dans le foie par le cytochrome P450 2C9 (Figure 11). Cette enzyme l'oxyde pour conduire à un métabolite de type sulfoxyde de thiophène, qui est très réactif ([R+]) de la Figure 10) et qui a deux évolutions possibles :

- 1) Le plus souvent (dans 11 cas sur 12), il réagit avec l'eau présente dans le site actif du P450 2C9, ce qui conduit à la formation d'un métabolite stable, l'acide 5-hydroxytiénilique, qui est le métabolite majeur retrouvé dans l'urine.
- 2) Plus rarement (1 cas sur 12), le sulfoxyde se lie de façon covalente à l'enzyme P450 2C9, laquelle se trouve alors inactivée (transformée en « P450

2C9 alkylé »), et potentiellement « antigénique ». En effet, cette protéine peut ensuite migrer jusqu'à la membrane de l'hépatocyte (cellule du foie). Elle est alors reconnue par le système immunitaire qui déclenche à son encontre la synthèse d'anticorps, que les cliniciens ont trouvés chez les patients atteints d'une hépatite à l'acide tiénilique, et qu'ils ont nommés à l'époque « anticorps anti-LKM2 ». On sait maintenant qu'il s'agit d'anticorps anti-P450 2C9. Après réadministration de l'acide tiénilique, la même chaîne de réactions intervient mais, cette fois, on retrouve au niveau de la surface de l'hépatocyte à la fois le « P450 2C9 alkylé » - l'antigène - et l'anticorps anti-P450 2C9. Il se forme alors un complexe antigène-anticorps, dont la présence active l'hépatocyte, déclenchant sa destruction par le système immunitaire.



Cette destruction, dite auto-immune, conduit à terme à une hépatite [1].

### 2.2.3. Vers la détermination des bases moléculaires de l'adaptation des êtres vivants à leur environnement chimique

Les cytochromes P450 jouent un rôle majeur dans l'adaptation des êtres vivants **aérobies** au grand nombre de xénobiotiques qui existent dans leur environnement direct, dans la mesure où ils sont capables de les oxyder et donc de faciliter leur élimination. Le décryptage du génome humain a montré l'existence de 57 gènes codant pour des P450. Une vingtaine de P450 humains sont responsables du métabolisme oxydatif des xénobiotiques. Toutefois, lorsque l'on considère l'ensemble des données existantes sur le métabolisme des médicaments, on s'aperçoit que seulement trois de ces P450, les P450 3A4, 2D6 et 2C9, interviennent dans le métabolisme oxydatif de 80 % des médicaments !

Ce constat interpelle les chercheurs : comment un aussi petit nombre d'enzymes sont-elles capables de métaboliser autant de substances chimiques, naturelles ou artificielles, présentes dans notre environnement ? Comment ces enzymes capables d'oxyder des substrats de taille et de structure très diverses, et qui présentent de fait une très faible spécificité de substrat, peuvent-elles néanmoins être efficaces au plan de leur activité catalytique, et sélectives quant à leur site d'oxydation sur le substrat ? On est très

longtemps resté sans explication pour ce paradoxe.

Des éléments de réponse ont été apportés au cours de ces dernières années grâce à la résolution de toute une série de structures de P450 de mammifères, par diffraction aux rayons X. En 2000, l'équipe d'Eric Johnson, du Scripps Institute (La Jolla, États-Unis) publie la première structure d'un P450 de mammifère, le P450 2C5 de foie de lapin [3]. Ces résultats ont ouvert la voie à l'obtention de nombreuses structures de P450 de mammifères, et en particulier à celles des P450 de foie humain majoritairement impliqués dans le métabolisme des xénobiotiques. Cette structure du P450 2C5 met en évidence l'existence de deux domaines distincts de la protéine (Figure 12) :

- une partie relativement rigide (Figure 12, en bas à droite), constituée essentiellement d'hélices, fortement conservée dans l'ensemble de la famille des P450, et porteuse de l'activité catalytique ;
- une partie variable (Figure 12, en haut à gauche), très flexible et mobile sur le plan conformationnel et qui contient le site d'accès et de fixation des substrats ; sa séquence d'acides aminés varie beaucoup d'un P450 à l'autre.

En 2000, la structure décrite par E. Johnson était celle du P450 2C5 en l'absence de substrat. Une collaboration de son laboratoire avec le nôtre a permis de trouver plusieurs substrats à forte affinité pour le P450 2C5 et d'obtenir les premières structures de complexes {P450 de mammifère-substrat} [4]. La Figure 13

Figure 12

Structure aux rayons X du cytochrome P450 2C5 (d'après [3]).

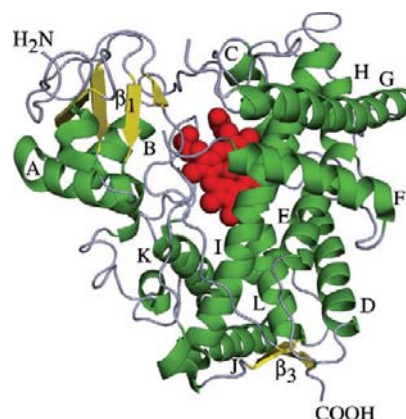


Figure 13

Comparaison des structures tridimensionnelles des sites actifs du P450 2C5 sans substrat et du P450 2C5 ayant fixé un substrat (d'après [4]).

A. En l'absence de substrat, le site de fixation du substrat de l'enzyme est constitué par trois éléments de la protéine : une partie fixe (hélice I en vert), située juste au-dessus de l'hème (rouge), une grande boucle très flexible (boucle B-C, en bleu), une boucle F-G reliant les hélices F et G, de conformation tellement variable que sa structure n'a pas pu être résolue lors de cette étude aux rayons X.

B. Dans la structure du complexe P450 2C5-substrat, on voit que le substrat se positionne dans un canal d'accès à une distance convenable de l'hème pour recevoir un atome d'oxygène à partir du fer. Une fois le substrat fixé, le site actif se compacte autour de la molécule, ce qui engendre une structuration des boucles B-C et F-G, qui deviennent donc beaucoup moins mobiles et adoptent une structure quasi hélicoïdale (petite hélice B' dans la boucle B-C). Ceci est particulièrement spectaculaire dans le cas de la boucle F-G qui, du fait de cette mobilité réduite, voit sa structure résolue par diffraction aux rayons X. Cette modification structurale du site actif se traduit aussi par une fermeture des canaux d'accès du substrat et du solvant (eau, proton), ce qui prépare le complexe enzyme-substrat aux étapes de la réaction enzymatique.

compare les structures du site actif du P450 2C5 sans substrat et du P450 2C5 ayant fixé un substrat (en l'occurrence un dérivé d'un médicament, le sulfaphénazole). On voit à quel point la fixation de ce substrat induit un changement radical de la conformation du site actif de la protéine. Ce changement **conformationnel** se traduit par une compaction du site actif protéique autour du substrat et conduit à la fermeture du canal d'accès de celui-ci, ainsi que du canal d'accès de l'eau ; cela prépare l'ensemble protéine-substrat pour une catalyse d'oxydation plus efficace.

C'est cette adaptation du site actif de l'enzyme à la forme et à la structure du substrat (« la serrure s'adapte à la clé ») qui va permettre non seulement une catalyse efficace de l'oxydation du substrat en question, mais aussi une bonne **régiosélectivité** de cette oxydation.

L'ensemble des structures de P450 humains impliqués dans le métabolisme des xénobiotiques publiées entre 2003 et 2009 a confirmé la grande adaptabilité de leur site actif protéique à des substrats de structures très variées. Elles

ont aussi montré une grande diversité de taille et de forme des sites de fixation des substrats de ces enzymes. Ainsi, lorsqu'un médicament (ou tout autre xénobiotique) pénètre dans un organe ou un tissu, il va avoir le choix entre plusieurs P450 présents dans cet organe (une vingtaine pour le foie) pour être reconnu et métabolisé. Ces P450 lui offrent un grand choix de taille et de forme de sites actifs, ainsi que de séquences d'acides aminés pour établir des liaisons avec lui. Il va choisir celui (ou ceux) le(s) mieux adapté(s) à sa structure. Sa fixation dans son (leur) site actif va modifier la conformation de ce(s) site(s) pour favoriser au maximum son oxydation.

Cette diversité de forme et de taille des sites actifs des P450 responsables du métabolisme des xénobiotiques, ainsi que l'adaptabilité de ces sites, sont à la base de l'adaptation des êtres vivants aérobies à leur environnement chimique [5].

### 3 La chimie d'après le vivant

Les grandes avancées effectuées dans le domaine de la chimie *du* et *pour* le vivant laissent entrevoir de

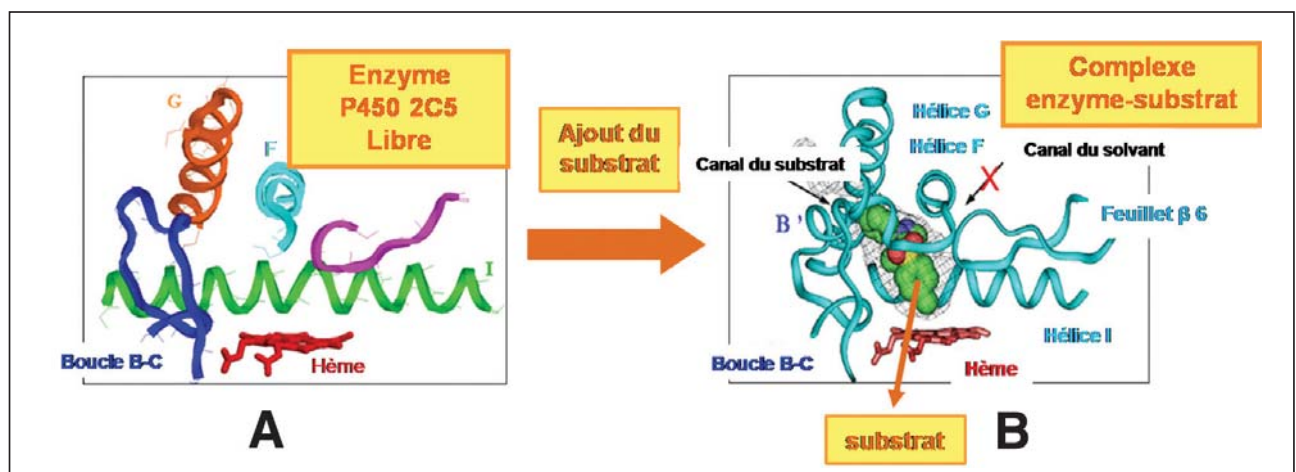






Figure 15

Une chimie à l'origine de la pensée ?

## De la chimie *du vivant* à la chimie *par-delà le vivant*

La place du chimiste dans le développement passé, présent et futur des sciences du vivant, en particulier dans le domaine de la santé, est donc très importante, de nombreuses pistes restant à explorer dans la chimie *du, pour* et *d'après* le vivant.

Les découvertes réalisées permettront peut-être de développer dans les années à venir, une « chimie *par-delà le vivant* », selon les termes de Jean-Marie Lehn, prix Nobel de chimie. Cette chimie permettrait d'une part de transcender les limites du monde moléculaire élaboré par le vivant, c'est-à-dire apprendre à utiliser la centaine d'éléments chimiques existants au lieu de se contenter de la vingtaine utilisée par les organismes vivants, et d'autre part, de comprendre de quelle manière la matière s'auto-organise pour qu'apparaisse la vie (origines de la vie) et peut-être même... la pensée.

### Bibliographie

- [1] Beaune P., Dansette P.M., Mansuy D., Kiffel L., Finck M., Amar C., Leroux J.P., Homberg J.C. (1987). *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **84**: 551.
- [2] Lopez-Garcia M.P., Dansette P.M., Mansuy D. (1994). *Biochemistry*, **33**: 166.
- [3] Williams P.A., Cosme J., Sridhar V., Johnson E.F., Mc Ree D.E. (2000). *Mol. Cell*, **5**: 121.
- [4] Wester M.R., Johnson E.F., Marques-Soarez C., Dansette P.M., Mansuy D., Stout C.D. (2003). *Biochemistry*, **42**: 6370.
- [5] Mansuy D. (2008). *Catalysis Today*, **138**: 2.
- [6] Groves J.T., Nemo T.E., Myers R.S. (1979). *J. Am. Chem. Soc.*, **101**: 1032.
- [7] Meunier B. (1992). *Chem. Rev.*, **92**: 1411.
- [8] Mansuy D. (1993). *Coord. Chem. Rev.*, **125**: 129.
- [9] Mansuy D. (2007). *C.R. Chimie*, 392.