

Les médicaments peptidiques : mythe ou réalité ?

Marc Decaffmeyer, Annick Thomas, Robert Brasseur

Gembloux Agricultural University – FUSAGx. Centre de Biophysique moléculaire numérique. Passage des Déportés, 2. B-5030 Gembloux (Belgique). E-mail : decaffmeyer.m@fsagx.ac.be

Reçu le 15 mai 2007, accepté le 14 septembre 2007.

Les peptides trouvent de nombreux débouchés d'application dans le domaine biotechnologique, parmi lesquels des applications pharmaceutiques. La progression du nombre de nouvelles petites molécules déposées à la FDA comme substances médicamenteuses s'essouffle. Dans ce contexte, de grosses sociétés pharmaceutiques investissent dans la recherche peptidique pour ouvrir de nouvelles perspectives thérapeutiques. Même s'ils sont utilisés comme agents thérapeutiques depuis près d'un siècle sous leur forme naturelle, l'utilisation des peptides reste parcimonieuse bien qu'elle ait connu un développement significatif depuis quelques dizaines d'années, notamment grâce à la mise au point de méthodes de production, chimiques en phase solide ou biologiques telles qu'en *phage display*. Les peptides présentent nombre d'avantages par rapport aux médicaments traditionnels que sont les petites molécules, toutefois leur utilisation pharmaceutique se heurte à des limites, qu'elles soient liées à la faible capacité des peptides à traverser les barrières membranaires, à leur faible durée de demi-vie ou à la difficulté de comprendre leurs mécanismes d'action. Des solutions peuvent être apportées pour surmonter ces problèmes. La modélisation moléculaire a un rôle important à jouer dans ce contexte, que ce soit pour la prédiction *in silico* de la structure, de la stabilité et de la variété structurale des peptides ou pour l'étude et l'amélioration de leur capacité à lier une cible.

Mots-clés. Peptide, modélisation, structure, *in silico*, médicaments.

Peptides as drugs: myth or reality? Peptides find many applications in the fields of biotechnology, among which pharmaceutical applications. Progression of the number of traditional drugs deposited at the FDA is slowing down. It's the reason why many big pharmaceutical companies invest more and more in peptides to open new therapeutic perspectives. Even if some peptides have been used as therapeutic agents in their natural bioactive form for nearly one century, a significant development of the number of peptides has occurred since a few tenths of years, in particular due to the development of methods of production, chemical as solid phase as well as biological as *phage display*. Peptides have a number of advantages when compared to traditional drugs like small molecules, however their development encounters some limitations, which are relative to a low ability to cross membrane barriers and a low half-life time and a difficulty to understand their mechanism of action. A series of solutions can be brought to overcome these problems. Molecular modelling has an important role to play in this context, notably for the *in silico* determination of the structure, the stability and the polymorphism of peptides or for the study and the improvement of the capacity to bind a target.

Keywords. Peptide, design, structure, *in silico*, drugs.

1. INTRODUCTION

Les peptides sont utilisés depuis de nombreuses années dans le domaine de la biotechnologie, par exemple pour la production d'anticorps à l'usage des laboratoires de biologie. Ces molécules seront plus que probablement intensivement utilisées dans un futur proche pour d'autres applications et plus particulièrement dans le domaine de l'industrie pharmaceutique. On pense notamment à la conception de peptides régulateurs d'activité protéique. L'utilisation de peptides antimicrobiens (AMPs) est promise à un grand avenir, notamment afin de contrer la perte d'efficacité des

antibiotiques classiques (Gordon et al., 2005 ; Marr et al., 2006). Les peptides vecteurs (CPPs) constituent une autre possibilité d'utilisation thérapeutique. Ils sont capables de faire pénétrer des composés thérapeutiques aussi variés que des drogues, des SiRNA ou d'autres peptides dans des cellules cibles (Deshayes et al., 2005 ; Mae et al., 2006). Parmi les méthodes d'avenir, pour aider à la conception de peptides performants, on compte la modélisation moléculaire.

Plusieurs programmes de modélisation *in silico*, principalement des méthodes de *docking*, existent pour la conception de petites molécules, telles que Dock, AutoDock, FlexX et autres méthodes similaires

(Ghosh et al., 2006). A contrario, et en dépit de l'avenir prometteur des peptides, leur modélisation *in silico* est longtemps restée une voie peu active. Nous verrons toutefois que quelques méthodes ont été développées récemment.

Enfin, si la fonctionnalité des peptides dépend de leur séquence et donc des fonctions chimiques qu'ils portent, elle est également grandement modulée par leur structure. Les méthodes de détermination expérimentales sont souvent lentes et coûteuses, les problèmes techniques qui y sont liés sont nombreux et les résultats qu'elles donnent sont souvent divergents. Jusque récemment, il n'existait pas de méthode satisfaisante de détermination *in silico* de la structure des peptides.

2. PEPTIDES ET DÉRIVÉS PEPTIDIQUES : MÉDICAMENTS DE DEMAIN ?

Le médicament idéal est un mythe : il s'agirait d'une molécule de faible poids moléculaire, soluble, capable de mimer chimiquement et structurellement de manière quasi parfaite un ligand naturel sans en avoir les effets, d'être éliminée rapidement de l'organisme après son action mais sans induire d'effet secondaire. En outre, sa production devrait être facile et peu coûteuse (Edwards et al., 1999). Finalement, son administration au patient devrait être aussi aisée que possible.

La chimie du médicament est basée depuis toujours sur l'exploitation et la transformation de substances médicinales naturelles, notamment de produits issus des plantes, copiant en cela l'utilisation qu'en faisaient nos ancêtres. Cette source s'épuise. Nous en voulons pour preuve l'épuisement des pipelines des laboratoires pharmaceutiques décrit par les analystes financiers américains comme le *pipeline problem*. Ceci se traduit par le fait que de nombreux brevets d'exploitation arrivent en fin de vie alors qu'un nombre de plus en plus limité de molécules nouvelles sont présentées à la Food and Drug Administration (Surowiecki, 2004). Un très récent rapport du Congrès Américain indique que le rapport entre le nombre des nouvelles molécules actives déposées et les budgets R&D des firmes décroît de manière significative depuis plus de 20 ans (Howlett, 2006). Ceci indique que l'innovation en la matière est de plus en plus ardue et coûteuse. En effet, le développement d'une nouvelle molécule thérapeutique coûte entre 200 et 800 millions d'euros (Anon., 2003 ; Goozner, 2004) et prend environ 10 ans.

Un moyen de plus en plus envisagé par les laboratoires pharmaceutiques pour proposer des alternatives thérapeutiques originales est de concevoir des médicaments de type peptidique ou peptidomimétique.

On peut classer les peptides thérapeutiques en trois catégories (Sato et al., 2006) : premièrement, les

peptides naturels, aussi appelés peptides bioactifs qui sont soit produits par l'organisme, soit dérivés de protéines (Watt, 2006) ; deuxièmement, les peptides issus de librairies génétiques par *phage display* (Sergeeva et al., 2006) ; enfin, les peptides issus de librairies chimiques produites par synthèse en phase solide (Shin et al., 2005). On peut également citer les peptides vecteurs qui ne sont pas à proprement parler des molécules médicamenteuses mais qui servent à transporter des molécules thérapeutiques (Mae et al., 2006). Parmi ces peptides transporteurs, on retrouve par exemple la Pénétratine dérivée de l'homéodomaine d'Antennapédia, conçue pour la délivrance de protéines bioactives (Derossi et al., 1994) ou le Transportan, peptide chimérique issu de la Galanine et du Mastoparan, conçu pour transporter des ARN interférants (Pooga et al., 1998), etc. Finalement, une dernière voie de recherche mettant en œuvre des peptides est celle qui les utilise non pas comme produits finis mais comme outils pour concevoir des peptidomimétiques, petites molécules qui miment les propriétés bioactives du peptide (Patch et al., 2002).

On peut dater la découverte du premier peptide bioactif à plus de 80 ans. C'est en effet en 1923 que Banting et Macleod obtinrent le Prix Nobel de Médecine pour leur découverte de l'insuline dont on connaît le rôle dans le traitement du diabète. À cette époque, et jusque dans les années soixante, la synthèse de peptides par voie chimique classique prenait jusqu'à plusieurs mois, rendant impossible toute exploitation industrielle. Ce n'est qu'à partir de 1963, année du développement par Merrifield de la méthode de synthèse peptidique par voie solide (Merrifield, 1963) pour lequel il reçut le Prix Nobel de Chimie en 1984, et aussi grâce à la mise au point de techniques de séparation/purification performantes telles que l'HPLC (Chromatographie Liquide Haute Performance) (Chen et al., 1995) ou la SPE (extraction de phase solide) (Kamysz et al., 2004), que l'utilisation industrielle de peptides non issus du milieu naturel est devenue envisageable. D'autre part, depuis une vingtaine d'années, la mise au point de la technique du *phage display* (Smith, 1985) puis les progrès dans la maîtrise de cette méthode ont permis la production de librairies de peptides performantes menant à la sélection de peptides bioactifs (Cortese et al., 1996).

Depuis ces percées technologiques, les peptides, au même titre que les protéines, sont considérés comme des molécules thérapeutiques d'avenir. En 2004, plus de 20 % des médicaments appartenant au top 200 des ventes étaient à base de protéines ou de peptides, avec des chiffres d'affaires atteignant les 40 milliards \$ (McGee, 2005), soit environ 10 % du chiffre global de l'industrie pharmaceutique. En 2004, entre 600 et 700 peptides étaient en stade de développement et plus de 150 étaient à différents stades de phase

clinique (McGee, 2005). On les trouve dans différents domaines tels que le traitement de certaines formes de cancers, du SIDA, de l'ostéoporose, de maladies neuro-dégénératives (Lien et al., 2003).

Les peptides offrent plusieurs avantages par rapport aux petites molécules qui constituent les médicaments traditionnels. Le premier avantage est que, représentant souvent la plus petite partie fonctionnelle d'une protéine, ils offrent une efficacité, une sélectivité et une spécificité que les concepteurs de petites molécules ont du mal à atteindre (Hummel et al., 2006). À titre d'exemple, on peut citer les travaux récemment menés sur NAP, un peptide de 8 résidus, le plus petit fragment actif de ADNP (*Activity Dependent Neuroprotective Protein*) qui montre une activité neuroprotectrice (Gozes et al., 2006). Ce peptide est actuellement en phase d'essais cliniques.

Un deuxième avantage, et non des moindres, est que les produits de dégradation des peptides sont des acides aminés, ce qui élimine grandement les risques de toxicité (Loffet, 2002).

Troisièmement, les peptides s'accumulent peu dans les tissus en raison de leur temps de demi-vie court, ce qui, il est vrai, constitue aussi un désavantage quand il est question de durée d'action.

La conception de peptides à usage thérapeutique reste toutefois extrêmement compliquée et soulève un grand nombre de challenges. Premièrement, le coût de production est plus élevé que celui des petites molécules et les quantités nécessaires sont plus importantes (Marx, 2005), principalement lorsque la voie d'administration au patient n'est pas orale. Deuxièmement, les peptides n'obéissent pas aux fameuses règles des cinq (Lipinski et al., 2001), notamment concernant leur poids moléculaire. Selon ces règles, les peptides seraient incapables de passer du tractus digestif vers le système circulatoire. Donc, si l'on s'en tient à ce critère classiquement utilisé dans l'industrie pharmaceutique, les peptides sont considérés comme étant peu absorbables par voie orale. Pour cette raison, l'administration des peptides thérapeutiques est souvent intraveineuse, ce qui provoque inévitablement un manque de confort pour le patient. Toutefois, des stratégies alternatives de délivrance existent, faisant notamment appel à l'administration via les muqueuses (Prego et al., 2005), nasales (Maggio, 2005) ou pulmonaires (Skyler et al., 2001) par exemple. D'autres groupes ont mis au point des enrobages permettant une libération retardée du peptide et donc l'espacement des injections. C'est le cas de la société Roche qui a mis sur le marché le PegasysTM qui est une formulation pegylée d'Interféron qui permet de limiter sensiblement le nombre d'injections. D'autres encore, telle que la société Bioject, ont développé des propulseurs à gaz à haute pression permettant au peptide de traverser la peau sans requérir à une injection (Stout et al., 2007).

Enfin, la technologie eligen^R développée par la société Emisphere permet d'enrober le peptide pour lui permettre un transfert du tube digestif vers le sang, autorisant une prise orale (Malkov et al., 2005). Finalement, les stratégies faisant appel à des transporteurs (*carrier peptides*) sont également en plein développement.

Le troisième aspect qu'il faut aborder ici est lié à la biodégradabilité des peptides due aux peptidases du système gastro-intestinal, des reins, du foie et du sérum. Cette dégradation, qui a pour conséquence une durée de demi-vie faible, de l'ordre de quelques minutes voire au mieux de quelques heures, peut être contrée de différentes manières. Une des voies les plus utilisées est celle ayant recours à la modification des parties C et N terminales (par N-acétylation et N-amidation, par exemple) des peptides pour empêcher l'action des exopeptidases. Est aussi envisagée l'utilisation d'acides aminés D ou non-naturels, lesquels sont moins sujets à l'action de ces enzymes (Fauchère et al., 1992). Les cyclisations, que ce soit par des ponts disulfures, la formation d'anneaux lactames ou des liaisons Nter-Cter, sont également utilisées pour contrecarrer l'action des protéases (Werle et al., 2006). Enfin la Pegylation, c'est-à-dire la fixation d'unités de poly(éthylène glycol), est une stratégie de plus en plus utilisée (Caliceti et al., 2003 ; Harris et al., 2003 ; Veronese et al., 2005). Certains groupes ont par ailleurs montré qu'il est possible de conserver la fonction d'un peptide alors qu'il est partiellement composé d'acides aminés D (Benkirane et al., 1993) ou même qu'il est possible de modéliser un peptide de fonction donnée avec des acides aminés non-naturels (Lins et al., 2006).

Ces transformations, on le voit, mènent à la conception de molécules qui s'apparentent de moins en moins à des peptides et de plus en plus à des petites molécules qui portent les fonctions chimiques essentielles mises en lumière par l'utilisation des peptides. On parlera de peptidomimétiques ou de pseudo-peptides. Pour ces produits, le peptide n'est pas une finalité mais bien un modèle de conception. Classiquement, la conception d'un peptidomimétique se déroule en plusieurs étapes :

- identification de la protéine cible
- identification de l'effecteur (ligand, peptide bioactif ou protéine partenaire)
- recherche du segment bioactif le plus court
- utilisation d'analogues peptidiques structurellement contraints en méthylant le C α (Sagan et al., 2001) ou le C β (Birney et al., 1995), voire en le cyclisant
- établissement d'un pharmacophore et finalement
- criblage de banques de petites molécules respectant les propriétés chimico-spatiales du pharmacophore (Hummel et al., 2006).

3. LA MODÉLISATION AU SERVICE DE LA CONCEPTION DE PEPTIDES

La modélisation *in silico* de peptides à visée thérapeutique peut se diviser en deux voies : basée sur le ligand ou basée sur la structure de la cible. La modélisation basée sur la structure de la cible nécessite évidemment d'identifier cette cible puis d'en déterminer la structure, ensuite d'identifier le site d'interaction, l'idéal étant de réaliser une co-cristallisation de la cible avec son ligand naturel, finalement de cribler des banques de données à la recherche de molécules s'adaptant au mieux chimiquement et structurellement au site de liaison (Anderson, 2003). La modélisation basée sur le ligand est parfois une voie obligatoire, c'est notamment le cas lorsque la structure de la cible est inaccessible. Beaucoup de récepteurs importants sont des protéines membranaires qui sont notoirement difficiles à cristalliser. Dans ce cas, il est nécessaire de disposer de la structure d'un ligand ou d'une protéine interagissant avec la cible, on parlera de *lead*. Ensuite, il s'agira de transposer cette structure en un pharmacophore (empreinte chimico-spatiale du peptide actif) puis de réaliser un criblage virtuel de banques de peptides ou de petites molécules donnant un bon score QSAR (relation quantitative activité/structure) (Parvu, 2003) ou une bonne réponse fonctionnelle. Dans les deux cas, ces techniques sont principalement adaptées au criblage de molécules rigides.

4. ASPECT DESIGN DE LA SÉQUENCE

Nous avons vu que des méthodes expérimentales de design de peptides existent par criblages de banques fournies par des phages ou par synthèse en phase solide. Ces méthodes sont longues et onéreuses.

Par contre, un nombre réduit de méthodes de modélisation de peptides *in silico* existent actuellement. Parmi ces méthodes, on peut parler de l'algorithme MIMETIC qui a été utilisé notamment pour la conception d'un peptide complémentaire à la Thrombomodulin en vue de moduler la fonction de la Procarboxypeptidase R (Shimomura et al., 2003) ou d'un peptide complémentaire à des segments de la transcriptase inverse de HIV-1 (Campbell et al., 2002). Dans cette méthode, des peptides sont générés de manière itérative et un score tenant compte de propriétés physico-chimiques permet de les classer.

La deuxième famille de méthodes de design *in silico* de peptides fait appel à la dynamique moléculaire comme cela a été fait par exemple pour la conception d'un peptide antagoniste de l'interleukin-6 humaine (hIL-6) (Yang et al., 2005). Cette méthode requiert malheureusement de très longs temps de calcul et ne permet dès lors de tester qu'un nombre très restreint de peptides.

Par ailleurs, les méthodes de *docking*, généralement utilisées pour le design de petites molécules (Dock (Kuntz et al., 1982), AutoDock (Goodsell et al., 1990)), sont mal adaptées au design de peptides.

La méthode de modélisation *in silico* PepDesign, la plus récente en date, permet la conception rapide de peptides capables de se lier à une molécule cible. La conception d'un peptide anti-AB29-42, peptide impliqué dans la formation des plaques séniles caractéristiques de la maladie d'Alzheimer, a été réalisée en utilisant cette méthode (Decaffmeyer et al., 2006). Ces peptides, ainsi que tous leurs dérivés, ont été protégés par le dépôt d'un brevet (Heinen et al., 1996) pour toute application thérapeutique ou à visée diagnostique de la maladie d'Alzheimer. Cette méthode de design est applicable pour la modélisation d'un peptide ciblant un peptide, une protéine ou toute molécule dont on pourrait connaître la structure tridimensionnelle. Elle pourrait être utilisée par exemple pour concevoir un peptide qui perturberait l'interface entre deux protéines et donc empêcherait la formation d'un complexe protéine/protéine impliqué dans le développement d'une maladie. Utilisée sur des acides aminés naturels, elle est en outre également adaptée à la modélisation de peptides composés d'acides aminés transformés (D, non naturels, etc.). Ceci pourrait permettre dans le futur de tester l'influence des modifications requises, par exemple pour contrecarrer les problèmes de digestion enzymatique, sur l'efficacité de reconnaissance et de liaison à la cible.

5. ASPECT STRUCTURAL

Nous savons que la structure du peptide est cruciale, notamment parce qu'elle doit impérativement correspondre à une conformation active en présence de la cible. D'autre part, il paraît essentiel d'être capable de vérifier si les transformations (modification du squelette peptidique ou des chaînes latérales) laisseront au pseudo-peptide la possibilité d'adopter la conformation requise pour sa fonction.

À ce jour, plusieurs méthodes expérimentales de détermination de structure des peptides existent, au nombre desquelles on compte le dichroïsme circulaire (DC) (Holzwarth et al., 1965), la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR) (Goormaghtigh et al., 1990), la cristallographie aux rayons X ou encore la résonance magnétique nucléaire (RMN) (Bechinger et al., 1999). Ces techniques sont souvent lourdes à mettre en œuvre et sont également confrontées à différentes limitations par exemple de cristallisation, d'agrégation, etc. D'autre part, la réalité veut que les données relatives à la structure de peptides fournies à partir de ces différentes techniques divergent souvent.

Ce constat indique que l'idée reçue selon laquelle une séquence donne naissance à une structure unique dans un solvant donné, si elle est cohérente pour la plupart des protéines, ne trouve pas forcément à s'appliquer aux peptides. Ceci est notamment dû au fait qu'en comparaison des protéines, les peptides disposent d'un nombre plus restreint de possibilités de stabilisation intramoléculaire et également qu'une même séquence peptidique peut mener à plusieurs solutions structurales énergétiquement comparables, donc probables.

Si différentes méthodes expérimentales de détermination des structures peptidiques existent, à notre connaissance seules trois méthodes de détermination *in silico* sont accessibles à ce jour. La première méthode de détermination *in silico* de structure est appelée ROSETTA et a été développée à la fin des années 1990 par une équipe américaine (Simons et al., 1997). Elle est basée sur l'utilisation mixte de la modélisation par homologie à des structures connues de segments protéiques pour la détermination de la conformation locale et de prédiction *de novo* en utilisant un champ de force basé sur des potentiels moyens (MFP). Cette méthode donne dix structures dont la plus probable porte le n° 10. Le serveur Robetta qui utilise la procédure Rosetta est accessible sur le net (Chivian et al., 2003). ROSETTA a été beaucoup utilisée pour la prédiction de la structure tridimensionnelle de protéines (Bonneau et al., 2002 ; Bradley et al., 2003), et ce avec de beaux succès notamment à l'occasion de diverses éditions du CASP (Critical Assessment of techniques for protein Structure Prediction). Elle a aussi été utilisée avec succès pour construire *de novo* des protéines capables d'adopter un repliement préalablement choisi, le cas le plus connu étant celui de Top7, une protéine de 93 résidus comportant deux hélices α et cinq brins β qui a été modélisée par l'équipe de David Baker (Kuhlman et al., 2003).

Malheureusement, si cette méthode a fait ses preuves pour les protéines, elle n'est pas adaptée aux peptides, probablement en raison du champ de force utilisé, basé sur les MFP, c'est-à-dire sur une analyse statistique des structures de protéines. Ce champ de force a en effet tendance à replier les peptides comme des protéines et conduit à des structures globulaires (collapse hydrophobe) qui ne concordent pas avec les données obtenues expérimentalement (Thomas et al., 2006). Quoi qu'il en soit, le serveur Robetta ne permet pas la prédiction sur des séquences d'une longueur inférieure à 20 résidus, ce qui indique clairement que la méthode est plus destinée à l'étude de protéines que de peptides.

La deuxième méthode connue de détermination *ab initio* de la structure des peptides avait été développée précédemment par un groupe indien. Cette approche, appelée PEPSTR, est basée dans un premier temps sur la prédiction de la structure secondaire des

résidus par la méthode BETATURNS (Kaur et al., 2004). Ensuite, des angles $\Phi\Psi$ standard sont assignés aux résidus avant une minimisation énergétique utilisant le champ de force Amber6. La méthode permet de traiter des peptides de 7 à 25 résidus. Elle donne une structure unique. À notre connaissance, cette méthode n'a pas été publiée et n'a été citée qu'une fois dans la littérature, même si le serveur est disponible en ligne (www.imtech.res.in/raghava/pepstr/).

La dernière méthode en date a été développée par la société Biosiris S.A. en collaboration avec l'équipe de R. Brasseur à Gembloux (Thomas et al., 2006). Cette méthode appelée PepLook est spécialement dévolue à la prédiction *in silico* de peptides et n'est pas à ce jour adaptée à la prédiction de structures protéiques. Elle est basée sur l'exploration de l'espace conformationnel du peptide en utilisant un set de 64 couples d'angles $\Phi\Psi$ qui permet la reconstruction de n'importe quelle protéine de structure connue (Etchebest et al., 2005). Une procédure itérative de type stochastique telle que celle utilisée dans de nombreux domaines scientifiques (Glick et al., 2002) est employée et est en outre modulée par une approche de type Boltzmann qui permet, étape après étape, de moduler la probabilité d'utilisation des différents couples d'angles Φ/Ψ pour chaque position en fonction de leur contribution à l'occurrence de structure de bonne ou de mauvaise énergie. Cette méthode donne la structure la plus stable d'un point de vue énergétique, appelée le Prime, mais aussi 98 autres structures de basse énergie.

Cette méthode est originale en ce que, outre le fait de donner la structure la plus stable, elle donne accès à des paramètres sur la stabilité du peptide, sur sa propension à lier des partenaires externes, ainsi que sur son polymorphisme (ou désordre ou diversité structurale). En effet, un score de stabilité est établi en comparant le MFP (Mean Force Potential) de chaque résidu du Prime à des valeurs de référence calculées à partir d'une banque non-redondante de près de 500 structures de protéines repliées (Lovell et al., 2003), ce qui permet également d'identifier les acides aminés les plus enclins à créer des interactions extramoléculaires et donc à chercher des partenaires afin d'augmenter leur stabilité. Enfin, un score de polymorphisme (ou de désordre) est également établi par le calcul le long de la séquence d'un RMSd[9] (Root Mean Square deviation sur une fenêtre de neuf résidus) de chacune des 98 structures de meilleure énergie par rapport au Prime.

Cette dernière donnée est loin d'être anecdotique si l'on veut bien concevoir qu'un peptide donné doit forcément être capable d'adapter sa structure pour remplir plusieurs tâches différentes. Si on prend le cas d'un peptide capable de passer une membrane plasmique pour remplir sa fonction, il doit simultanément être soluble dans un milieu hydrophile (le sang et le cyto-

plasme), dans un milieu hydrophobe (la membrane) et enfin probablement s'organiser dans une troisième structure en présence de sa cible. Il ne peut présenter une solubilité adéquate dans différents milieux que si son hydrophobicité apparente change, et donc si sa structure change. Le polymorphisme est donc plus que probablement un facteur déterminant pour la fonctionnalité biologique des peptides, et à ce titre il semble important d'avoir accès à cette information.

Cette hypothèse a été proposée pour les peptides vecteurs. Les peptides vecteurs fonctionnels connus à ce jour disposent de caractéristiques communes telles qu'une taille maximale de 30 résidus, une certaine amphipaticité et une charge nette positive. Toutefois, leur mode de fonctionnement et plus particulièrement la manière dont ils sont capables de traverser des membranes biologiques, même si elle a été très largement étudiée par des méthodes biophysiques (Fischer et al., 2005), n'est pas encore élucidée. S'il est établi que l'internalisation des peptides est conditionnée par leur amphiphilicité et les charges qu'ils portent, elle est également largement dépendante de leur structure (Deshayes et al., 2005). PepLook a été récemment utilisé pour étudier les propriétés de deux de ces peptides et de leurs mutants. Ces travaux montrent clairement que le polymorphisme structural est une caractéristique essentielle pour la pénétration cellulaire puisqu'il permet au peptide d'adapter sa conformation à son environnement (Deshayes et al., 2008). Ce constat n'est pas anodin et pourrait être à la base de nouvelles méthodes de design de peptides vecteurs.

Enfin, la même méthode a été également utilisée dans un autre domaine pour prédire l'organisation du segment membranaire de la DGKe humaine (D19-Q23), protéine membranaire monotopique de structure non connue et impliquée dans la transformation du diacylglycerol en acide phosphatidique.

Finalement, dans un avenir proche, la méthode sera utilisée pour vérifier l'effet des modifications chimiques sur la structure des peptides.

6. CONCLUSION

De nombreux groupes pharmaceutiques comptent sur le développement de peptides, voire de leur utilisation dans la conception de petites molécules, comme nouvelles voies thérapeutiques ou de recherches thérapeutiques. Ceci a été rendu possible grâce aux avancées technologiques des dernières décennies. Comparés aux petites molécules, les peptides présentent des qualités indéniables en termes d'activité notamment. Toutefois, l'utilisation des peptides en médecine se heurte à différents problèmes liés à leur nature chimique ou biologique, principalement dus à leur sensibilité aux dégradations biologiques et à leur faible capacité à

traverser les barrières membranaires. De nombreux groupes ont mis au point des stratégies permettant soit de nouvelles voies d'administration non orales, soit des mécanismes de protection pour rendre les peptides moins bio-vulnérables. La conception de peptides vecteurs pour le transport de substances thérapeutiques quelles qu'elles soient est également dans l'air du temps. Enfin, depuis peu, de nouveaux outils de modélisation *in silico* voient le jour. Ils viendront en appui des méthodes expérimentales, notamment pour le design de peptides mais aussi pour la gestion et la prédiction de leurs structures, leurs sélectivités, leurs affinités.

Remerciements

Marc Decaffmeyer a été supporté financièrement par le Ministère de la Région Wallonne (DGTRE : contrat PEPSEIN). Annick Thomas est Directeur de recherche à l'INSERM (France) et Robert Brasseur est Directeur de recherche au FNRS.

Bibliographie

- Anon., 2003. Coût de recherche et développement du médicament : la grande illusion. *Prescrire*, **23**(244), 782-787.
- Anderson A.C., 2003. The process of structure-based drug design. *Chem. Biol.*, **10**, 787-797.
- Bechinger B. et al., 1999. Peptide structural analysis by solid-state NMR spectroscopy. *Biopolymers*, **51**(3), 174-190. Review.
- Benkirane N. et al., 1993. Antigenicity and immunogenicity of modified synthetic peptides containing D-amino acid residues. Antibodies to a D-enantiomer do recognize the parent L-hexapeptide and reciprocally. *J. Biol. Chem.*, **268**(35), 26279-26285.
- Birney D.M. et al., 1995. Use of beta-methylphenylalanine (beta MeF) residues to probe the nature of the interaction of substance P with its receptor: effects of beta MeF-containing substance P analogs on rabbit iris smooth muscle contraction. *J. Medic. Chem.*, **38**(13), 2478-2482.
- Bonneau R. et al., 2002. *De Novo* prediction of three-dimensional structures for major protein families. *J. Mol. Biol.*, **322**(1), 65.
- Bradley P. et al., 2003. Rosetta predictions in CASP5: successes, failures, and prospects for complete automation. *Proteins*, **53**, 457-468.
- Caliceti P. & Veronese F.M., 2003. Pharmacokinetic and biodistribution properties of poly(ethylene glycol)-protein conjugates. *Adv. Drug Delivery Rev.*, **55**(10), 1261-1277.
- Campbell W. et al., 2002. A novel genetic algorithm for designing mimetic peptides that interfere with the function of a target molecule. *Microbiol. Immunol.*, **46**(3), 211-215.

- Chen H. & Horvath C.S., 1995. High-speed high-performance liquid chromatography of peptides and proteins. *J. Chrom. A*, **705**, 3-20.
- Chivian D. et al., 2003. Automated prediction of CASP-5 structures using the Robetta server. *Proteins*, **53** (Suppl. 6), 524-533, <http://robetta.bakerlab.org/>, (15/12/2005)
- Cortese R. et al., 1996. Selection of biologically active peptides by phage display of random peptide libraries. *Curr. Opin. Biotechnol.*, **7**(6), 616-621.
- Decaffmeyer M. et al., 2006. Rational design of complementary peptides to the betaAmyloid 29-42 fusion peptide: an application of PepDesign. *Biochim. Biophys. Acta*, **1758**(3), 320-327.
- Derossi D., Joliot A.H., Chassaing G. & Prochiantz A., 1994. The third helix of the Antennapedia homeodomain translocates through biological membranes. *J. Biol. Chem.*, **269**(14), 10444-10450.
- Deshayes S., Morris M.C., Divita G. & Heitz F., 2005. Cell-penetrating peptides: tools for intracellular delivery of therapeutics. *Cell. Mol. Life Sci.*, **62**(16), 1839-1849. Review.
- Deshayes S., Decaffmeyer M., Brasseur R. & Thomas A., 2008. Structural Polymorphism of two CPP: an important parameter of activity. *Biochim. Biophys. Acta Biomembranes*, accepted for publication
- Edwards C.M.B., Cohen M.A. & Bloom S.R., 1999. Editorial: Peptides as drugs. *Q. J. Med.*, **92**, 1-4.
- Etchebest C., Benros C., Hazout S. & de Brevern A.G., 2005. A structural alphabet for local protein structures: improved prediction methods. *Proteins*, **59**(4), 810-827.
- Fauchere J.L. & Thurieau C., 1992. Evaluation of the stability of peptides and pseudopeptides as a tool in peptide drug design. *Adv. Drug Res.*, **23**, 127-159.
- Fischer R., Fotin-Mleczek M., Hufnagel H. & Brock R., 2005. Break on through to the other side-biophysics and cell biology shed light on cell-penetrating peptides. *Chem. Biochem.*, **6**(12), 2126-2142. Review.
- Ghosh S., Nie A., An J. & Huang Z., 2006. Structure-based virtual screening of chemical libraries for drug discovery. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **10**(3), 194-202. Review.
- Glick M., Rayan A. & Goldblum A., 2002. A stochastic algorithm for global optimization and for best populations: A test case of side chains in proteins. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, **99**, 703-708.
- Goodsell D.S. & Olson A.J., 1990. Automated docking of substrates to proteins by simulated annealing. *Proteins*, **8**(3), 195-202.
- Goormaghtigh E., Cabiaux V. & Ruyschaert J.M., 1990. Secondary structure and dosage of soluble and membrane proteins by attenuated total reflection Fourier-transform infrared spectroscopy on hydrated films. *Eur. J. Biochem.*, **193**(2), 409-420.
- Goozner M., 2004. *The \$800 million pill. The truth behind the cost of new drugs*. Berkeley, USA: University of California Press.
- Gordon Y.J., Romanowski E.G. & McDermott A.M., 2005. A review of antimicrobial peptides and their therapeutic potential as anti-infective drugs. *Curr. Eye Res.*, **30**(7), 505-515. Review.
- Gozes I. & Spivak-Pohis I., 2006. Neurotrophic effects of the peptide NAP: a novel neuroprotective drug candidate. *Curr. Alzheimer Res.*, **3**(3), 197-199. Review.
- Harris J.M. & Chess R.B., 2003. Effect of pegylation on pharmaceuticals. *Nat. Rev. Drug Discovery*, **2**(3), 214-221.
- Heinen E., Decaffmeyer M. & Brasseur R., 1996. *Complementary peptides for β -Amyloid 29-42 peptide*. Patent PCT/EP2005/055050.
- Holzwarth G. & Doty P., 1965. The ultraviolet circular dichroism of polypeptides. *J. Am. Chem. Soc.*, **87**, 218-228.
- Howlett C., 2006. *A CBO (Congressional Budget Office) Study: Research and development in the pharmaceutical industry*. Washington: Congress of the United States.
- Hummel G., Reineke U. & Reimer U., 2006. Translating peptides into small molecules. *Mol. Biosyst.*, **2**, 499-508.
- Kamysz W. et al., 2004. Fast and efficient purification of synthetic peptides by solid-phase extraction. *Acta Chrom.*, **14**, 180-186.
- Kaur H. & Raghava G.P., 2004. Neural network method for prediction of beta-turn types in proteins using evolutionary information. *Bioinformatics*, **20**(12), 2751-2758.
- Kuhlman B. et al., 2003. Design of a novel globular protein fold with atomic-level accuracy. *Science*, **302**(5649), 1364-1368.
- Kuntz I.D. et al., 1982. A geometric approach to macromolecule-ligand interactions. *J. Mol. Biol.*, **161**(2), 269-288.
- Lien S. & Lowman H.B., 2003. Therapeutic peptides. *Trends Biotechnol.*, **21**(12), 556-562.
- Lins L. et al., 2006. *De novo* design of peptides with specific lipid-binding properties. *Biophys. J.*, **90**(2), 470-479.
- Lipinski C.A., Lombardo F., Dominy B.W. & Feeney P.J., 2001. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development setting. *Adv. Drug Delivery Rev.*, **46**, 3.
- Loffet A., 2002. Peptides as drugs: is there a market? *J. Peptide Sci.*, **8**(1), 1-7.
- Lovell S.C. et al., 2003. Structure validation by Calpha geometry: phi, psi and Cbeta deviation. *Proteins*, **50**(3), 437-450.
- Mae M. & Langel U., 2006. Cell-penetrating peptides as vectors for peptide, protein and oligonucleotide delivery. *Curr. Opin. Pharmacol.*, **6**(5), 509-514. Review.
- Maggio E.T., 2005. Recent developments in intranasal drug delivery technology are creating new vistas for peptide and protein therapeutics. *Drug Delivery Companies Report*, **13**, 29-33.
- Malkov D. et al., 2005. Oral delivery of insulin with the eligen technology: mechanistic studies. *Curr. Drug Delivery*, **2**, 191-197.

- Marr A.K., Gooderham W.J. & Hancock R.E., 2006. Antibacterial peptides for therapeutic use: obstacles and realistic outlook. *Curr. Opin. Pharmacol.*, **6**(5), 468-472.
- Marx V., 2005. Watching peptide drugs grow up. *Chem. Eng. News*, **83**(11), 17-24.
- McGee P., 2005. First successes turn tide for peptide therapeutics. *Drug Discovery Dev.*, **4**.
- Merrifield B., 1963. Solid phase peptide synthesis. I. The synthesis of a tetrapeptide. *J. Am. Chem. Soc.*, **85**, 2149-2154.
- Parvu L., 2003. QSAR - a piece of drug design. *J. Cell. Mol. Med.*, **7**(3), 333-335.
- Patch J.A. & Barron A.E., 2002. Mimicry of bioactive peptides via non-natural, sequence-specific peptidomimetic oligomers. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **6**(6), 872-877. Review.
- Pooga M., Hallbrink M., Zorko M. & Langel U., 1998. Cell penetration by transportan. *FASEB J.*, **12**(1), 67-77.
- Prego C., Garcia M., Torres D. & Alonso M.J., 2005. Transmucosal macromolecular drug delivery. *J. Control Release*, **101**, 151-162.
- Sagan S. et al., 2001. Calpha methylation in molecular recognition. Application to substance P and the two neurokinin-1 receptor binding sites. *Eur. J. Biochem.*, **268**(10), 2997-3005.
- Sato A.K., Viswanathan M., Kent R.B. & Wood C.R., 2006. Therapeutic peptides: technological advances driving peptides into development. *Curr. Opin. Biotechnol.*, **17**(6), 638-642.
- Sergeeva A. et al., 2006. Display technologies: Application for the discovery of drug and gene delivery agents. *Adv. Drug Delivery Rev.*, **15**, 1622-1654.
- Shimomura Y. et al., 2003. Modulation of procarboxypeptidase R (ProCPR) activation by complementary peptides to thrombomodulin. *Microbiol. Immunol.*, **47**(3), 241-245.
- Shin D.S., Kim D.H., Chung W.J. & Lee Y.S., 2005. Combinatorial solid phase peptide synthesis and bioassays. *J. Biochem. Mol. Biol.*, **38**(5), 517-525.
- Simons K.T., Kooperberg C., Huang E. & Baker D., 1997. Assembly of protein tertiary structures from fragments with similar local sequences using simulated annealing and Bayesian scoring function. *J. Mol. Biol.*, **268**(1), 209-225.
- Skyler J.S. et al., 2001. Efficacy of inhaled human insulin in type 1 diabetes mellitus: a randomised proof-of-concept study. *The Lancet*, **357**, 331-335.
- Smith G.P., 1985. Filamentous fusion phage: novel expression vectors that display cloned antigens on the virion surface. *Science*, **228**(4705), 1315-1317.
- Stout R.R. et al., 2007. Needle-free injections using a spring-powered device for subcutaneous, intramuscular and intradermal injections. *Drug. Delivery Techn.*, **7**(2).
- Surowiecki J., 2004. The Pipeline Problem. *The New Yorker*, 16 Feb.
- Thomas A. et al., 2006. Prediction of peptide structure: how far are we? *Proteins*, **65**(4), 889-897.
- Veronese F.M. & Pasut G., 2005. PEGylation, successful approach to drug discovery. *Drug Discovery Today*, **10**(21), 1451-1458.
- Watt P.M., 2006. Screening for peptide drugs from the natural repertoire of biodiverse protein folds. *Nature Biotech.*, **24**, 177-183.
- Werle M. & Bernkop-Schnurch A., 2006. Strategies to improve plasma half-life time of peptide and protein drugs. *Amino Acids*, **30**(4), 351-367.
- Yang Z. et al., 2005. Structure-based design and characterization of a novel IL-6 antagonist peptide. *Mol. Immunol.*, **42**(9), 1015-2121.

(67 réf.)