



HAL
open science

Chémobiologie et maladies infectieuses : de Pasteur à la COVID-19.

Arnaud Gautier, Maria Duca, Estelle Léonard, Dominique Guianvarc'h, Boris Vauzeilles, Paola B Arimondo

► **To cite this version:**

Arnaud Gautier, Maria Duca, Estelle Léonard, Dominique Guianvarc'h, Boris Vauzeilles, et al.. Chémobiologie et maladies infectieuses : de Pasteur à la COVID-19.. *L'Actualité Chimique*, 2021, 463. hal-03845179

HAL Id: hal-03845179

<https://hal.science/hal-03845179>

Submitted on 9 Nov 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Chémobiologie et maladies infectieuses : de Pasteur à la COVID-19.

Chemical Biology and Infectious diseases: from Pasteur to COVID-19

Arnaud Gautier^{1,2,*}, Maria Duca³, Estelle Léonard⁴, Dominique Guianvarc'h⁵, Boris Vauzeilles⁶, Paola B. Arimondo^{7,*}

¹ Professeur des Universités, Sorbonne Université, École Normale Supérieure, Université PSL, CNRS, Laboratoire des biomolécules, LBM, 75005 Paris, France (arnaud.gautier@sorbonne-universite.fr)

² Institut Universitaire de France

³ Chargée de Recherche CNRS, Université Côte d'Azur, CNRS, Institut de Chimie de Nice (ICN), 06100, Nice, France (maria.duca@univ-cotedazur.fr)

⁴ Enseignant-chercheur, Université de technologie de Compiègne, ESCOM, TIMR (Transformations Intégrées des Ressources Renouvelables), Centre de recherche Royallieu - CS 60 319 - 60 203 Compiègne Cedex, France (e.leonard@escom.fr)

⁵ Professeur des Universités, Institut de Chimie Moléculaire et des Matériaux d'Orsay (ICMMO), UMR 8182, Université Paris-Saclay, CNRS, F-91405 Orsay, France (dominique.guianvarch@universite-paris-saclay.fr)

⁶ Directeur de Recherche CNRS, Université Paris-Saclay, CNRS, Institut de Chimie des Substances Naturelles (ICSN), CNRS UPR 2301, Av. de la Terrasse, F-91198 Gif-sur-Yvette, France (boris.vauzeilles@u-psud.fr)

⁷ Directrice de Recherche CNRS, EpiCBio, Epigenetic Chemical Biology, Département de Biologie Structurale et Chimie, Institut Pasteur, CNRS UMR n°3523, 28 rue du Dr Roux, 75015 Paris, France (paola.arimondo@cnr.fr)

* Auteurs correspondants

Résumé

Nous vivons actuellement une période inédite de pandémie d'une maladie émergente, la COVID-19, causée par le coronavirus 2 du Syndrome Respiratoire Aigu Sévère (SARS-CoV2) qui touche tous les continents. La lutte contre cette infection passe par des mesures d'hygiène strictes, ainsi que le développement de vaccins et de nouvelles thérapies. La chémobiologie, domaine de recherche à l'interface de la chimie et de la biologie, développe des approches chimiques, de la synthèse de molécules au développement de nouvelles techniques, pour observer et comprendre le vivant à l'échelle moléculaire. Cette alliance de la chimie et de la biologie ouvre des perspectives excitantes pour comprendre les mécanismes d'infection et mieux lutter contre les maladies infectieuses.

Abstract

We are currently experiencing an unprecedented worldwide pandemic due to an emerging disease, COVID-19, caused by the Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV2). The fight against this infection requires strict hygiene measures, as well as the development of vaccines and new therapies. Chemical Biology, a field of research at the interface of Chemistry and Biology, develops chemical approaches, from the synthesis of molecules to the development of new techniques, to observe and understand living organisms at the molecular level. This combination of Chemistry and Biology opens up exciting prospects for understanding the mechanisms of infection and better combating infectious diseases.

Mots-clés: Chémobiologie, maladies infectieuses, virus, bactéries, parasites.

Keywords : Chemical Biology, infectious diseases, virus, bacteria, parasites

Sur les pas de Louis Pasteur

Louis Pasteur a été l'un des premiers à mettre en œuvre une vision intégrée de la chimie et la biologie.¹ Il a initié la microbiologie moderne en montrant que les processus de fermentation et putréfaction étaient liés à des micro-organismes vivants. Ses recherches ont permis une meilleure compréhension des maladies infectieuses causées par différents pathogènes, tels que les virus (ex : rage), les parasites (ex : pébrine) et les bactéries (ex : anthrax). Pour lutter contre ces infections, il a isolé les micro-organismes, introduit des règles d'hygiène et développé les premiers vaccins.

Au travers de différents exemples de pathologies et pathogènes, nous illustrons ici comment la chémobiologie permet de 1) comprendre les mécanismes infectieux et identifier des cibles thérapeutiques ; 2) lutter contre les maladies avec l'instauration de mesures d'hygiène, le développement de vaccins et de médicaments ; et 3) détecter les micro-organismes pour étudier et/ou diagnostiquer l'infection. Le développement de la chimie bioorthogonale, et la conception de sondes moléculaires associées aux techniques d'imagerie, de protéomique, de séquençage d'acides nucléiques et de biologie structurale les plus avancées (Encadré 1), permettent de construire de nouveaux outils capables d'aller encore plus loin dans la compréhension des mécanismes d'infection et la caractérisation de cibles.

Encadré 1- Quelques outils chémobiologiques

1. Réactions bioorthogonales et chimie click²

Réactions chimiques qui peuvent se produire rapidement et sélectivement à l'intérieur des systèmes vivants entre des fonctions chimiques absentes naturellement dans ces derniers. Un exemple de réaction bioorthogonale est la cycloaddition cupro-catalysée entre un azoture et un alcyne terminal (CuAAC).

2. Chémo-protéomique ou ABPP (Activity-based protein profiling)³

Technique utilisant des molécules comme sondes pour piéger et isoler les protéines cibles et leurs partenaires dans un milieu biologique. Les protéines sont ensuite purifiées afin de les identifier par spectrométrie de masse.

3. ChemSeq⁴

Méthode associant sondes chimiques et séquençage à haut débit pour cartographier les sites de fixations de petites molécules sur le génome et les ARN.

4. PROTAC (PROteolysis TArgeting Chimeras)⁵

Molécules bi-fonctionnelles contenant une moitié reconnaissant la protéine cible et une seconde moitié reconnue par la machinerie cellulaire de dégradation des protéines, permettant ainsi la dégradation sélective d'une protéine cible.

1) Comprendre les mécanismes et identifier des cibles

La chémobiologie permet d'étudier les mécanismes complexes utilisés par les agents pathogènes (virus, parasites ou bactéries) pour infecter l'hôte, proliférer et se répandre.

Cas de la COVID-19.

Le SARS-CoV-2 est un virus à ARN de la famille des Coronaviridae qui code pour 29 protéines. Gordon *et coll.*⁶ ont émis l'hypothèse qu'en étudiant les interactions entre les protéines de l'hôte (cellules humaines) et celles du virus, il est possible de mieux comprendre les mécanismes d'infection et d'identifier de nouvelles cibles. La surexpression de 26 protéines de SARS-CoV-2 possédant un marqueur d'affinité dans les cellules humaines embryonnaires HEK-293T a récemment permis d'identifier un réseau de 332 interactions entre les protéines virales et les protéines humaines par une approche protéomique. Cette étude montre que l'infection affecte les cascades de l'immunité innée, le transport nucléaire, mitochondrial et du réticulum endoplasmique, la machinerie de traduction et la régulation de l'expression de gènes. Par une analyse chémoinformatique de banques de données des activités biologiques de molécules chimiques comme ChEMBL (<https://www.ebi.ac.uk/chembl/>), 62 protéines susceptibles d'être ciblées par 69 composés ont pu être identifiées. Parmi ces composés, certains, comme les inhibiteurs de la machinerie de traduction et les inhibiteurs des récepteurs sigma 1 et 2, en particulier, la cyclohexyl-piperazine PB28, ont permis d'inhiber l'infection.

Cas du paludisme.

Le paludisme cause encore plus de 229 millions de cas avec 409 000 décès chaque année⁷. Le nombre croissant d'échecs thérapeutiques dus à des parasites multi-résistants en Asie du Sud-Est et en Afrique requiert de nouveaux antipaludéens actifs contre ces

parasites résistants. Combattre la résistance reste donc un problème de santé majeur.⁸ Une étape importante dans la compréhension et la lutte contre ces résistances est l'identification des cibles cellulaires de médicaments existants. Pour cela, des méthodologies et outils chimobiologiques dédiés ont été conçus (Figure 1).

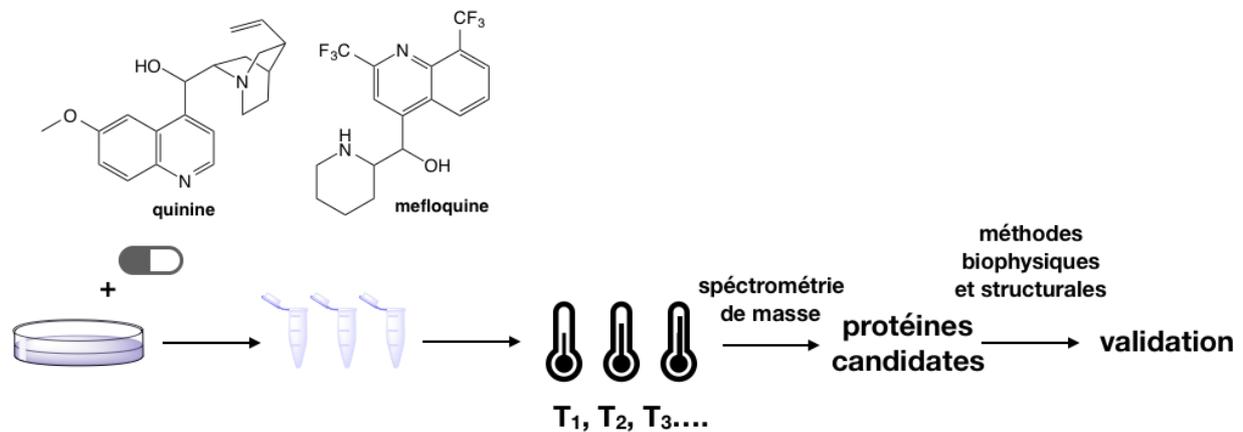


Figure 1. Association de la technique de CETSA à la protéomique pour identifier les cibles des antipaludiques quinine et méfloquine.

En couplant la technique de CETSA à la protéomique (Figure 1), de nouvelles cibles ont été identifiées pour esquiver la résistance à la quinine et à la méfloquine, deux agents antipaludiques couramment utilisés pour traiter la malaria⁹. Des extraits protéiques de globules rouges infectés par *Plasmodium falciparum* (le parasite responsable du paludisme le plus létal pour l'homme) traités avec les composés étudiés ont été incubés à des températures différentes et analysés par protéomique. Les profils protéomiques ont ensuite été comparés avec des échantillons non traités, et analysés en tenant compte du fait qu'en présence de l'inhibiteur, on s'attend à une température de dénaturation de la protéine cible différente. En couplant différentes analyses et cycles, la phosphorylase de purine (*PfPNP*) a été identifiée comme cible commune aux deux composés. Cette interaction a ensuite été confirmée par des techniques biophysiques classiques et la structure cristalline de deux composés présents dans le site actif de l'enzyme a été obtenue.

Cas des infections bactériennes.

Avec les virus, les bactéries représentent une classe de pathogènes ayant causé de nombreuses épidémies historiques. On peut citer la peste noire au Moyen Âge (*Yersinia pestis*) ou le choléra au 19^e siècle (*Vibrio cholerae*). Bien que la généralisation des mesures d'hygiène et la découverte des antibiotiques aient permis de contrôler bon nombre de ces infections, la surconsommation d'antibiotiques a conduit au développement de bactéries multi-résistantes, conduisant à un problème de santé majeur. Ainsi, la tuberculose

(*Mycobacterium tuberculosis*) reste particulièrement meurtrière causant près de 1,6 million de morts par an avec des formes très résistantes aux médicaments. D'autres bactéries telles que *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* sont, elles, régulièrement impliquées dans les infections nosocomiales. Ainsi la recherche de nouvelles cibles est plus que jamais d'actualité. En complément des techniques de criblage sur cellules ou sur organismes modèles, la chémo-protéomique a été utilisée pour identifier les cibles cellulaires d'inhibiteurs d'enzymes (Encadré 1). Dans ces approches, les sondes sont conçues à partir d'inhibiteurs puissants (sondes basées sur l'activité) qui sont modifiées de façon à former une liaison covalente avec leur cible dans les cellules soit par une fonction chimique intrinsèque soit via l'introduction d'un agent de pontage. Par exemple, les sondes fluorophosphonates (électrophiles) ont une réactivité contre la majorité des hydrolases à sérine (SH). Leur utilisation a connu des progrès très importants *in situ* notamment grâce à l'apport de la chimie bioorthogonale (Encadré 1). Dans une étude sur *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), des sondes de ce type ont été conçues et utilisées dans une approche ABPP (Encadré 1) pour mesurer l'activité des SH de Mtb en réplication active et de Mtb non répliquatives, permettant d'identifier des SH qui restent actives en l'absence de réplication. Cette étude a permis de caractériser des changements majeurs dans l'activité des SH liées à une régulation post-traductionnelle importante, et de proposer de nouvelles cibles de persistance peu connues jusqu'alors¹⁰. Ceci constitue une avancée intéressante dans un contexte où le ciblage thérapeutique des populations non répliquatives responsables de la persistance et des mauvais résultats des traitements est une priorité pour le traitement de la tuberculose.

2) Lutter contre l'infection

Comme nous l'a montré Louis Pasteur, la lutte contre les infections passe par des mesures d'hygiène simples et quotidiennes, et par le développement de vaccins et de nouvelles stratégies thérapeutiques.

Agir sur les membranes

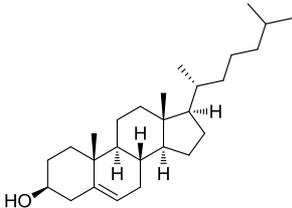
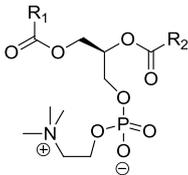
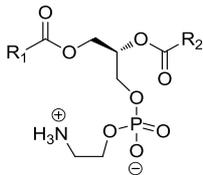
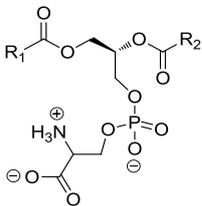
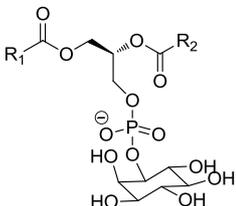
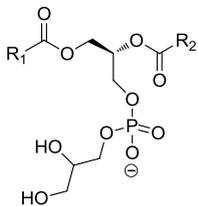
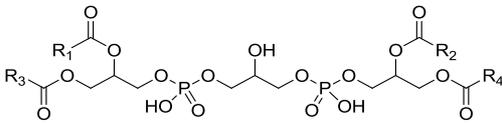
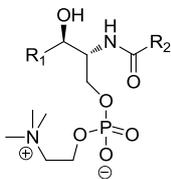
Le savon et les gels hydro-alcooliques jouent aujourd'hui un rôle essentiel dans la lutte contre les infections virales et bactériennes. Comprendre l'activité virucide et bactéricide de ces molécules de la vie courante nécessite de connaître la structure des virus et des bactéries. Certains virus sont composés d'une membrane lipidique et d'une enveloppe protéinique. Cette enveloppe permet aux virus enveloppés d'être libérés de leur cellule hôte sans lyse de cette dernière, à la différence des virus dits nus qui ne possèdent pas d'enveloppe. Il existe des virus à ADN enveloppés (ex : virus de l'herpès) et nus (ex :

Papillomavirus), et à ARN enveloppés (ex : Coronavirus, VIH) et nus (ex : Picoronavirus).¹¹

Les bactéries quant à elles possèdent une membrane lipidique surmontée d'une paroi de peptidoglycane plus ou moins épaisse. Elles sont de type bacille (en forme de bâtonnet), coque (de forme ronde), et Gram(+) ou Gram(-) suivant la persistance ou non de la coloration de Gram, liée à l'existence ou non d'une membrane externe.

Agir directement sur les membranes de ces pathogènes est une méthode simple pour stopper l'infection. Les membranes des virus sont composées de phospholipides variées (Tableau 1), tels que la phosphatidylcholine, la phosphatidyléthanolamine, la sphingomyéline, la phosphatidylsérine et le phosphatidylinositol composant par exemple la membrane du VIH¹². Les membranes phospholipidiques des virus sont également largement constituées à partir de la membrane de la cellule hôte. Ceci permet aux virus de faire l'économie de la biosynthèse de phospholipides spécifiques, tout en évitant la reconnaissance immunitaire et en diminuant la réponse inflammatoire à l'infection. Chez les bactéries, la composition lipidique de l'enveloppe est encore différente. La membrane plasmique d'*E. coli* est par exemple composée de phosphatidyléthanolamine, et de phosphatidylglycérol.¹³

Tableau 1 Structures génériques des lipides et phospholipides des membranes d'enveloppes virales ou plasmiques bactériennes (R₁, R₂, R₃ et R₄ représentent des chaînes grasses (in)saturées)

Cholestérol	Phosphatidylcholine	Phosphatidyléthanolamine
		
Phosphatidylsérine	Phosphatidylinositol	Phosphatidylglycérol
		
Cardiolipine		Sphingomyéline
		

Les molécules capables de solubiliser ou perturber ces membranes permettent donc d'inactiver les virus et les bactéries. Les solvants organiques polaires, tels que l'éthanol trouvé dans les solutions hydroalcooliques, sont ainsi des bactéricides et des virucides efficaces.¹⁴ L'éthanol dénature de plus les protéines des agents pathogènes. De même, les tensioactifs trouvés dans les savons interagissent avec la bicouche lipidique des membranes virales et bactériennes et perturbent leur assemblage (Figure 2)¹⁵. Lors du lavage des mains, cette bicouche se lyse entraînant la destruction des virus et des bactéries. Ces exemples de la vie quotidienne démontrent comment la simple perturbation de l'assemblage ou la solubilisation des lipides de la bicouche membranaire des pathogènes permet leur inactivation efficace.

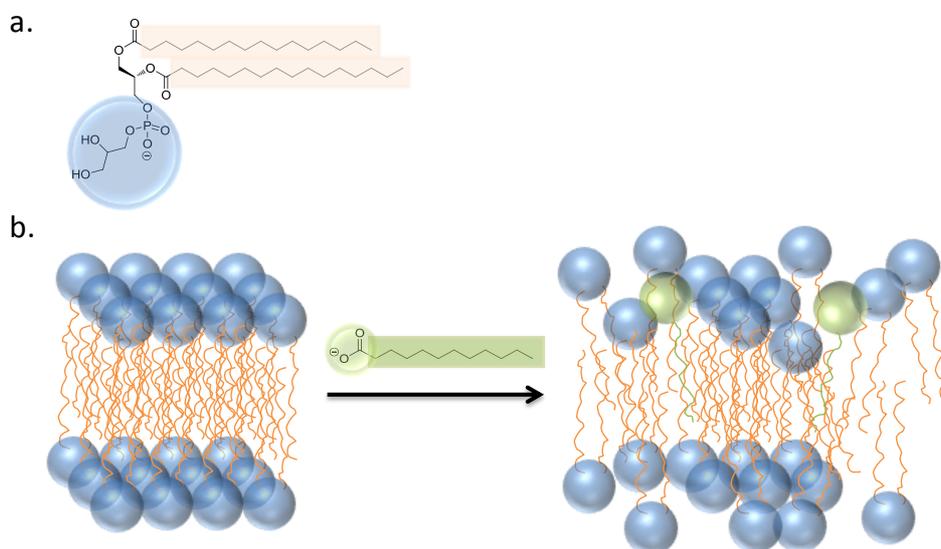


Figure 2 Exemple schématique **a.** du caractère amphiphile de phospholipide, le phosphatidylglycérol ; **b.** et de l'autoassemblage du phosphatidylglycérol et perturbation par un savon dodécanoate.

Les vaccins virus vivants à code génétique étendu

Les vaccins représentent un autre moyen efficace de lutter contre les infections virales. L'invention des vaccins représente l'un des plus grands accomplissements dans l'histoire de l'humanité. Le virus de la variole, autrefois dévastateur sur l'ensemble des continents, a été complètement éradiqué grâce à l'utilisation de la vaccine (variole de la vache) comme vaccin. Le développement de vaccins efficaces ont permis la prévention d'autres maladies virales infectieuses telles que la poliomyélite, la rougeole, les oreillons et la rubéole. Aujourd'hui, le principal défi est d'obtenir des vaccins sûrs et efficaces pour des nouveaux

virus tels que le SARS-CoV-2, mais aussi le virus Ebola, les virus de la grippe H5N1 et H7N9, les virus de la Dengue et Zika, ainsi que pour les virus d'immunodéficience humaine (VIH) et de l'hépatite C (VHC). Le grand défi pour convertir des virus en vaccins vivants atténués est de les rendre aussi peu virulents que possible tout en conservant leur infectiosité pour obtenir une réponse immunitaire optimale.

Récemment, des vaccins à virus vivants incapables de se répliquer ont été développés en utilisant un code génétique étendu.¹⁶ Le code génétique définit comment l'information portée par les ARN messagers est décodée pour synthétiser les protéines. Ce code est lu par une machine de traduction conservée par l'évolution et toutes les protéines sont synthétisées à partir d'un ensemble limité de 20 acides aminés canoniques. Chaque acide aminé est codé par un ou plusieurs codons, triplets de nucléotides au nombre de 61 ; trois codons additionnels (UAG, UAA et UGA), appelés codons stop, indiquent l'arrêt de la traduction. Certaines cellules procaryotes telles que les *Methanosarcina* ont un code génétique étendu : dans celles-ci, le codon stop UAG peut être reconnu comme un codon sens et encoder la pyrrolysine, un acide aminé non canonique. Ce code génétique étendu a été utilisé pour modifier le génome du virus de la grippe A. Pour ce faire, des codons sens ont été remplacés par des codons stop UAG dans des segments génomiques de l'ARN viral. L'insertion de codons stop dans le génome viral permet de produire les virus uniquement dans des cellules modifiées contenant la machinerie traductionnelle orthogonale de *Methanosarcina barkeri* et en présence de pyrrolysine, non présente dans les cellules humaines. Cette approche permet ainsi de convertir un virus infectieux en virus avirulent incapable de se répliquer dans des cellules humaines normales.

Cette approche chémobiologique est universelle et pourrait être appliquée à d'autres virus pour générer rapidement des vaccins plus immunogènes et efficaces que les vaccins vivants atténués classiques. Ces virus à code génétique étendu, ayant a priori moins de chances de revenir à des formes pathogènes capables de se répliquer, devraient de plus avoir un niveau de sécurité plus élevé.

Stratégies thérapeutiques innovantes

Des efforts considérables ont été entrepris ces derniers mois afin de développer des stratégies thérapeutiques efficaces contre le SARS-Cov2 en plus des stratégies vaccinales. Dans le but de développer de nouvelles thérapeutiques antivirales, la chémobiologie joint ses forces à la chimie médicinale, la biologie structurale et la biologie cellulaire.

Dans la lutte contre les infections virales

Les connaissances acquises sur les agents antiviraux contre le VIH, le virus de l'hépatite B (VHB), le virus de l'hépatite C (VHC) et la grippe, ainsi que sur les infections causées par des coronavirus humains tels que le SARS et le Syndrome Respiratoire du Moyen-Orient (MERS) sont essentielles pour le développement de nouveaux outils chimiques et thérapeutiques contre la COVID-19.¹⁷ Plusieurs cibles thérapeutiques sont maintenant bien caractérisées telles que les protéines virales structurales (le spicule (S) par exemple), les protéines non-structurales (protéases, polymérases etc.) ou encore les protéines humaines et les récepteurs impliqués dans l'entrée du virus dans les cellules hôtes. Plusieurs traitements antiviraux permettent de bloquer la synthèse de l'ARN viral chez les virus à ARN, y compris les coronavirus humains.

Parallèlement des cibles moins conventionnelles sont explorées, comme le génome viral, notamment dans le contexte des virus à ARN. Dans le génome du virus de l'hépatite C (HCV) par exemple, les IRES (de l'anglais *internal ribosome entry site*) sont essentiels pour la survie du virus.¹⁸ De nombreuses études chémobiotiques sur la structure et la fonction de ces portions du génome, ont permis de comprendre leur fonctionnement et de concevoir des agents antiviraux interagissant avec ces IRES.¹⁹ L'ARN FSS (« frameshift-stimulating ») du VIH-1 est un autre ARN régulateur d'une importance capitale dans la réplication du virus. L'identification de ligands capables d'inhiber ses fonctions a montré que le ciblage des FSS pouvait représenter une stratégie efficace pour le traitement du VIH et d'autres infections virales.²⁰ De manière similaire, des ligands de l'ARN du SARS-CoV2 ont été identifiés par criblage virtuel, ouvrant ainsi la voie vers de nouvelles stratégies antivirales.²¹

En plus de l'exploration de cibles originales, de nouvelles stratégies de chémobiotique sont proposées pour augmenter l'efficacité des molécules. Une avancée récente est la stratégie PROTAC pour « proteolysis targeting chimeras » : des chimères constituées d'un inhibiteur d'une protéine virale et d'un composé capable de recruter une protéase intracellulaire qui dégrade la protéine elle-même (**Encadré 1**).²² Ce type d'approche permet non seulement de cibler la protéine mais aussi d'induire une dégradation de la cible.²³ De la même manière que les PROTAC, l'équipe de M. Disney vient de synthétiser des RIBOTAC (« ribonuclease targeting chimera ») c'est-à-dire des chimères composées d'un ligand de l'ARN viral et d'une molécule capable de recruter une enzyme qui dégrade l'ARN ciblé.²⁴

Les mécanismes contrôlant l'entrée du virus dans la cellule hôte et sa reconnaissance par le système immunitaire sont aussi explorés. Une illustration est l'étude de l'hélicase d'ARN RIG-1 impliquée dans la détection des particules virales.²⁵ Les mucines, glycoprotéines qui modulent l'infection dans le cas des virus de la grippe A sont un autre exemple de cibles intéressantes.²⁶ Ancrées sur les cellules hôtes, elles sont à la fois une barrière protectrice contre la liaison des virus mais également un moyen de recruter des particules virales *via* les acides sialiques. Pour élucider le rôle moléculaire des mucines, des mimes polymériques de glycopolypeptides liés aux lipides des mucines ont été synthétisés et ajoutés à la bicouche lipidique de la membrane cellulaire. Ce glycocalyx modèle synthétique est ainsi parfaitement contrôlé du point de vue de sa longueur, de son niveau de glycosylation et de sa densité de surface, ce qui a permis d'étudier le rôle de ces différents paramètres dans l'infection.

Bloquer l'infection virale avec des particules multivalentes.

La pandémie que nous vivons aujourd'hui souligne la nécessité de développer de nouvelles technologies pour le traitement des infections virales.²⁷ Une approche prometteuse pour prévenir l'infection est la conception de particules multivalentes synthétiques ou semi-synthétiques qui interfèrent avec l'adhésion des virus. Récemment, des capsides de bactériophages ont été modifiées par chimie click, afin d'obtenir un arrangement spatialement défini de ligands de la protéine virale hémagglutinine du virus de la grippe A²⁸. La géométrie prédéfinie de la capside des bactériophages organise les ligands dans un arrangement correspondant à la géométrie des sites de liaison de la protéine virale trimérique. Ces capsides peuvent ainsi se lier de manière optimale aux virus selon un mode multivalent défini. En recouvrant l'enveloppe du virus, ces capsides empêchent sa liaison à la cellule hôte, inhibant ainsi l'infection virale.

Dans la lutte contre les infections parasitaires

Le problème majeur dans le traitement du paludisme est le développement de la résistance aux médicaments. L'efficacité des traitements les plus récents à base d'artémisinine (ART) (prix Nobel de Médecine de 2015 à Youyou Tu) est déjà atténuée par l'apparition de résistances en Asie du Sud-Est, qui sont en train de s'étendre sur le continent africain. De façon élégante, Çapci *et coll.*²⁹ ont couplé deux classes d'antipaludéens (ART-quinoléines) en utilisant l'activation C-H et la réaction CuAAC pour obtenir des composés hybrides actifs à des concentrations nanomolaires sur les souches de parasites multi-résistants et *in vivo*. Une approche de chémo-protéomique (**Encadré 1** et Figure 3) a permis d'identifier les protéines qui se fixent à ces inhibiteurs hybrides.³⁰

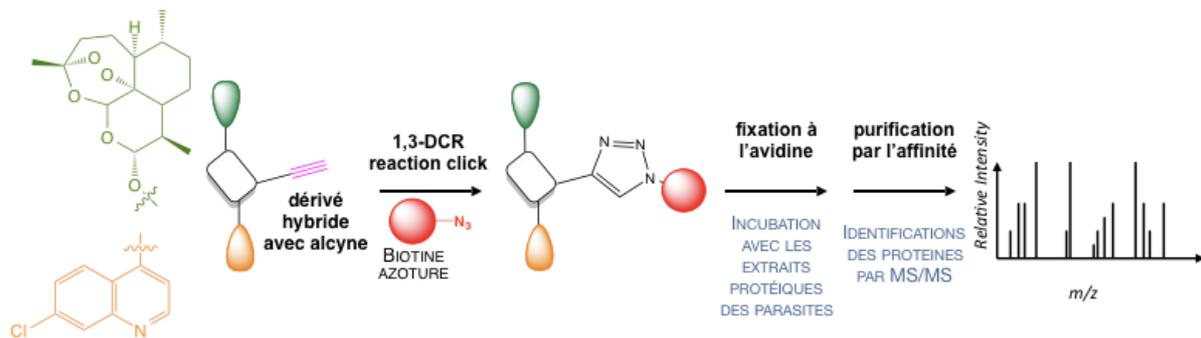


Figure 3. Utilisation de la chémo-protéomique pour identifier les cibles protéiques dans *P. falciparum* des dérivés hybrides d'Artemisinin–(Iso)Quinoline.

Les dérivés hybrides ART-quinoléine sont fonctionnalisés avec un groupement alcyne, et ensuite couplés à une biotine via une réaction CuAAC. Cette sonde hybride-biotine permet d'extraire les cibles protéiques dans des lysats cellulaires par chromatographie d'affinité grâce à l'interaction biotine-avidine. Les protéines ainsi « pêchées » sont ensuite identifiées par spectrométrie de masse. Les auteurs ont ainsi pu identifier les protéines cibles de leurs dérivés hybrides dans ces parasites. De façon intéressante, ces protéines résultent de l'ensemble des cibles de chacune de deux familles d'inhibiteurs qui composent les molécules hybrides.

3) Détecter et diagnostiquer l'infection

La pandémie de COVID-19 nous montre la nécessité de développer de nouvelles méthodologies de détection et de diagnostic pour guider les efforts de surveillance, de traitement et de confinement³¹. Des tests permettant de détecter rapidement et simplement les agents pathogènes à partir d'échantillons cliniques, sont toujours recherchés. Différents outils moléculaires ont été récemment développés avec des résultats prometteurs permettant d'envisager de nouvelles méthodologies dans ce domaine.

L'aide de la technologie CRISPR-Cas

Ces dernières années la technologie CRISPR-Cas, connue pour ses applications en édition du génome, a été utilisée pour le développement de tests de diagnostic moléculaire pour les maladies infectieuses. Dans la nature, le système CRISPR-Cas permet aux bactéries de combattre leurs pathogènes, les virus, en clivant des séquences d'acides nucléiques de ces derniers. Il a récemment été montré que les enzymes Cas13 et Cas12a étaient capables de cliver de manière indiscriminée respectivement de l'ARN simple brin (ARNsb) et de l'ADN simple brin (ADNsb)^{32,33,34}. Cette activité collatérale, présente uniquement lors de la

reconnaissance d'une séquence cible par un ARN guide dédié, permet de détecter de manière spécifique la présence d'ADN ou d'ARN viraux par clivage d'une sonde ARNsb ou ADNsb générant un signal optique détectable par des techniques spectrophotométriques simples ou des bandelettes de papier. Les tests basés sur CRISPR-Cas peuvent ainsi être exécutés directement sur des échantillons cliniques primaires avec un équipement minimal. Cette technologie a récemment permis le développement d'un test simple de détection du SARS-CoV-2 en utilisant des ARN guides ciblant les gènes E et N du virus.³⁵

Détecter et diagnostiquer la présence de bactéries pathogènes

La détection de bactéries dans un échantillon, qu'il soit d'origine environnementale, animale ou humaine, repose encore essentiellement sur la méthode de culture historiquement développée par Pasteur et Koch, qui peut s'avérer limitante en termes de délai. La chimobiologie a permis des avancées basées sur l'exploitation du métabolisme bactérien, et la présence de constituants uniques notamment au niveau de leur enveloppe. Certaines biomolécules sont spécifiques des bactéries et n'existent pas dans le monde animal. On peut citer certains sucres de la paroi bactérienne ou des glycolipides comme le cord factor, identifié par Lederer, un glycolipide spécifique des mycobactéries dont la biosynthèse est la cible d'antituberculeux. Ainsi, au cours de la dernière décennie, des sondes, analogues de précurseurs naturels du métabolisme (acides aminés, sucres, lipides, glycolipides...), ont été conçues pour emprunter la machinerie endogène de biosynthèse des bactéries. Dans une approche appelée marquage métabolique, elles sont utilisées pour incorporer des marqueurs de détection ou d'affinité dans les biomolécules (protéines, membranes...). Par exemple, le lipopolysaccharide, l'un des constituants de la membrane externe des bactéries à Gram(-), est composé de différents monosaccharides dont certains, tels que l'acide 3-deoxy-D-manno-octulosonique (Kdo), sont spécifiques de ces bactéries. Leur culture en présence d'un analogue de Kdo, porteur d'une fonction chimique azoture (Kdo-N₃), conduit à l'incorporation de ce leurre métabolique dans le LPS et à la décoration de la surface bactérienne par ces groupes azoture, qui peuvent ensuite être engagés dans une réaction de cycloaddition azoture-alcyne bioorthogonale (chimie click de type CuAAC ou SPAAC, **Encadré 1**) avec un fluorophore ou une biotine qui sera ensuite révélée par une streptavidine fluorescente.³⁶ Ces travaux ont montré qu'il est possible de marquer spécifiquement des bactéries vivantes ouvrant ainsi de nombreuses perspectives non seulement pour répondre à des questions biologiques précises, mais également proposer de nouveaux outils de diagnostic. Une approche similaire, basée sur un autre monosaccharide spécifique de la bactérie *Legionella pneumophila*, et précurseur de l'acide

légionaminique, a permis de marquer sélectivement ce pathogène et de développer un test de détection rapide de sa présence dans un échantillon environnemental.³⁷

Un autre exemple concerne les mycobactéries et corynebactéries, tels que *M. tuberculosis*, *M. leprae* et *C. diphtheriae*, qui sont recouvertes d'une mycomembrane très dense et imperméable, constituée notamment de glycolipides très particuliers (cord factor), dérivés de tréhalose (disaccharide non réducteur du glycopyranose) et d'acides mycoliques (acides gras ramifiés à très longues chaînes carbonées). Différents outils ont été développés pour sonder la mycomembrane. Par exemple, une sonde dérivée de tréhalose porteuse d'un fluorophore solvatochromique, c'est-à-dire sensible aux changements de polarité du milieu, a permis la détection rapide de *M. tuberculosis* dans les expectorations de patients après conversion métabolique de cette sonde en analogue de tréhalose-monomycolate puis incorporation dans la mycomembrane dont le milieu hydrophobe exalte la fluorescence de la sonde (Figure 4).³⁸

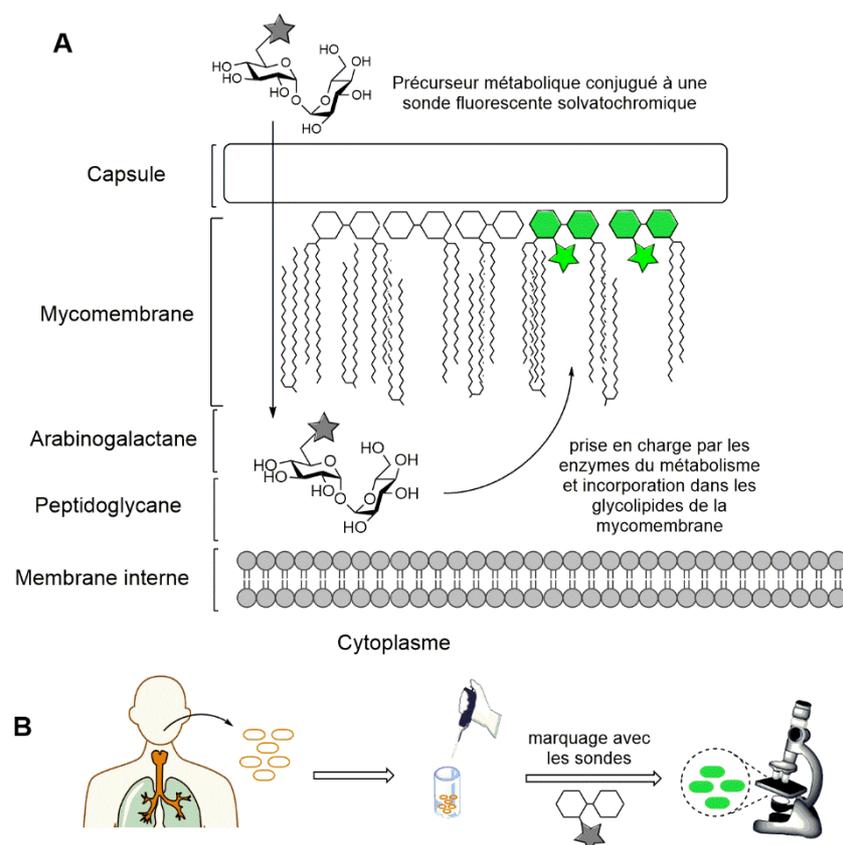


Figure 4. Détection de *M. tuberculosis* dans des expectorats de patients à l'aide de précurseurs métaboliques de la mycomembrane conjugués à un fluorophore solvatochromique. (a) Incorporation de la sonde dans la mycomembrane via les voies métaboliques. (b) Illustration du protocole d'étiquetage des échantillons d'expectorats.

La chémobiologie, porteuse d'espoir

Les recherches présentées ici sont encore bien souvent au stade de la preuve de concept, et nécessiteront des étapes de développement avant d'atteindre une éventuelle application thérapeutique. Elles montrent cependant la richesse et la diversité des approches chémobiologiques. Aujourd'hui grâce à son caractère intrinsèquement interdisciplinaire, la chémobiologie contribue au développement d'outils innovants et d'applications dans le domaine des maladies infectieuses en s'appuyant sur notre connaissance moléculaire des pathogènes. Elle permettra aussi d'enrichir les programmes de découverte de médicaments, ainsi que les méthodes de diagnostic et de prévention.

¹ Berche, P. Louis Pasteur, from Crystals of Life to Vaccination. *Clin. Microbiol. Infect.* **2012**, *18*, p 1–6.

² J. A. Prescher, C. R. Bertozzi, Chemistry in living systems, *Nat. Chem. Biol.* **2005**, *1*, p 13-21.

³ K. T. Barglow & B. Cravatt, Activity-based protein profiling for the functional annotation of enzymes, *Nat. Meth.* **2007**, *4*, p 822-827.

⁴ Lars Anders, Matthew G Guenther, Jason J Marineau, Peter B Rahl, Jakob Lovén, Alla A Sigova, William B Smith, Tong Ihn Lee, James E Bradner, Richard A Young, *Nat. Biotechnol.* **2014**, *32*, p 92-96.

⁵ M. Pettersson & C.M. Crews, PROteolysis Targeting Chimeras (PROTACs) Past, present and future. *Drug Discovery Today : Technologies* **2019**, *31*, p 15-27.

⁶ Gordon, D. E.; Jang, G. M.; Bouhaddou, M.; Xu, J.; Obernier, K.; White, K. M.; O'Meara, M. J.; Rezelj, V. V.; Guo, J. Z.; Swaney, D. L.; Tummino, T. A.; Hüttenhain, R.; Kaake, R. M.; Richards, A. L.; Tutuncuoglu, B.; Foussard, H.; Batra, J.; Haas, K.; Modak, M.; Kim, M.; Haas, P.; Polacco, B. J.; Braberg, H.; Fabius, J. M.; Eckhardt, M.; Soucheray, M.; Bennett, M. J.; Cakir, M.; McGregor, M. J.; Li, Q.; Meyer, B.; Roesch, F.; Vallet, T.; Mac Kain, A.; Miorin, L.; Moreno, E.; Naing, Z. Z. C.; Zhou, Y.; Peng, S.; Shi, Y.; Zhang, Z.; Shen, W.; Kirby, I. T.; Melnyk, J. E.; Chorba, J. S.; Lou, K.; Dai, S. A.; Barrio-Hernandez, I.; Memon, D.; Hernandez-Armenta, C.; Lyu, J.; Mathy, C. J. P.; Perica, T.; Pilla, K. B.; Ganesan, S. J.; Saltzberg, D. J.; Rakesh, R.; Liu, X.; Rosenthal, S. B.; Calviello, L.; Venkataramanan, S.; Liboy-Lugo, J.; Lin, Y.; Huang, X.-P.; Liu, Y.; Wankowicz, S. A.; Bohn, M.; Safari, M.; Ugur, F. S.; Koh, C.; Savar, N. S.; Tran, Q. D.; Shengjuler, D.; Fletcher, S. J.; O'Neal, M. C.; Cai, Y.; Chang, J. C. J.; Broadhurst, D. J.; Klippsten, S.; Sharp, P. P.; Wenzell, N. A.; Kuzuoglu-Ozturk, D.; Wang, H.-Y.; Trenker, R.; Young, J. M.; Caverio, D. A.; Hiatt, J.; Roth, T. L.; Rathore, U.; Subramanian, A.; Noack, J.; Hubert, M.; Stroud, R. M.; Frankel, A. D.; Rosenberg, O. S.; Verba, K. A.; Agard, D. A.; Ott, M.; Emerman, M.; Jura, N.; von Zastrow, M.; Verdin, E.; Ashworth, A.; Schwartz, O.; d'Enfert, C.; Mukherjee, S.; Jacobson, M.; Malik, H. S.; Fujimori, D. G.; Ideker, T.; Craik, C. S.; Floor, S. N.; Fraser, J. S.; Gross, J. D.; Sali, A.; Roth, B. L.; Ruggero, D.; Taunton, J.; Kortemme, T.; Beltrao, P.; Vignuzzi, M.; Garcia-Sastre, A.; Shokat, K. M.; Shoichet, B. K.; Krogan, N. J. A SARS-CoV-2 Protein Interaction Map Reveals Targets for Drug Repurposing. *Nature* **2020**, *583*, p 459–468.

⁷ World Health Organisation. World Malaria Report 2020; Global Malaria Programme, WHO Global, 2020; p 19.

⁸ Carolino, K.; Winzeler, E. A. The Antimalarial Resistome – Finding New Drug Targets and Their Modes of Action. *Curr. Opin. Microbiol.* **2020**, *57*, p 49–55..

⁹ Dziekan, J. M.; Yu, H.; Chen, D.; Dai, L.; Wirjanata, G.; Larsson, A.; Prabhu, N.; Sobota, R. M.; Bozdech, Z.; Nordlund, P. Identifying Purine Nucleoside Phosphorylase as the Target of Quinine Using Cellular Thermal Shift Assay. *Sci. Transl. Med.* **2019**, *11*, eaau3174.

¹⁰ Ortega, C., Anderson, L. N., Frando, A., Sadler, N. C., Brown, R. W., Smith, R. D., Wright, A. T., and Grundner, C. Systematic Survey of Serine Hydrolase Activity in Mycobacterium tuberculosis Defines Changes Associated with Persistence. *Cell Chem. Biol.* **2016**, *23*, p 290–298.

¹¹ J.-M. Huraux, J.-C. Nicolas, H. Agut, H. Peigue-Lafeuille and F. Barré-Sinoussi, *Virologie médicale*, Estem Agence universitaire de la francophonie, Paris, 2003.

¹² N. Huarte, P. Carravilla, A. Cruz, M. Lorizate, J. A. Nieto-Garai, H.-G. Kräusslich, J. Pérez-Gil, J. Requejo-Isidro and J. L. Nieva, *Sci. Rep.*, **2016**, *6*, 34190.

¹³ J. Starka and J. Moranova, *Microbiology*, **1970**, *60*, p 251–257.

¹⁴ C. W. Rundle, C. L. Presley, M. Militello, C. Barber, D. L. Powell, S. E. Jacob, A. R. Atwater, K. L. Watsky, J. Yu and C. A. Dunnick, *J. Am. Acad. Dermatol.* DOI:10.1016/j.jaad.2020.07.057.

¹⁵ H. Nishi, H. Komatsuzawa, T. Fujiwara, N. McCallum and M. Sugai, *Antimicrob. Agents Ch.* **2004**, *48*, p 4800–4807.

¹⁶ Generation of influenza A viruses as live but replication-incompetent virus vaccines, Longlong Si, Huan Xu, Xueying Zhou, Ziwei Zhang, Zhenyu Tian, Yan Wang, Yiming Wu, Bo Zhang, Zhenlan Niu, Chuanling Zhang, Ge Fu, Sulong Xiao, Qing Xia, Lihe Zhang, Demin Zhou, *Science* **2016**, *354*, p 1170-1173.

¹⁷ G. Li, E. De Clercq Therapeutic options for the 2019 novel coronavirus (2019-nCoV). *Nat. Rev. Drug Discov.* **2020** *19*, 149-150; C. Gil, T. Ginex, I. Maestro, V. Nozal, L. Barrado-Gil, M. Á. Cuesta-Geijo, J. Urquiza, D.

Ramírez, C. Alonso, N. E. Campillo, A. Martínez COVID-19: Drug Targets and Potential Treatments. *J. Med. Chem.* **2020** doi: 10.1021/acs.jmedchem.0c00606.

¹⁸ G. A Otto, J. D. Puglisi The pathway of HCV IRES-mediated translation initiation. *Cell* **2004**, *119*, p 369-80; T. V. Pestova, V. G. Kolupaeva, I. B. Lomakin, E. V. Pilipenko, I. N. Shatsky, V. I. Agol, C. U. Hellen Molecular mechanisms of translation initiation in eukaryotes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* **2001**, *98*, p 7029-36.

¹⁹ B. P. Charrette, M. A Boerneke, T. Hermann Ligand Optimization by Improving Shape Complementarity at a Hepatitis C Virus RNA Target. *ACS Chem. Biol.* **2016**, *11*, 3263-3267; J. Parsons, P. Castaldi, S. Dutta, S. M. Dibrov, D. L. Wyles, T. Hermann Conformational inhibition of the hepatitis C virus internal ribosome entry site RNA. *Nat. Chem. Biol.* **2009**, *5*, p 823-5.

²⁰ T. A. Hilimire, J. M. Chamberlain, V. Anokhina, R. P. Bennett, O. Swart, J. R. Myers, J. M. Ashton, R. A. Stewart, A. L. Featherston, K. Gates, E. D. Helms, H. C. Smith, S. Dewhurst, B. L. Miller HIV-1 Frameshift RNA-Targeted Triazoles Inhibit Propagation of Replication-Competent and Multi-Drug-Resistant HIV in Human Cells. *ACS Chem. Biol.* **2017**, *12*, p 1674-1682.

²¹ S. J. Park, Y. G. Kim, H. J. Park Identification of RNA pseudoknot-binding ligand that inhibits the -1 ribosomal frameshifting of SARS-coronavirus by structure-based virtual screening *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, p10094-10100.

²² Burslem G, Crews CM Proteolysis-targeting chimeras as Therapeutics and Tools for Biological Discovery. *Cell.* **2020**, *181*, p 102-114.

²³ Wispelaere M, Du G, Donovan KA, Zhang T, Eleuteri NA, Yuan JC, Kalabathula J, Nowak RP, Fischer ES, Gray NS, Yang PL Small molecule degraders of the hepatitis C virus protease reduce susceptibility to resistance mutations. *Nat Commun.* **2019**, *10*, p 3468.

²⁴ H. S. Haniff, Y. Tong, X. Liu, J. L. Chen, B. M. Suresh, R. J. Andrews, J. M. Peterson, C. A. O'Leary, R. I. Benhamou, W. N. Moss, M. D. Disney Targeting the SARS-CoV-2 RNA Genome with Small Molecule Binders and Ribonuclease Targeting Chimera (RIBOTAC) Degradable. *ACS Cent. Sci.* **2020** doi.org/10.1021/acscentsci.0c00984.

²⁵ C. F. Basler, A. García-Sastre Sensing RNA virus infections. *Nat. Chem. Biol.* **2007**, *3*, p 20–21.

²⁶ C. S. Delaveris, E. R. Webster, S. M. Banik, S. G. Boxer, C. R. Bertozzi Membrane-tethered mucin-like polypeptides sterically inhibit binding and slow fusion kinetics of influenza A virus *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* **2020**, *117*, p 12643-12650.

²⁷ Cynthia Liu 1, Qiongqiong Zhou 1, Yingzhu Li 1, Linda V Garner 1, Steve P Watkins 1, Linda J Carter 1, Jeffrey Smoot 1, Anne C Gregg 1, Angela D Daniels 1, Susan Jervey 1, Dana Albaiu Research and Development on Therapeutic Agents and Vaccines for COVID-19 and Related Human Coronavirus Diseases. *ACS Cent Sci.* **2020**, *6*, p 315-331.

²⁸ Lauster, D., Klenk, S., Ludwig, K. *et al.* Phage capsid nanoparticles with defined ligand arrangement block influenza virus entry. *Nat. Nanotechnol.* **2020**, *15*, p 373–379.

²⁹ Çapcı, A.; Lorion, M. M.; Wang, H.; Simon, N.; Leidenberger, M.; Borges Silva, M. C.; Moreira, D. R. M.; Zhu, Y.; Meng, Y.; Chen, J. Y.; Lee, Y. M.; Friedrich, O.; Kappes, B.; Wang, J.; Ackermann, L.; Tsogoeva, S. B. Artemisinin–(Iso)Quinoline Hybrids by C–H Activation and Click Chemistry: Combating Multidrug-Resistant Malaria. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, *58*, p13066–13079.

³⁰ Pechalrieu, D.; Assemat, F.; Halby, L.; Marcellin, M.; Yan, P.; Chaoui, K.; Sharma, S.; Chiosis, G.; Burlet-Schiltz, O.; Arimondo, P. B.; Lopez, M. Bisubstrate-Type Chemical Probes Identify GRP94 as a Potential Target of Cytosine-Containing Adenosine Analogs. *ACS Chem. Biol.* **2020**, *15*, p 952–961.

³¹ Carter, L. J.; Garner, L. V.; Smoot, J. W.; Li, Y.; Zhou, Q.; Saveson, C. J.; Sasso, J. M.; Gregg, A. C.; Soares, D. J.; Beskid, T. R.; Jervey, S. R.; Liu, C. Assay Techniques and Test Development for COVID-19 Diagnosis. *ACS Cent. Sci.* **2020**, *6*, p 591–605.

³² Chen, J.S., Ma, E., Harrington, L.B., Da Costa, M., Tian, X., Palefsky, J.M., and Doudna, J.A. CRISPR-Cas12a target binding unleashes indis- criminate single-stranded DNase activity. *Science* **2018**, *360*, p 436–439.

³³ Gootenberg, J.S., Abudayyeh, O.O., Kellner, M.J., Joung, J., Collins, J.J., and Zhang, F. Multi-plexed and portable nucleic acid detection platform with Cas13, Cas12a, and Csm6. *Science* **2018**, *360*, p 439–444.

³⁴ Myhrvold, C., Freije, C.A., Gootenberg, J.S., Abu- dayyeh, O.O., Metsky, H.C., Durbin, A.F., Kellner, M.J., Tan, A.L., Paul, L.M., Parham, L.A., et al; Field-deployable viral diagnostics using CRISPR-Cas13. *Science* **2018**, *360*, p 444–448.

³⁵ CRISPR–Cas12-based detection of SARS-CoV-2 J. P. Broughton, X. Deng, G. Yu, C. L. Fasching, V. Servellita, J Singh, X. Miao, J. A. Streithorst, A. Granados, A. Sotomayor-Gonzalez, K. Zorn, A. Gopez, E. Hsu, W. Gu, S. Miller, C.-Y. Pan, H.Guevara, D. A. Wadford , J. S. Chen and C. Y. Chiu *Nat. Biotechnol.* **2020**, *38*, p 870–874.

³⁶ A. Dumont, A. Malleron, M. Awwad, S. Dukan, B. Vauzeilles, Click-mediated labeling of bacterial membranes through metabolic modification of the lipopolysaccharide inner core, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2012**, *51*, p 3143–3146.

³⁷ J. Mas Pons, A. Dumont, G. Sautejeau, E. Fugier, A. Baron, S. Dukan, B. Vauzeilles, Identification of living *Legionella pneumophila* using species-specific metabolic lipopolysaccharide labeling, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2014**, *53*, p 1275–1278..

³⁸ M. Kamariza, P. Shieh, C.S. Ealand, J.S. Peters, B. Chu, F.P. Rodriguez-Rivera, M.R.B. Sait, W.V. Treuren, N. Martinson, R. Kalscheuer, B.D. Kana, C.R. Bertozzi, Rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* in sputum

with a solvatochromic trehalose probe, *Science Translational Medicine*. **2018**
<https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aam6310>.