

Les inhibiteurs de la pol-protéase du HIV

La *pol*-protéase, au même titre que la transcriptase inverse, apparaît comme une cible privilégiée de produits anti-HIV. En effet, en hydrolysant les polyprotéines précurseurs en protéines structurales et enzymatiques, elle contrôle de fait leur maturation et donc la production de particules infectieuses. Des inhibiteurs spécifiques de cette protéase constitueront par conséquent de potentiels agents antiviraux de grande valeur.

Roger Guedj
Roger Condom
Ayicoué Isidore Ayi
Thanh Thu Tran

La maturation complète du virus HIV1 dépend de la formation des éléments du virion, et en particulier, des protéines p17 et p24... du core du virus. Inhiber la *pol*-protéase, enzyme virale qui hydrolyse les précurseurs polyprotéiques viraux en protéines structurales et enzymatiques, revient à empêcher la production de particules infectieuses. Une étude, menée par Katoh *et al.* [1] sur le virus de la leucémie murine (MuLV), montre en effet qu'une formation incomplète du core du virus aboutit à des particules virales inoffensives. L'inhibition de la *pol*-protéase apparaît donc comme une stratégie de choix anti-HIV. La recherche des inhibiteurs de la *pol*-protéase est sous-tendue par la connaissance de sa structure spatiale, de son mécanisme d'action-particulièrement étudiés actuellement, et de celle concernant l'expression du provirus HIV.

Expression du provirus HIV

Le provirus HIV (*figure 1*) [2] comprend neuf gènes, dont huit sont identifiés à ce jour, encadrés d'élé-

ments appelés longues répétitions terminales (LTR) qui sont les séquences de contrôle de l'expression.

Le gène *gag* code pour les protéines de structure du HIV, p17 (matrice), p24 (capside), p15 (nucléocapside). Le gène *pol* code pour les enzymes qui interviennent dans le cycle répliatif : protéase p12, transcriptase inverse p51-56 (*rt*, *reverse transcriptase*) et intégrase p12 ; le gène *env* code pour les glycoprotéines de surface gp 120 et transmembranaire gp41. Les gènes *tat*, *rev* et *vif* interviennent probablement dans le réveil et la dissémination du virus HIV, tandis que *nef* le maintiendrait à l'état latent ; le gène *vpr* participe vraisemblablement à la sortie et à la maturation du virion [3], alors que la fonction du gène *vpr* n'est pas encore connue. La première étape de l'expression du HIV est la synthèse de l'ARN génomique dont le niveau est contrôlé par les protéines Nef (p27) qui inhibent la transcription tandis que *Tat* p14 stimule l'expression du HIV (*figure 2*). L'ARN primaire engendre, après son passage dans le cytoplasme, toute une série d'ARN messagers dits « sous-génomiques ». La traduction de l'ARN primaire permet la synthèse de précurseurs protéiques

ADRESSE

R. Guedj : professeur de chimie. R. Condom : maître de conférences. A.I. Ayi : maître de conférences. T.T. Tran : étudiant-chercheur. Université de Nice-Sophia Antipolis, laboratoire de chimie bio-organique, Parc Valrose, 06034 Nice Cedex, France.

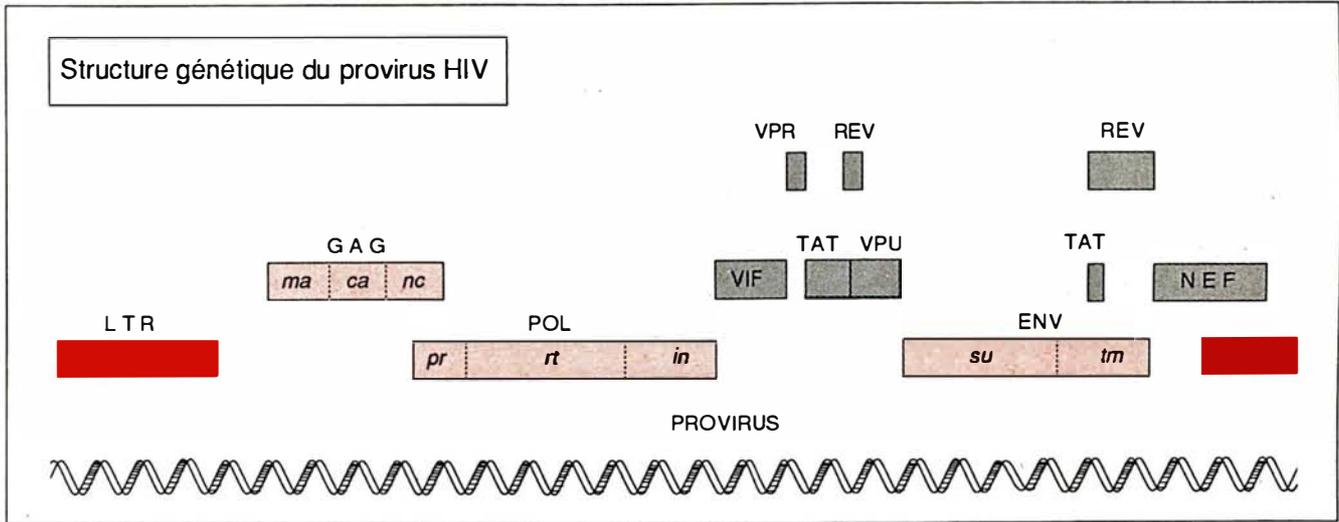


Figure 1. **Structure génétique du provirus HIV.** Le provirus HIV comprend neuf gènes — le gène POL code pour la protéase (pr), la transcriptase inverse (rt) et l'intégrase (in). La protéase, après s'être libérée, hydrolyse les protéines de structures (ma, ca, nc) et enzymatiques (pr, rt, in) codées respectivement par les gènes GAG et POL. Les inhibiteurs de la pol-protéase ont pour fonction d'empêcher ces hydrolyses.

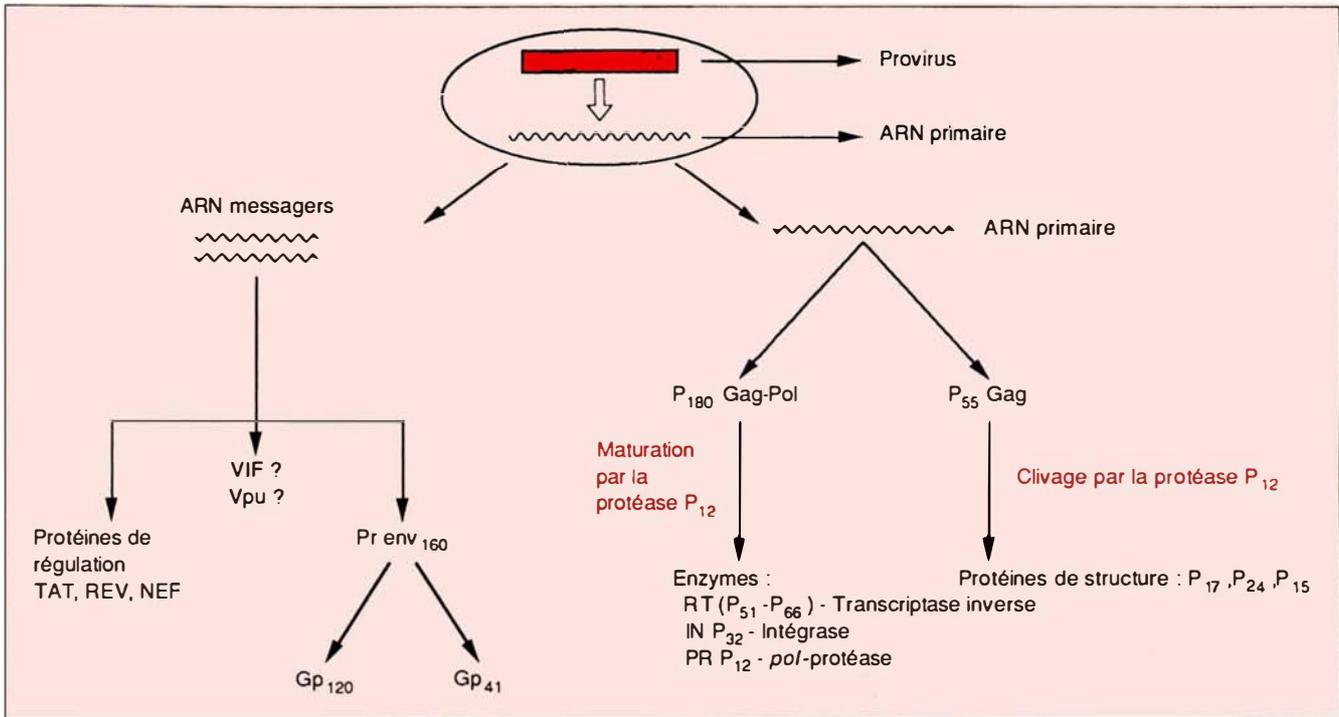


Figure 2. **Formation des constituants principaux du virus : enzymes et protéines membranaires.**

telles que la protéine 55 gag qui engendre les protéines de structure p17, p24, p15 et la protéine enzymatique Pr 180 gag-pol qui engendre la protéase p12, la transcriptase inverse p51-p66 et l'intégrase p32.

Les ARN messagers sous-génomiques codent d'une part pour les protéines de régulation Tat p14, Rev p12, Nef p27 et pour les protéines Vif et Vpu,

et d'autre part pour le précurseur protéique Pr env 160 ; ce dernier, grâce probablement à des protéases cellulaires, est clivé en Gp 120 de surface et Gp 41 transmembranaire. L'encapsidation de l'ARN génomique, qui se fait au détriment de tout autre ARN, est probablement sous le contrôle de la protéine p15. L'assemblage des nouveaux virions s'effectue

dans la membrane cellulaire ; puis le HIV bourgeonne vers l'extérieur de la cellule en emportant un fragment de membrane cellulaire. Ainsi constate-t-on que la pol-protéase spécifique du HIV joue un rôle décisif dans l'expression du virus. En hydrolysant respectivement la protéine p55 en protéines de structure p17, p24 et p15 et la protéine 180 en

protéines enzymatiques — transcriptase inverse, intégrase et *pol*-protéase —, elle contrôle de fait la maturation de ces protéines, justifiant ainsi tout l'intérêt que l'on peut porter à son inhibition sélective.

Structure de la *pol*-protéase

• Purification de l'enzyme

Deux méthodes ont été utilisées pour obtenir de la *pol*-protéase suffisamment pure pour autoriser des études structurales :

— l'expression des gènes codant pour cette enzyme, dans une bactérie appropriée (en général *E. Coli* ou *B. Subtilis*). Cette méthode est actuellement la plus utilisée [4-8] ;

— la synthèse chimique, effectuée par Schneider et Kent [9], qui permet d'obtenir rapidement et en quantité suffisante la protéase.

• Structure de la *pol*-protéase

La séquence nucléotidique du génome viral [10, 11] montre un chevauchement entre les domaines *gag* et *pol*. La *pol*-protéase tire son nom de la situation en 5' du gène *pol* de la séquence qui en dirige la synthèse [12-14]. Cette séquence codante est relativement courte, ce qui conduit à une protéine de faible poids moléculaire (10 kDa) formée de 99 acides aminés [9, 12]...

(PQITLWQRPLVTIKIGGQL-KEALLDTGADDTV-LEEMSLPGRWPKPKMIGGIGGFIKVRQYDQILIEIGGIKAIGTVLVGPTPVNHGRNLLTQIGCPLNF).

Elle renferme l'enchaînement DTG (acide aspartique, thréonine, glycine), caractéristique des enzymes du groupe aspartique.

Pearl et Taylor [14], par analogie avec une série de protéases du groupe aspartique ou d'autres rétrovirus, et à la suite de différents calculs sur des angles de valence, des longueurs de liaisons, etc., ont proposé un modèle tri-dimensionnel. Selon ces auteurs, la protéine, de faible poids moléculaire, serait active sous forme dimérique (figure 3). Plus récemment, Kent *et al.* [15] ont confirmé, en y apportant quelques modifications, la forme dimérique dont les structures spatiale et secondaire sont représentées dans les figures 4 et 5.

Les résidus thréonine de chaque monomère peuvent se lier au substrat, grâce à leurs groupements hydroxyles, permettant le positionnement des résidus acides aspartiques avec leurs fonctions acides respectives qui semblent à l'origine de l'activité hydrolytique de l'enzyme [14, 16], sur laquelle nous reviendrons. Notons que McKeever *et al.* [17] sont parvenus à cristalliser l'enzyme sous forme d'une bipyramide trigonale ; l'analyse aux rayons X qui en a été effectuée ne contredit pas l'hypothèse de la forme dimérique proposée par Pearl et Taylor [14] et reprise par Kent *et al.* [15]. Signalons par ailleurs qu'une étude comparative [15, 18] avec la protéase du virus de Rous montre que cette dernière se présente aussi sous forme d'un dimère mais avec des différences notables par rapport à la *pol*-protéase.

On dispose ainsi d'une molécule dont l'analyse structurale suggère qu'elle présente un tunnel formé entre les deux monomères qui la constituent. Cette structure permet d'imaginer des inhibiteurs constitués de petits peptides qui, en se glissant dans ce tunnel, viendraient bloquer les sites actifs situés à ce niveau.

Activité de la *pol*-protéase

• Appartenance particulière au groupe aspartique

L'activité enzymatique de la *pol*-protéase est testée sur un substrat synthétique comportant les sites de clivage attendus, ou sur la protéine p55 purifiée du virus [1, 6, 12]. Rappelons que cette activité est liée à la séquence DTG qui fait que cette enzyme appartient au groupe des protéases à acide aspartique. Afin de démontrer le rôle fondamental du résidu acide aspartique, Seelmeier *et al.* [19] ainsi que Loeb *et al.* [13] ont remplacé ce résidu par l'asparagine (forme non carboxylée) et constaté que l'activité enzymatique était complètement abolie. On peut aussi noter le rôle important joué par le groupement OH de l'acide carboxylique puisque sa seule substitution par un groupement NH₂ inhibe l'activité de la *pol*-protéase (figure 6). Tout naturellement, pour renforcer l'idée de l'appartenance de la *pol*-protéase au groupe aspartique, ces auteurs [9, 13] ont tenté d'inhiber la *pol*-protéase par

RÉFÉRENCES

1. Katoh I, Yasugana T, Ikawa Y, Yoshinaka Y. Inhibition of retroviral protease activity by an aspartyl proteinase inhibitor. *Nature* 1987 ; 329 : 654-6.

2. Darlix JL. Nouvelle perspective en chimiothérapie anti-rétrovirale. *médecine/sciences* 1989 ; 5 : 213-9.

3. Terwilliger EF, Cohen EA, Lu Y, Sodrosky JG, Haseltine WA. Functional role of human immunodeficiency virus type 1 *vspu*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989 ; 86 : 5163-7.

4. Debouck C, Gorniak JG, Strickler JE, Meek TD, Metcalf BW, Rosenberg M. Human immunodeficiency virus protease expressed in *Escherichia coli* exhibits autoprocessing and specific maturation of the *gag* precursor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987 ; 84 : 8903-6.

5. Giam CZ, Boros I. *In vivo* and *in vitro* autoprocessing of immunodeficiency virus protease expressed in *Escherichia coli*. *J Biol Chem* 1988 ; 263 (29) : 14617-20.

6. Hansen J, Billich S, Schulze T, Sukrow S, Moelling K. Partial purification and substrate analysis of bacterially expressed HIV protease by means of monoclonal antibody. *EMBO* 1988 ; 7 (6) : 1785-91.

7. Kolh NE, Emini EA, Schleif WA, *et al.* Active human immunodeficiency virus protease is required for viral infectivity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988 ; 85 : 4686-90.

8. Mous J, Heimer EP, Le Grice SFJ. Processing protease and reverse transcriptase from human immunodeficiency virus type I polyprotein in *Escherichia Coli*. *J Virol* 1988 ; 62 (4) : 1433-6.

9. Schneider J, Kent SBH. Enzymatic activity of a synthetic 99 residue protein corresponding to the putative HIV-1 protease. *Cell* 1988 ; 54 : 363-8.

10. Sanchez Pescador R, Power MD, Barr PJ, *et al.* Nucleotide sequence and expression of an AIDS-associated retrovirus (ARV-2). *Science* 1985 ; 227 : 484-92.

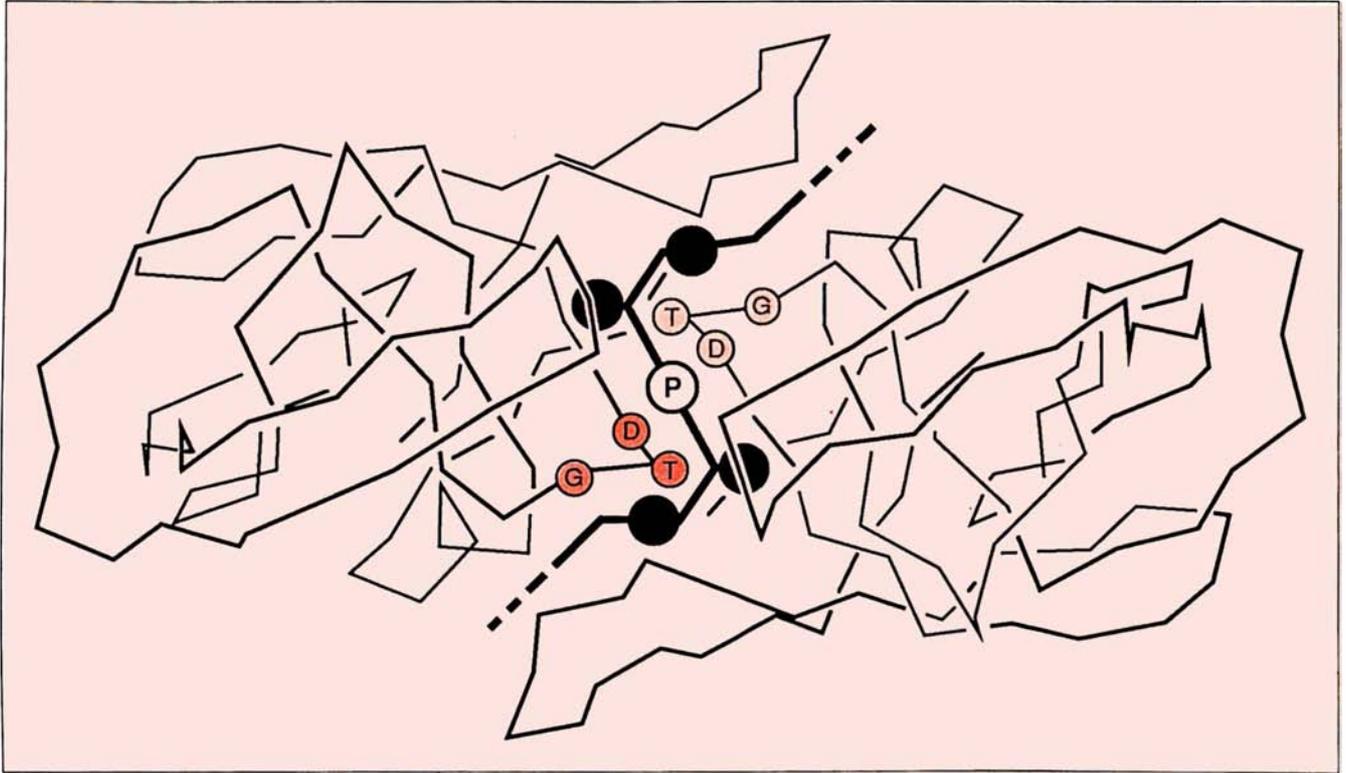


Figure 3. **Dimère de la pol-protéase.** DTG (site actif). P = peptide substrat. On remarque la disposition favorable des deux résidus aspartiques (notés D) pour l'hydrolyse du substrat.

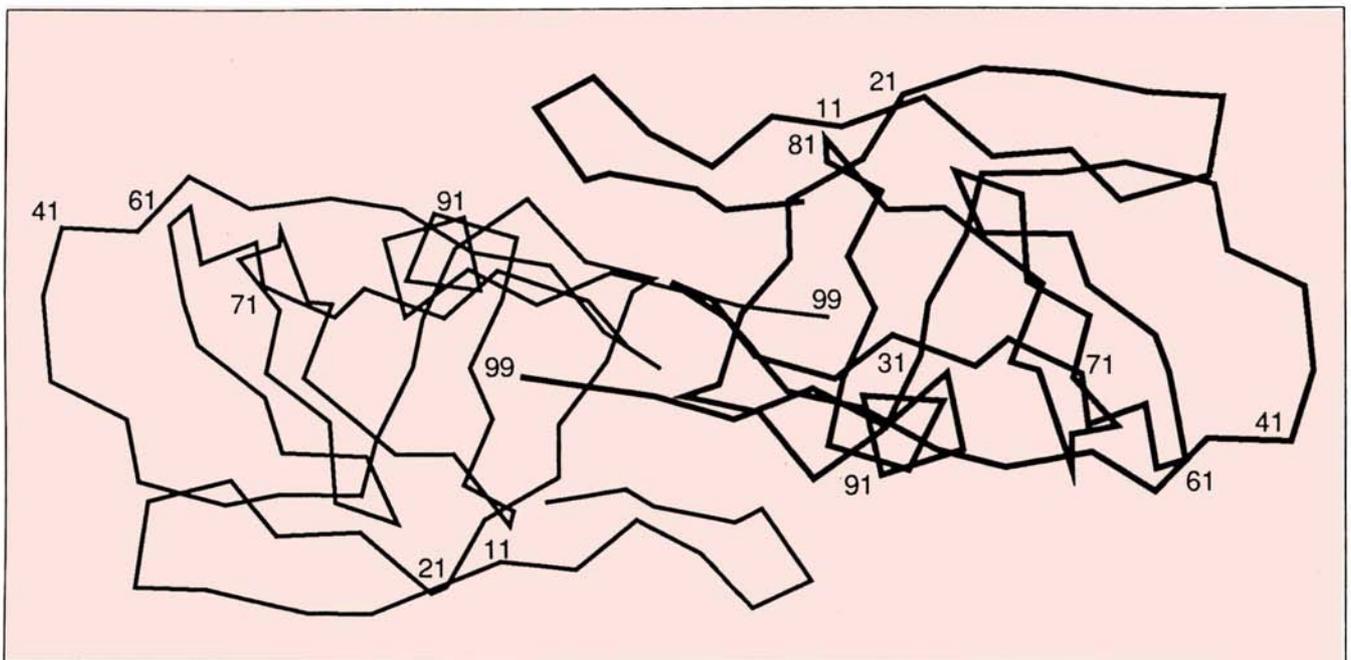


Figure 4. **Une vue du squelette C du dimère de la pol-protéase du HIV-1** dans une orientation qui accentue les interactions à l'interface du dimère.

RÉFÉRENCES

11. Ratner L, Haseltine W, Patarca R, *et al.* Complete nucleotide sequence of the AIDS virus, HTLV-III. *Nature* 1985 ; 313 : 277-83.
12. Darke PL, Nutt RF, Brady SF, *et al.* HIV-1 protease specificity of peptide cleavage is sufficient for processing of gag and pol polyproteins. *Biochem Biophys Res Com* 1988 ; 156 (1) : 297-303.
13. Loeb DD, Hutchinson GA, Edgell MH, Farmerie WG, Swanstrom R. Mutational analysis of human immunodeficiency with aspartic protease. *J. Virol* 1989 ; 63 (1) : 111-21.
14. Pearl LH, Taylor WR. A structural model for the retroviral proteases. *Nature* 1987 ; 329 : 351-4.
15. Wlodawer A, Miller M, Jaskolski M, *et al.* Conserved folding in retroviral protease : crystal structure of a synthetic HIV-1 protease. *Science* 1989 ; 245 : 616-21.
16. Blundell T, Pearl L. A second front against AIDS. *Nature* 1989 ; 337 : 596-7.
17. McKeever BM, Navia MA, Fitzgerald PMD, *et al.* Crystallization of the aspartyl-protease from the human immunodeficiency virus, HIV-1. *J Biol Chem* 1988 ; 264 (4) : 1919-21.
18. Miller M, Jaskolski M, Rao MJK, Leis J, Wlodawer R. Crystal structure of a retroviral protease proves relationship to aspartic protease family. *Nature* 1989 ; 337 : 576-9.
19. Seelmeir S, Schmidt H, Turk V, von der Helm K. Human immunodeficiency virus has an aspartic-type protease that can be inhibited by pepstatin A. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988 ; 85 : 6612-6.

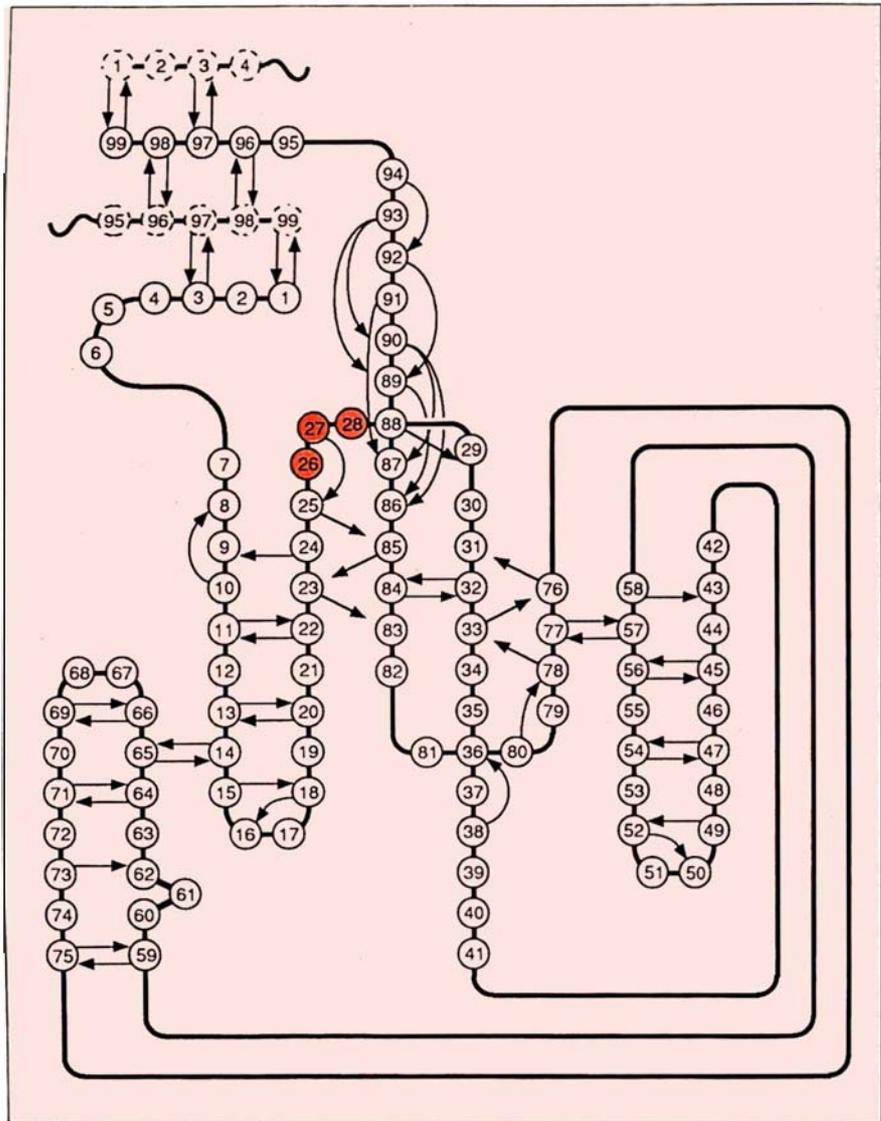


Figure 5. **Structure secondaire de la protéase du HIV-1** : les liaisons hydrogène sont indiquées par des flèches ; le site actif (Asp-Thr-Gly) par des cercles rouges (26, 27, 28) ; les cercles en pointillés correspondent aux résidus à l'interface du dimère.

la pepstatine A, considérée comme l'inhibiteur spécifique de cette classe de protéases (rénine, pepsine...) ; soulignons que la *pol*-protéase est mise à la fois en présence de la protéine précurseur p55 et de l'inhibiteur dont on jugera l'efficacité par rapport à l'apparition des protéines p17 et p24 provenant de l'hydrolyse de p55.

Dans le même ordre d'idées, Katoh *et al.* [1] ont comparé l'activité des protéases du groupe aspartique et celle des rétrovirus (RSV, HTLV-I,

HTLV-II...), tandis que des études récentes similaires [4, 13, 19, 20] ont été menées sur la *pol*-protéase.

Deux points importants émergent de ces études :

- la *pol*-protéase est bien une enzyme du groupe aspartique ;
- on ne peut assimiler la *pol*-protéase à une simple enzyme de ce groupe, puisque la concentration de pepstatine A utilisée pour l'inhiber est nettement supérieure à celle employée pour bloquer les autres protéases à acide aspartique.

RÉFÉRENCES

20. Billich S, Knoop MT, Hansen J, Strop P, Sedlacek J, Mertz R, Moelling K. Synthetic peptides as substrates and inhibitors of human immunodeficiency virus-1 protease. *J Biol Chem* 1988 ; 263 (4) : 17905-8.

21. Jacks T, Power MD, Masiarz FR, Luciw PA, Barr PJ, Varmus HE. Characterization of ribosomal frameshifting in HIV-1 *gag-pol* expression. *Nature* 1988 ; 331 : 280-3.

22. Kotler M, Katz RA, Danho W, Leis J, Skalka AM. Synthetic peptides as substrates and inhibitors of a retroviral protease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988 ; 85 : 4185-9.

23. Pearl LH. The catalytic mechanism of aspartic proteinase. *Febs Letters* 1987 ; 214 (1) : 8-12.

24. Moore ML, Bryan WM, Fakhoury SA, et al. Peptide substrates and inhibitors of the HIV-1 protease. *Biochem Biophys Res Comm* 1989 ; 159 (2) : 420-5.

25. McKeever BM, Navia MA, Fitzgerald PMD, et al. Crystallization of the aspartyl-protease from the human immunodeficiency virus, HIV-1. *J Biol Chem* 1988 ; 264 (4) : 1919-21.

26. Navia MA, Fitzgerald PMD, McKeever BM, et al. Three dimensional structure of aspartyl protease from human immunodeficiency virus HIV-1. *Nature* 1989 ; 337 : 615-20.

27. McQuade TJ, Tomasselli AG, Liu L, et al. A synthetic HIV-1 protease inhibitor with antiviral activity arrests HIV-like particle maturation. *Science* 1990 ; 247 : 454-6.

28. Meek TD, Lambert DM, Dreyer GB, et al. Inhibition of HIV-1 protease in infected T-lymphocytes by synthetic peptide analogues. *Nature* 1990 ; 343 : 90-2.

29. Roberts NA, Martin JA, Kinchington AV, et al. Rational design of peptide based HIV proteinase inhibitors. *Science* 1990 ; 248 : 358-61.

30. Bey P. « Pro-drugs » activées spécifiquement par le récepteur cible : inhibiteur enzymatique du type Kcat. *Sci Techn pharm* 1978 ; 7 (4) : 171-6.

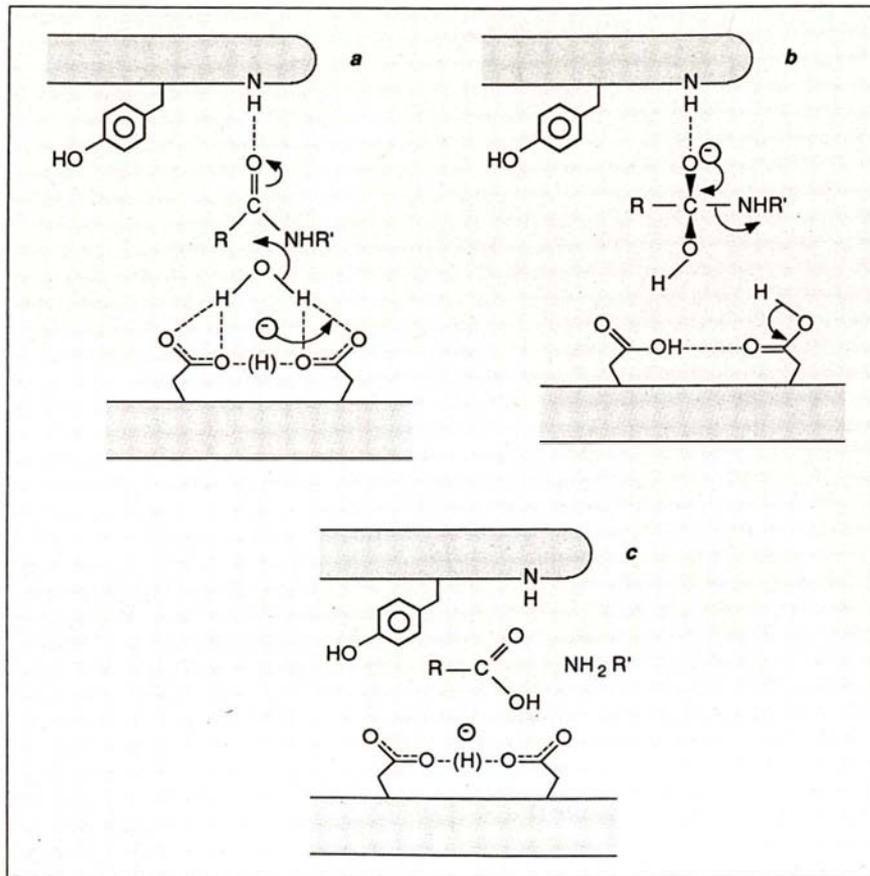


Figure 9. **Mécanisme d'hydrolyse des enzymes du groupe acide aspartique** : (a) fixation d'une molécule d'eau ; (b) formation du complexe tétraédrique ; (c) hydrolyse de la liaison peptidique.

fonction de contribuer à perturber ou mieux à empêcher cette hydrolyse.

Les inhibiteurs de la pol-protéase

• Concepts sous-jacents à la mise au point d'inhibiteurs

Toute approche sur la mise au point d'inhibiteurs d'enzymes doit satisfaire à une triple contrainte particulièrement sévère [30] :

- L'inhibiteur doit être aussi proche que possible du substrat naturel ;
- la molécule doit être relativement stable pour éviter les interactions non spécifiques avec les bio-récepteurs ;
- l'inhibiteur doit contenir un groupe latent susceptible d'inactiver le site actif de l'enzyme.

Dans le cas de la pol-protéase et sur la base des considérations précédentes, on peut imaginer que les peptides correctement modifiés représen-

teront une famille chimique adaptée à ce type de recherche.

Deux méthodes sont possibles :

- soit substituer un ou plusieurs acides aminés du substrat naturel, par d'autres acides aminés ;
- soit modifier la liaison peptidique en vue d'obtenir des pseudopeptides qui auraient pour fonction de se substituer au substrat naturel et d'empêcher — éventuellement — l'hydrolyse (voir exemples figure 10).

Ces peptides pourraient servir de modèle à l'élaboration de médicaments qui exigent alors que soient résolus les problèmes de stabilité, de biodisponibilité et de ciblage *in vivo*. L'une des approches pourrait être de les protéger par encapsulation à l'aide de membranes semi-perméables.

• Résultats préliminaires

La pepstatine A, inhibiteur spécifique du groupe des protéases aspartiques,

a été tout naturellement testée [1, 5, 6, 9, 12, 19, 20, 22] sur la *pol*-protéase.

Malheureusement, elle inhibe cette enzyme à des concentrations trop élevées, atteignant 1 mM *in vivo*, pour parvenir à une inhibition totale (concentration de demi-inhibition, ou IC50 = 2,5 10⁻⁴ M). Ce faible pouvoir inhibiteur de la pepstatine A, dont le IC50 est habituellement de 10⁻⁸ M, conforte les prédictions de Katoh [1] sur les différences notables existant entre les protéases des rétrovirus et celles du groupe aspartique. Dans le même ordre d'idées, l'anti-païne et la leupeptine, inhibiteurs respectifs des protéases du groupe cystéine et sérine, ne montrent pas la moindre activité inhibitrice [1, 9].

Dark *et al.* [12], en étudiant la vitesse d'hydrolyse de la liaison p17-p24 (Tyr-Pro), ont mis l'accent sur un point capital relatif à la longueur minimale du peptide reconnu par la *pol*-protéase. A savoir qu'un heptapeptide suffit pour être reconnu par l'enzyme. Cela fut confirmé par Billich *et al.* [20], dont les données expérimentales sont reproduites dans le Tableau I. On dispose là d'une donnée essentielle pour l'élaboration d'inhibiteurs de la *pol*-protéase, qui bien évidemment a été exploitée par Billich, *et al.* [20] qui ont décrit quelques inhibiteurs, malheureusement peu efficaces, obtenus par modification de la liaison Phe-Pro (liaison réduite ou substitution d'un acide aminé par la statine*).

Il faut cependant remarquer que ces substrats ont été mis en présence d'une protéase purifiée et non « naturelle ».

Kotler *et al.* [22] ont mené une étude sur la protéase de l'ASLV (*avian sarcoma leucosis virus*) qui possède la même spécificité que la *pol*-protéase vis-à-vis de la liaison Phe/Tyr-Pro (Tableau II). On peut noter que la substitution du résidu Tyr par Ile dans le peptide I (Tableau II) a pour effet de bloquer l'activité enzymatique, tandis que le peptide II, qui n'est pourtant qu'un hexapeptide,

* Statine : acide (3S, 4S) 4-amino 3-hydroxy 6-méthylheptanoïque.

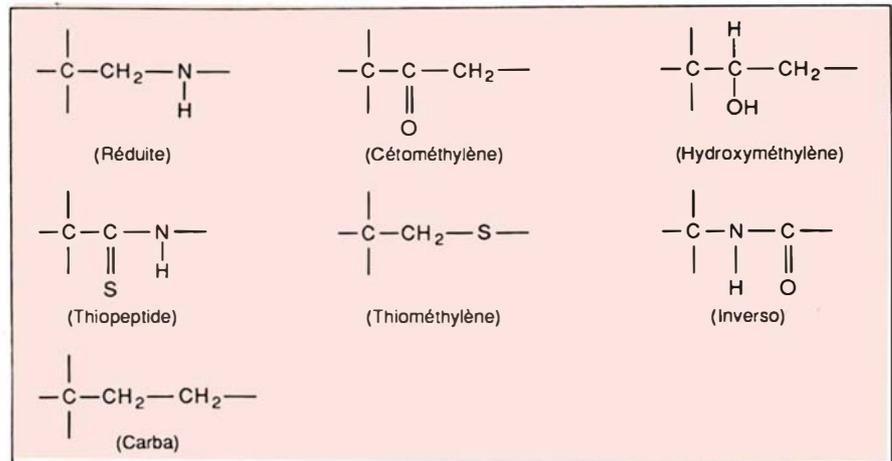


Figure 10. Quelques exemples de modifications possibles au niveau de la liaison peptidique -CO-NH- : (a) réduction du C=O en CH₂ : réduite ; (b) substitution du N-H par CH₂ : cétométhylène ; (c) réduction du C=O en OH : hydroxyméthylène ; (d) Substitution du C=O en C=S : thiopeptide ; (e) réduction du C=O en CH₂ et NH remplacé par le soufre : thiométhylène ; (f) inversion de la liaison peptidique ; (g) remplacement de la liaison peptidique CO-NH par le groupement CH₂-CH₂ : carba.

RELATION ENTRE LA LONGUEUR DU PEPTIDE ET LA VITESSE D'HYDROLYSE LA VITESSE MAXIMALE D'HYDROLYSE EST ATTEINTE PAR UN OCTAPEPTIDE	
Séquence	Vitesse relative d'hydrolyse
HSSQVSNQY-PIVQNI	1,0
VSQNY-PIV	1,0
SQNY-PIVQ	0,95
SQNY-PIV	< 0,90
SQNY-PI	< 0,05
QNY-PIV	< 0,10
Acetyl-QNY-PIV	< 0,10

SUBSTRATS DE LA PROTÉASE DE L'ASLV	
Peptides non modifiés	H-Thr-Phe-Glu-Ala-Tyr-Pro-Leu-Arg-Glu-Ala-OH
Peptides inhibiteurs (I)	Thr-Phe-Glu-Ala-Ile-Pro-Leu-Arg-Glu
(II)	Ac-Glu-Ala-Tyr-Pro-Leu-Arg-NH ₂

possède des propriétés inhibitrices, infirmant ainsi les observations de Dark et Billich sur la longueur minimale à sept chaînons du peptide inhibiteur. La protéase de l'ASLV pourrait cependant ne pas constituer un bon modèle de la *pol*-protéase HIV 1. Enfin, et plus récemment, dans un remarquable travail sur la séquence Ser-Gln-Asn-Tyr-Pro qui représente la jonction p17-p24, Moore *et al.* [24] ont confirmé, en les renforçant, l'ensemble des points précédemment développés, à savoir :

— la *pol*-protéase, qui est une endopeptidase, appartient à la classe des protéases acides du groupe acide aspartique ;

— en allongeant progressivement la chaîne à partir de la proline, la longueur optimale de reconnaissance est associée à un heptapeptide (Tableau III) ;

— l'utilisation de substrat artificiel type tyrosine ou phénylalanine réduites conduit à des inhibiteurs dont le K_i est malheureusement relativement élevé (figure 11).

Conclusion

La *pol*-protéase apparaît comme une cible privilégiée anti-HIV.

De petits peptides modifiés de l'ordre de sept acides aminés peuvent être considérés comme de bons substrats ; leur faible taille leur assure une certaine flexibilité qui leur permet de pénétrer dans le tunnel du dimère de la *pol*-protéase. En s'adaptant au site actif de l'enzyme, il leur est possible d'entrer en compétition avec les protéines naturelles, p55 par exemple.

Les modifications apportées au niveau des sites de coupure des liaisons Tyr/Phe-Pro, qui concernent aussi bien les protéines p17-p24 que la liaison entre la *pol*-protéase et la transcriptase inverse, apparaissent comme une stratégie de choix dans la mise au point d'inhibiteurs de la *pol*-protéase, préalable à toute conception de médicaments orientés contre cette enzyme.

La cristallisation de la *pol*-protéase [25] et la résolution de sa structure spatiale [26] — qui permettent de préciser la configuration et la géométrie du site actif, la détermination du site antigénique ainsi que la

Tableau III
PARAMÈTRES CINÉTIQUES DE DIVERS SUBSTRATS DE LA *POL*-PROTÉASE

Peptide	K_m^a	V_{max}^b	V_{max}/K_m^c
1 Ac-Ser-Gln-Asn-Tyr-Pro-NH ₂	neg		
2 Ac-Ser-Gln-Asn-Tyr-Pro-Val-NH ₂	4,9 ± 0,7	1,2 ± 0,13	0,24 ± 0,03
3 Ac-Ser-Gln-Asn-Tyr-Pro-Val-Val-NH ₂	7,5 ± 1,3	148 ± 25	20 ± 1
4 Ac-Ser-Gln-Asn-Phe-Pro-Val-Val-NH ₂	7,5 ± 1,0	28 ± 3	3,8 ± 0,4
5 Ac-Ser-Gln-Asn-Tyr-Pro-Val-Val-Gln-Asn-NH ₂	2,3 ± 0,6	7,5 ± 1,2	3,3 ± 0,5
6 Ac-Arg-Ala-Ser-Gln-Asn-Tyr-Pro-NH ₂	neg		
7 Ac-Arg-Ala-Ser-Gln-Asn-Tyr-Pro-Val-Val-NH ₂	5,5 ± 0,3	160 ± 4	29 ± 2

K_m : constante d'affinité ; V_{max} : vitesse maximale d'hydrolyse.
^amM ; ^bnmol.min⁻¹.μg⁻¹ ; ^c(nmol.min⁻¹.μg⁻¹.mM⁻¹) × 10⁻³.

Paramètres cinétiques d'inhibiteurs de la *pol*-protéase

Peptide	Séquence	K_i (mM)
11	Ac-Ser-Gln-Asn-(3RS, 4S)AHPA-Val-Val-NH ₂ ^a	39 ± 6
12	Ac-Ser-Gln-Asn-Tyr(R)Pro-Val-Val-NH ₂	13 ± 1
13	Ac-Ser-Gln-Asn-Phe(R)Pro-Val-Val-NH ₂	14 ± 2

^a mélange de diastéréoisomères



Figure 11. Paramètres cinétiques des inhibiteurs de la *pol*-protéase : quelques peptides inhibiteurs avec la configuration absolue des résidus tyrosine et phénylalanine. Tyr (R) et Phe (R) = Tyr et Phe réduites.

structure tridimensionnelle de la protéine p24 — sont autant de résultats encourageants en vue de la préparation d'inhibiteurs plus spécifiques. Ces concepts viennent de trouver leur confirmation dans les travaux récents et remarquables de mise au point d'inhibiteurs peptidiques spécifiques ayant une activité antivirale effective [27-29] ■

Remerciements

Notre travail sur les inhibiteurs de la *pol*-protéase poursuivi au laboratoire bénéficie du soutien financier de l'Agence nationale de recherches sur le SIDA et des contacts fructueux établis au cours des réunions scientifiques organisées par son président, le professeur J.-P. Lévy. Nos remerciements s'adressent aussi au Conseil Général des Alpes Maritimes ainsi qu'au Conseil Régional financier PACA pour leur soutien financier.

Summary

The inhibitors of the HIV-1 *pol*-protease

Inhibition of retroviral proteases such as HIV-1 protease may provide a novel and potentially powerful therapeutic approach for the treatment of AIDS and related diseases. Small modified peptides of seven aminoacids for example could be considered as good substrates ; their small size gives some flexibility which allows them to enter into the tunnel of the dimer of the *pol*-protease. Fitting the active site of the enzyme, they could competitively inhibit it. The modifications on the cleavage sites of Tyr/Phe-Pro bonds, which concern the proteins p17-p24, and on the other hand the linkage between the *pol*-protease and the reverse transcriptase, appear to be a good strategy in the research of inhibitors of the *pol*-protease, the first step in the conception of drugs against this enzyme. The cristallization of the *pol*-protease, the knowledge of its spatial structure which give good indications about the active site, the determination of antigenic site and the three-dimensional structure of p24 protein are the hopeful results to prepare more specific inhibitors.

TIRÉS A PART

R. Guedj.

m/s n° 6 vol. 6, juin 90