

Chimiothérapie antivirale

La chimiothérapie antivirale est l'utilisation thérapeutique de molécules chimiquement synthétisées capables d'interférer avec le métabolisme du virus pour inhiber plus ou moins complètement son cycle de multiplication.

Cibles de la chimiothérapie antivirale

Les différentes étapes de la multiplication virale sont les cibles potentielles pour les antiviraux.

Les antiviraux peuvent être classés selon leurs cibles, de l'attachement aux étapes finales de la multiplication virale.

La plus part de ceux qui sont actuellement disponibles agissent sur la phase de:

- Transcription inverse
- Réplication virale
- Assemblage des virus
- Libération des virus

La classification des molécules antivirales selon leur mode d'action

Attachement:

Il s'agit des récepteurs ou des corécepteurs spécifiques pour l'attachement du virus:

Récepteurs:

- Oligopeptide T (riche en thréonine) qui reproduit la

séquence d'attachement de la Gp120 sur le CD4

- CD4 tronquée: (par recombinaison génétique) reproduisant la séquence d'attachement du récepteur de CD4 des lyT CD4+ à la Gp 120 du VIH (molécule soluble)

Les essais in vivo de ces molécules leurres ont montré leur faible affinité pour leurs substrats

Les corécepteurs:

Le principe est l'inhibition des Corécepteurs CCR5, CXCR4, mais leur origine naturelle pose le problème des effets secondaires, en revanche l'intérêt de cette voie demeure important chez les personnes ayant un CCR5 défectueux par délétion à l'état homozygote sont résistants à l'infection au VIH – tropisme macrophagique

Fusion – pénétration:

Les inhibiteurs de la fusion: récemment apparus:

- T20 = pentafuside
- T1249

Ces molécules bloquent la fusion de l'enveloppe virale sur la membrane cellulaire qui se fait grâce à la Gp 41

La T20 a une activité antivirale in vitro qui semble être confirmée in vivo par des essais en cours

La décapsidation:

- Amantadine
- Rimantadine

Traitement préventif de la grippe A inactif sur la grippe B

Ces molécules agissent sur la pompe à protons de la protéine M2 des virus de la grippe A en empêchant l'acidification à l'intérieur et la décapsidation et la libération du génome

- Chalcone à traitement des infections à Rhinovirus
- Arildone à traitement des infections à Picornavirus

Ils se fixent sur la capside qu'ils stabilisent à l'excès (doses élevées) et empêchent la décapsidation

Inconvénients:

Emergence rapide des mutants résistant à ces molécules

Les nouveaux virus de la grippe (aviaire H₅N₁, porcine H₁N₁) sont résistants

Réplication:

En fonction des familles de virus, la synthèse des Acides nucléiques viraux nécessite des enzymes présentes uniquement dans les cellules infectées et codées par le génome viral:

- ADN polymérase
- Réverse transcriptase

* * Les analogues nucléosidiques: caractères et modes d'action:

Caractères:

Ils se distinguent des nucléosides naturels par modification de leur sucre ou la base purique ou pyrimidique

Comme les nucléosides, ils doivent être phosphorylés pour être activés, ils sont donc triphosphorylés pour exercer leur activité antivirale sur l'ADN polymérase

Ces phosphorylations sont assurées par des enzymes:

- Cellulaire (kinases)
- Virales (thymidine kinase) chez HSV et VZV, phosphotransférase du CMV

C'est la première phosphorylation qui est assurée par les

enzymes virales, sans laquelle l'antiviral reste inactif

Mode d'action:

Il se fait de diverses façons souvent additives:

- Compétition avec le substrat naturel de l'enzyme
- Encombrement stérique du site actif de l'enzyme
- Incorporation de l'antiviral dans la chaîne d'ADN en voie de formation à blocage
- Blocage de l'élongation par incapacité de fixer un autre nucléoside sur l'analogue artificiel

Les Molécules

Anti HSV, VZV, CMV:

- Acycloguanosine
- DHPG (dihydroxy propoxy méthyl guanine) pour CMV
- Trifluorothymidine HSV, VZV

Nouvelles:

- Penciclovir
- Famciclovir

Anti HIV:

- Zidovudine (AZT)
- Didanosine (ddI)

Anti HBV, HIV (RT):

- Lamivudine

Anti HBV (RT)

- Entecavir

Dérivés de phosphates:

- Foscarnet

Analogues non nucléosidiques:

Ils agissent non pas sur le substrat comme le font NRTI, mais en bloquant de manière allostérique un site de liaison différent appelé site de liaison des NNRTI ou « poche »

Ils inhibent très spécifiquement la reverse transcriptase du VIH1 mais pas celle du VIH2 et du VIH 0

- Nevirapine
- Delavirdine
- Efavirenz

ARN messagers:

- Ribaverine= analogue de la guanosine

** Etapes finales de la multiplication:

La protéase:

Anti VIH et une aspartyl protéase, elle est essentielle à la production de virus infectieux puisqu'elle clive le précurseur polypeptidique gag – pol et individualise dans pol les protéases, intégrase, et RT

Des peptides synthétiques (anti protéases):

Mimant le site de clivage de l'enzyme et l'inhiber sans agir sur les protéases cellulaires

Les inhibiteurs des protéases très spécifiquement la protéase du VIH1, VIH2 avec index thérapeutique élevé:

- Indinavir
- Ritonavir
- Saquinavir
- Nelfinavir

Inhibiteurs de la libération:

Inhibition de l'activité des Neuraminidases des virus

influenzae A, B (grippe)

La neuraminidase intervient à la fin du cycle pour cliver les résidus d'acide sialique qui sont des récepteurs aux virus

Ainsi elle libère les virions néoformés après le bourgeonnement

Les inhibiteurs de la neuraminidase empêchent le détachement des virions néoformés en restant attachés aux récepteurs (acide sialique)

- Zanamivir
- Oseltamivir

Action préventive et curative sur la grippe A, B

La sélection de mutants résistants paraît rare à ces molécules contrairement à l'amantadine et la Rimantadine

Les obstacles de la chimiothérapie antivirale:

- Cytotoxicité: interférence avec le métabolisme cellulaire
- Latence: incapacité des antiviraux à éradiquer l'infection latente qui échappe même aux défenses immunitaires
- Résistance: Emergence de souches résistantes par mutation



Virus de la marbrure de niébé

Le virus de la marbrure du niébé (CPMV) a été la particule virale la plus étudiée dans le cadre d'un étalage polyvalent utilisant la conjugaison chimique. Le CPMV, de la famille des Comoviridae, est un virus non enveloppé avec un génome à ARN simple brin en deux parties (tableau 1). Chacune des deux molécules d'ARN génomique est encapsidée séparément dans des particules de virus individuelles avec des structures de capsides identiques (co-cristallisantes). Le produit du gène ARN 1 code pour la machinerie de réplication et est la plus grande des deux molécules d'ARN. L'ARN 2 code à la fois les protéines de capsides et de mouvement (Lomonossoff et Johnson 1991, Stauffacher et al., 1987). L'encapsidation des deux molécules d'ARN de taille différente donne lieu à des particules de densités légèrement différentes, que l'on peut séparer en utilisant des gradients de saccharose ou de chlorure de césium, et sont par conséquent désignées sous le nom de composants de milieu et de fond. Les capsides dépourvues d'ARN (qui constituent moins de 5% des particules de CPMV naturel) ont la densité la plus faible et sont appelées composants supérieurs (Bruening et Agrawal, 1967). Compte tenu de l'abondance relative de ces composants, le poids moléculaire moyen du CPMV isolé de son hôte (*Vigna unguiculata*) est de 5.6×10^6 daltons. Des clones infectieux de l'ARN 1 et de l'ARN 2 sont disponibles, et permettent de réaliser des mutations dirigées vers le site ou des insertions peptidiques dans les protéines de capsides (Dessens et Lomonossoff, 1993, Lomonossoff 1996, Lin et al., 1996). Il est nécessaire d'avoir des copies d'ADNc à la fois de l'ARN1 (pCP1) et de l'ARN2 (pCP2) pour qu'une infection soit produite dans les plantes.

Table 1 Statistiques vitales sur le virus de la marbrure de niébé

			Capsid protein	
	No. of nucleotides	MW	No. of amino acids	MW
RNA 1	5889	2.01×10^6	L subunit 374	41,249
RNA 2	3481	1.22×10^6	S subunit 213	23,708
Virus components	RNA	MW		
Top	None	3.94×10^6		
Middle	RNA 2	5.16×10^6		
Bottom	RNA 1	5.98×10^6		

Les protéines de la capsid du CPMV

Les protéines de revêtement de la capsid de CPMV sont produites sous la forme d'un polypeptide de fusion qui est séparé par clivage protéolytique, générant la petite sous-unité de 23 kDa et la grande sous-unité de 41 kDa. Soixante copies des deux grandes et petites sous-unités se réunissent pour former une capsid icosaédrique qui entoure l'ARN génomique. La structure cristalline initiale a été observée à une résolution de 3,5 Å (Stauffer et al., 1987) puis plus tard raffinée à une résolution de 2,8 Å (Lin et al., 1999). Les capsides de CPMV ont un diamètre moyen de 30 nm, avec une épaisseur de capsid de seulement 12 Å. La topologie de surface de la capsid du CPMV est caractérisée par des protubérances aux axes de symétrie cinq et trois et une vallée au double axe de symétrie (figure 3).

La structure secondaire de la capsidie CPMV est dominée par des domaines β -sandwich non homologue, deux dans la grande sous-unité et un dans la petite sous-unité. Les capsides CPMV ont un réseau de surface pseudo-T = 3, dans lequel chaque domaine β -sandwich occupe la position spatialement équivalente dans une capsidie T = 3. Le seul domaine de la petite sous-unité se regroupe autour de l'axe de symétrie quintuple, alors que les deux domaines de la grande sous-unité sont regroupés au double axe de symétrie (figure 3). Ce type d'information structurale détaillée est essentiel pour comprendre comment l'environnement local d'un acide aminé affecte sa réactivité et est la principale raison pour laquelle seules les particules de virus qui ont été caractérisées par la cristallographie des rayons X ont été choisies pour l'exploitation chimique.

Propriétés physiques du CPMV

Le CPMV présente également la plupart des autres caractéristiques avantageuses énumérées ci-dessus pour les virus chimiquement adaptés. Comme le virus se propage efficacement dans les plantes, la mise à l'échelle est relativement facile: on peut isoler des quantités de particules de gramme à partir d'un kilogramme de tissu de feuille infecté (Lomonosoff et Johnson, 1991). Les particules de virus CPMV sont assez stables dans une large gamme de conditions de pH et de température; par exemple, les particules de CPMV restent inchangées à 60 ° C pendant au moins 1 h et les capsides restent stables dans un intervalle de pH de 2 à 12 (Virudachalam et Harrington, 1985). En plus du faible pourcentage de capsides dépourvu d'ARN produit pendant l'infection, il est possible de faire des capsides vides de CPMV en hydrolysant l'ARN (Ochoa et al., 2006). Des méthodes d'attachements covalents aux surfaces intérieure et extérieure du CPMV sont donc utiles pour conférer les fonctions souhaitées à cette plate-forme de départ robuste.

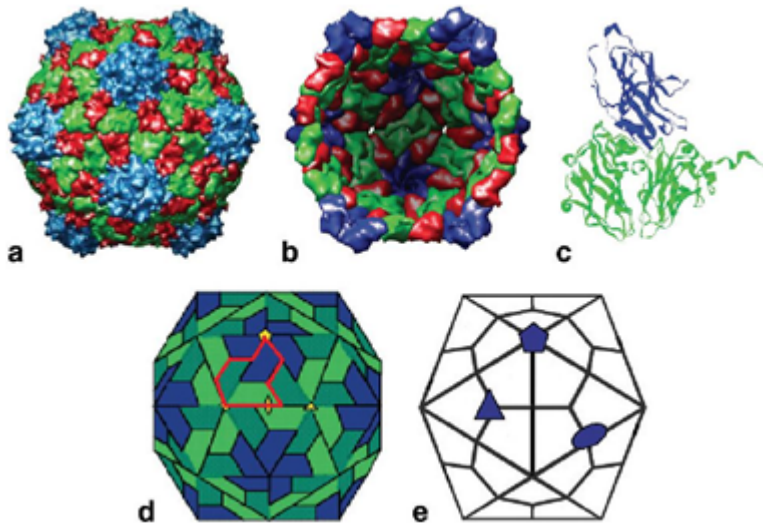


Figure. Structure du Virus de la marbrure de niébé (Shepherd et al., 2006, Lin et al., 1999): modèle de remplissage 3D montrant la surface extérieure (petite sous-unité en bleu et les domaines de la sous-unité en vert et rouge) ; b surface intérieure; c unité asymétrique de CPMV (petite sous-unité en bleu, grande sous-unité en vert); d organisation de la sous-unité, avec l'unité asymétrique décrite en rouge; deux axes de symétrie de l'icosaèdre (double ovale bleu), triple (triangle bleu) et quintuple (pentagone bleu)

La Chimiothérapie Antivirale, cibles et modes d'action

Les différentes étapes de la multiplication virale sont les cibles potentielles pour les antiviraux.

Les antiviraux peuvent être classés selon leurs cibles, de l'attachement aux étapes finales de la multiplication virale

La plus part de ceux qui sont actuellement disponibles

agissent sur la phase de:

- Transcription inverse
- Réplication virale
- Assemblage des virus
- Libération des virus

La classification des molécules antivirales selon leur mode d'action

Attachement:

Il s'agit des récepteurs ou des corécepteurs spécifiques pour l'attachement du virus:

Récepteurs:

- Oligopeptide T (riche en thréonine) qui reproduit la séquence d'attachement de la Gp120 sur le CD4
- CD4 tronquée: (par recombinaison génétique) reproduisant la séquence d'attachement du récepteur de CD4 des lyT CD4+ à la Gp 120 du VIH (molécule soluble)

Les essais in vivo de ces molécules leurres ont montré leur faible affinité pour leurs substrats.

Les corécepteurs:

Le principe est l'inhibition des Corécepteurs CCR5, CXCR4, mais leur origine naturelle pose le problème des effets secondaires, en revanche l'intérêt de cette voie demeure important chez les personnes ayant un CCR5 défectueux par délétion à l'état homozygote sont résistants à l'infection au VIH à tropisme macrophagique.

Fusion – pénétration:

Les inhibiteurs de la fusion: récemment apparus:

- T20 = pentafuside
- T1249

Ces molécules bloquent la fusion de l'enveloppe virale sur la membrane cellulaire qui se fait grâce à la Gp 41

La T20 a une activité antivirale in vitro qui semble être confirmée in vivo par des essais en cours

La décapsidation:

- Amantadine
- Rimantadine

Traitement préventif de la grippe A inactif sur la grippe B

Ces molécules agissent sur la pompe à protons de la protéine M2 des virus de la grippe A en empêchant l'acidification à l'intérieur et la décapsidation et la libération du génome

- Chalcone à traitement des infections à Rhinovirus
- Arildone à traitement des infections à Picornavirus

Ils se fixent sur la capsid qu'ils stabilisent à l'excès (doses élevées) et empêchent la décapsidation

Inconvénients:

Emergence rapide des mutants résistant à ces molécules

Les nouveaux virus de la grippe (aviaire H₅N₁, porcine H₁N₁) sont résistants

Réplication:

En fonction des familles de virus, la synthèse des Acides nucléiques viraux nécessite des enzymes présentes uniquement dans les cellules infectées et codées par le génome viral:

- ADN polymérase
- Réverse transcriptase

* * Les analogues nucléosidiques: caractères et modes d'action:

Caractères:

Ils se distinguent des nucléosides naturels par modification de leur sucre ou la base purique ou pyrimidique

Comme les nucléosides, ils doivent être phosphorylés pour être activés, ils sont donc triphosphorylés pour exercer leur activité antivirale sur l'ADN polymérase

Ces phosphorylations sont assurées par des enzymes:

- Cellulaire (kinases)
- Virales (thymidine kinase) chez HSV et VZV, phosphotransférase du CMV

C'est la première phosphorylation qui est assurée par les enzymes virales, sans laquelle l'antiviral reste inactif

Mode d'action:

Il se fait de diverses façons souvent additives:

- Compétition avec le substrat naturel de l'enzyme
- Encombrement stérique du site actif de l'enzyme
- Incorporation de l'antiviral dans la chaîne d'ADN en voie de formation à blocage
- Blocage de l'élongation par incapacité de fixer un autre nucléoside sur l'analogue artificiel

Les Molécules à activité antivirale

Anti HSV, VZV, CMV:

- Acycloguanosine
- DHPG (dihydroxy propoxy méthyl guanine) pour CMV
- Trifluorothymidine HSV, VZV

Nouvelles:

- Penciclovir
- Famciclovir

Anti HIV:

- Zidovudine (AZT)
- Didanosine (ddI)

Anti HBV, HIV (RT):

- Lamivudine

Anti HBV (RT)

- Entecavir

Dérivés de phosphates:

- Foscarnet

Analogues non nucléosidiques:

Ils agissent non pas sur le substrat comme le font NRTI, mais en bloquant de manière allostérique un site de liaison différent appelé site de liaison des NNRTI ou « poche »

Ils inhibent très spécifiquement la reverse transcriptase du VIH1 mais pas celle du VIH2 et du VIH 0

- Nevirapine
- Delavirdine
- Efavirenz

ARN messagers:

- Ribaverine= analogue de la guanosine

** Etapes finales de la multiplication:

La protéase:

Anti VIH et une aspartyl protéase, elle est essentielle à la production de virus infectieux puisqu'elle clive le précurseur polypeptidique gag – pol et individualise dans pol les protéases, intégrase, et RT

Des peptides synthétiques (anti protéases):

Mimant le site de clivage de l'enzyme et l'inhiber sans agir sur les protéases cellulaires

Les inhibiteurs des protéases très spécifiquement la protéase du VIH1, VIH2 avec index thérapeutique élevé:

- Indinavir
- Ritonavir
- Saquinavir
- Nelfinavir

Inhibiteurs de la libération:

Inhibition de l'activité des Neuraminidases des virus influenzae A, B (grippe)

La neuraminidase intervient à la fin du cycle pour cliver les résidus d'acide sialique qui sont des récepteurs aux virus

Ainsi elle libère les virions néoformés après le bourgeonnement

Les inhibiteurs de la neuraminidase empêchent le détachement des virions néoformés en restant attachés aux récepteurs (acide sialique)

- Zanamivir
- Oseltamivir

Action préventive et curative sur la grippe A, B

La sélection de mutants résistants paraît rare à ces molécules contrairement à l'amantadine et la Rimantadine

Les obstacles de la chimiothérapie antivirale:

- Cytotoxicité: interférence avec le métabolisme cellulaire
- Latence: incapacité des antiviraux à éradiquer l'infection latente qui échappe même aux défenses immunitaires
- Résistance: Emergence de souches résistantes par mutation