

> Les interactions protéine-protéine jouent un rôle fondamental dans les voies de signalisation qui régulent de nombreuses fonctions cellulaires. Les propriétés structurales et fonctionnelles des interfaces protéine-protéine sont à présent mieux connues, offrant par là des opportunités pour des interventions thérapeutiques. Le développement de petites molécules capables de moduler ce type d'interactions est difficile. Néanmoins, des progrès significatifs dans cette direction ont été réalisés sur plusieurs fronts. À l'aide de quelques exemples, nous résumons dans cet article les travaux récents dans ce domaine en émergence. <

Des agents thérapeutiques ciblant des interactions protéine-protéine

Mythe ou réalité ?

Béatrice Laudet, Renaud Prudent,
 Odile Filhol, Claude Cochet



Inserm U873, Institut
 de Recherches en Technologies
 et Sciences pour le Vivant,
 CEA Grenoble,
 17, rue des Martyrs,
 38054 Grenoble Cedex 9, France.
claudc.cochet@cea.fr

Dans un organisme vivant, les cellules sont régulièrement exposées à une variété de signaux à partir de leur micro-environnement. Nombre de ces signaux sont détectés par des récepteurs présents à la surface des cellules, puis amplifiés et « transduits » par des réseaux complexes de signalisation intracellulaire. L'organisation spatiale et l'activation de ces réseaux dépendent de façon cruciale d'interactions spécifiques entre les différentes protéines qui les composent. Les processus d'apoptose, notamment, mettent en jeu des réseaux complexes d'interaction protéine-protéine qui dictent la survie ou la mort cellulaire ; les interactions protéine-protéine sont donc fondamentales pour la régulation des points de contrôle de l'homéostasie cellulaire. Elles constituent un réseau dynamique et adaptable, l'« interactome », capable d'intégrer des signaux intra- comme extracellulaires et de modifier le comportement cellulaire.

Propriétés des interactions protéine-protéine

Les interactions protéine-protéine mises en jeu dans les complexes enzyme-substrat ne seront pas décrites dans cet article, consacré aux propriétés des interactions

« non catalytiques » qui conduisent à des homo- ou hétéro-oligomérisations de protéines.

Différentes approches combinées de biologie structurale permettent de comprendre comment fonctionnent les interfaces protéine-protéine au sein de ces complexes moléculaires. Bien que les principes structuraux et fonctionnels qui gouvernent ces interactions soient d'une grande diversité, les interfaces protéine-protéine sont, dans de nombreux cas, larges (typiquement 1 300 à 3 000 Å²), et leurs surfaces compactes, hydrophobes et relativement planes [1, 2]. La combinaison des analyses cristallographiques et de mutagenèse dirigée a révélé la présence, au niveau de ces interfaces, d'acides aminés essentiels pour l'interaction (*hot spots*).

La résolution de la structure tridimensionnelle de différents complexes protéiques a permis de mettre en évidence l'existence de régions centralisées et accessibles, constituées d'acides aminés cruciaux pour l'interaction des protéines composant ces complexes [3]. Ces *hot spots* sont présents sur les deux côtés de l'interface protéine-protéine. Les structures cristallographiques montrent que ces régions sont hautement complémentaires l'une de l'autre, avec des résidus hydrophobes d'une surface s'engageant précisément dans des « puits » présents sur la face opposée. Il est remarquable de constater que dans le cas du complexe p53-Mdm2 (*double-minute*

Article reçu le 13 février 2006, accepté le 2 juin 2006.

protein 2), la mutation de seulement 3 des 393 acides aminés de p53 suffit à empêcher la formation du complexe [4]. De nombreuses études suggèrent que la présence de ces hot spots confère à ces régions les

propriétés nécessaires à la liaison de ligands [5]. L'apparente complémentarité entre les deux surfaces créée par ces hot spots se traduit par un certain degré de flexibilité

	Méthode d'analyse	Principe	Schéma	Références
In vivo	Double hybride (levure)	L'interaction est révélée <i>in vivo</i> par reconstitution de l'activité d'un activateur transcriptionnel	<p>Domaine GAL4 liant l'ADN</p> <p>Domaine GAL4 activateur de transcription</p> <p>Gène rapporteur <i>lacZ</i></p> <p>UAS_G</p> <p>TRANSCRIPTION</p>	[10, 11]
	Fluorescence/bioluminescence resonance energy transfer (FRET/BRET...)	Fusion des protéines A et B à deux fluorochromes. Transfert d'énergie non radiatif si les deux fluorochromes sont à moins de 20 Å.	<p>Donneur (bleu)</p> <p>Accepteur (jaune)</p> <p>Pas d'interaction = Pas de transfert d'énergie</p> <p>Interaction = FRET</p>	[12, 13]
	Complémentation de fragments de protéine	Fusion des protéines A et B à deux fragments inactifs d'une protéine rapporteur (YFP, ubiquitine ...). L'interaction reconstitue l'activité de la protéine rapporteur	<p>YFP 1-154</p> <p>YFP 155-238</p> <p>A</p> <p>B</p>	[14, 15]
In vitro	Ultracentrifugation analytique	Révélation des interactions par analyse de la densité des complexes protéiques formés	<p>AB</p> <p>Centrifugation</p> <p>A</p> <p>B</p>	[16]
	Résonance plasmonique de surface (SPR)	L'interaction de la protéine B avec la protéine A immobilisée sur une surface sensible aux variations de masse permet une analyse quantitative de l'interaction	<p>Intensité</p> <p>Angle</p> <p>θ_2 θ_1</p> <p>Lumière polarisée</p> <p>Lumière réfléchie</p> <p>Flux de B</p> <p>A immobilisée</p>	[17]
	Microcalorimétrie isotherme à titration (ITC)	Détermination de paramètres thermodynamiques par mesure des variations thermiques produites par l'interaction de 2 protéines en solution	<p>Température</p> <p>Résistance</p> <p>Chambre adiabatique</p>	[18]
	Résonance magnétique nucléaire (RMN)	Mesure des variations des spins nucléaires des atomes interagissant lors de l'interaction des protéines	<p>B</p> <p>F1</p> <p>F2</p>	[19]
	Cristallographie	L'analyse des rayons X projetés sur les protéines cristallisées permet de reconstituer le complexe	<p>Rayons X</p> <p>Cristal</p> <p>Diffraction</p>	[20]

Figure 1. Principales méthodes utilisées pour l'identification et l'analyse des interactions protéine-protéine. YFP : yellow fluorescent protein.

et d'adaptabilité, qui permet la fixation séquentielle, sur une même protéine, de multiples partenaires [6].

Les interactions protéine-protéine peuvent être définies sur la base de la durée de vie des complexes qui sont soit très stables et permanents, soit transitoires, s'associant ou se dissociant constamment *in vivo*. Il existe également un type d'associations fortes, mais néanmoins transitoires, qui requièrent un signal moléculaire pour altérer l'affinité mutuelle des composants du complexe. La protéine kinase AMPc-dépendante (PKA) est un exemple de ce type de complexe, où la fixation de l'AMP cyclique sur la sous-unité régulatrice (R) de la kinase rompt son interaction avec la sous-unité catalytique (C) [7]. Il faut souligner ici que la plupart des complexes transitoires ont des rôles régulateurs importants [6], le corollaire étant que les mécanismes contrôlant leur formation sont vitaux pour les fonctions biologiques de ces complexes.

Inhiber ou rompre des interactions protéine-protéine

Le dysfonctionnement d'interactions protéine-protéine hautement spécifiques, lié notamment à des mutations, est à l'origine de différentes pathologies, dont le cancer. La perturbation de ces complexes protéiques a également des effets physiologiques majeurs. La possibilité d'interférer avec les interactions responsables de la formation de ces complexes devrait donc permettre d'exercer un contrôle unique sur des événements cellulaires majeurs, à l'origine de diverses pathologies, et permettre de développer de nouveaux agents thérapeutiques.

Les inhibiteurs d'interactions protéine-protéine sont susceptibles de présenter plusieurs avantages par rapport à d'autres types d'inhibiteurs. D'une part, l'extrême complémentarité des interfaces protéine-protéine offre la possibilité de développer des inhibiteurs hautement spécifiques, évitant ainsi l'inhibition de cibles cellulaires non spécifiques (*off-target*). D'autre part, les complexes protéiques ciblés par ces inhibiteurs devraient être moins sujets à des mutations leur conférant une résistance, contrairement aux protéines qui fixent des inhibiteurs au niveau de leur site actif : de fait, une simple mutation sur une sous-unité au niveau de l'interface nécessite une mutation complémentaire sur l'autre sous-unité pour restaurer l'interaction ; comme une double mutation simultanée sur des sous-unités différentes n'est guère possible, il est hautement improbable que la protéine ciblée acquière une résistance à l'inhibiteur.

Toutefois, il faut admettre que ces avantages ont été pendant longtemps tempérés par le fait que, contrairement à la démarche classique qui repose sur l'inhibition d'une activité enzymatique, le ciblage de ce type d'interaction par des composés chimiques conventionnels semblait particulièrement difficile. Aujourd'hui, les développements spectaculaires de la génomique et de la protéomique, ainsi que l'émergence de nouvelles cibles thérapeutiques impliquant des interactions protéine-protéine, ont récemment stimulé, avec succès, une recherche orientée vers le ciblage de ce type d'interaction.

Démarche

Les propriétés intrinsèques des interfaces protéiques, flexibilité et capacité à adopter des conformations multiples, sont mises à contribution pour le développement de petites molécules pharmacologiques capables

d'interagir avec ces interfaces protéiques. Ce développement requiert au préalable une connaissance approfondie du réseau dans lequel elles s'inscrivent, afin de s'assurer de la pertinence de l'interaction ciblée : il s'agit notamment de s'assurer de l'absence de voie alternative, qui rend cette interaction cruciale pour la transmission du signal. Dans le cas des tumeurs surexprimant Mdm2, par exemple, on choisira une interaction nécessaire pour la survie de cellules cancéreuses, mais facultative pour les cellules normales [8].

Diverses méthodes [9] peuvent être mises en œuvre pour l'analyse des interactions protéine-protéine (Figure 1). La co-cristallisation d'un complexe protéique ou, à défaut, une étude de complémentarité *in silico* permettent de caractériser l'interface ciblée et le type d'interaction mis en jeu. Ainsi, une surface d'interaction inférieure à 900 Å², signature probable d'un complexe transitoire, est une configuration favorable pour le développement d'inhibiteurs. Une étude détaillée de la structure permet également d'identifier les acides aminés contribuant de manière prépondérante à l'interaction ; la mutation (*ala-scanning*) de ces acides aminés d'intérêt, puis l'analyse des mutants par des approches structurales, thermodynamiques ou biophysiques telles que celles qui sont décrites dans la Figure 1 valident ces *hot spots* potentiels.

Une fois l'interface caractérisée, la recherche de molécules inhibitrices peut s'effectuer par trois approches : le criblage réel, le criblage virtuel ou la conception *de novo*.

Criblage réel

Il consiste à tester systématiquement des banques de molécules, ou chimiothèques, à l'aide d'un test d'interaction simple, rapide, robuste, reproductible, miniaturisé et automatisé. *In vitro*, ce test fait appel à des techniques de type ELISA ou à la polarisation de fluorescence ; le criblage peut également reposer sur un test cellulaire, dans lequel l'interaction protéine-protéine peut notamment être évaluée par la technique de double hybride ou le FRET (Figure 1). Il est important de noter que l'utilisation de banques de composés fonctionnellement très diverses (petites molécules chimiques, peptides, voire peptidomimétiques) semble essentielle pour la découverte de molécules ayant ce type de propriétés uniques. Une technique récente d'identification d'inhibiteurs des interactions protéine-protéine repose sur l'utilisation de mélanges de très petites molécules (fragments) : si ces molécules possèdent isolément une faible affinité pour une cible, leur association en présence de la protéine augmente considérablement leurs propriétés inhibitrices [21].

Criblage virtuel

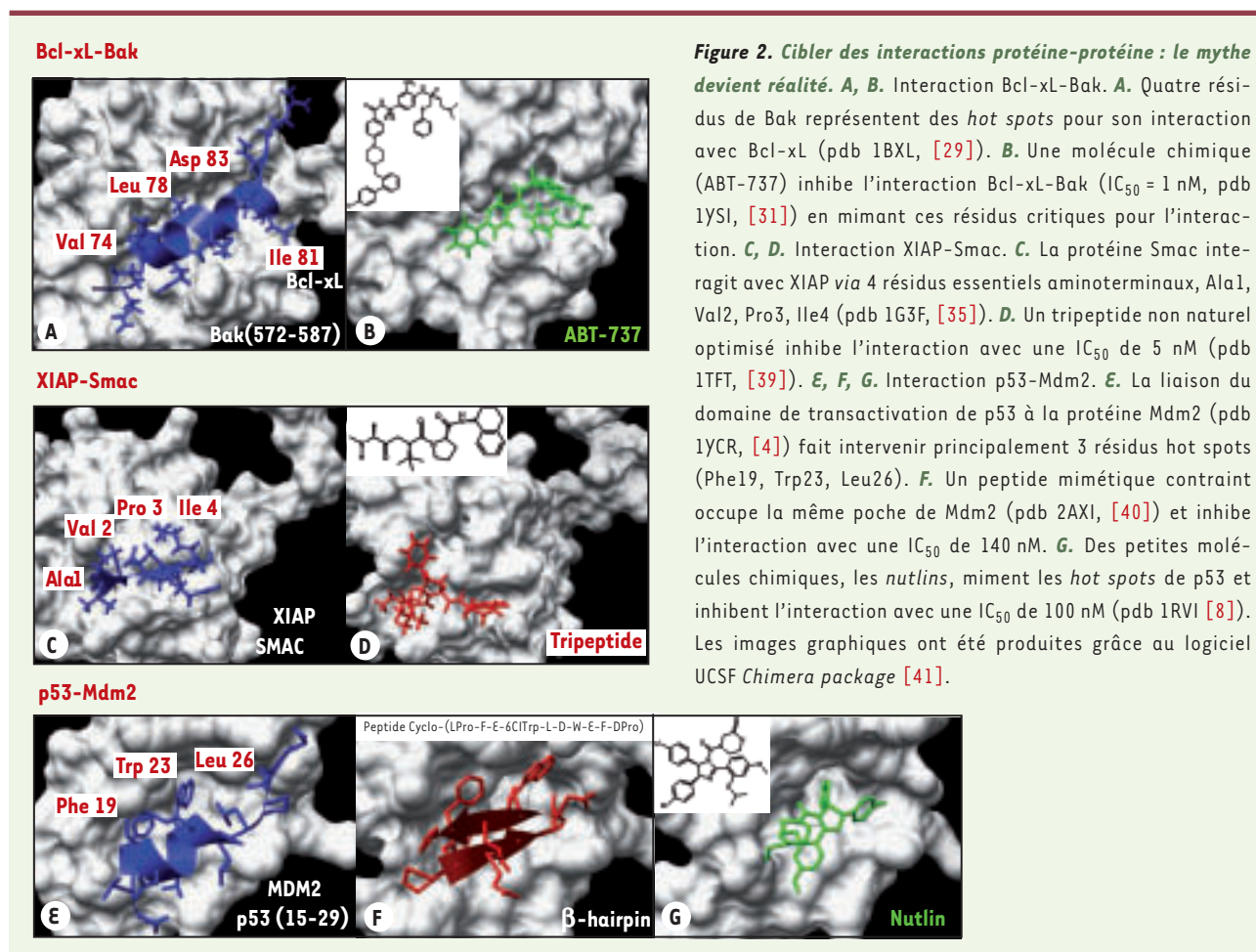
La deuxième stratégie s'appuie sur les développements récents de la bio-informatique. Elle consiste à tester *in silico* la complémentarité de forme et l'interaction probable entre une molécule et la structure cristallographique de la protéine, ce que l'on appelle le *docking*. On peut ainsi tester plusieurs millions de molécules référencées dans diverses chimiothèques en quelques heures. L'objectif initial est souvent de créer une sous-chimiothèque enrichie en « touches » potentiellement positives, afin d'accroître le taux de réussite lors des tests réels.

Conception *de novo*

Une approche encore plus audacieuse est la conception *de novo*, qui consiste à construire rationnellement une molécule à partir des seules données structurales du complexe. L'enjeu, particulièrement difficile, est de synthétiser ensuite cette molécule « idéale » inhibitrice de la formation du complexe. Cependant, l'enthousiasme initial suscité par cette dernière approche doit être tempéré [22] : en effet, les algorithmes actuels ne prennent, pour l'instant, pas ou peu en compte des phénomènes primordiaux tels que la flexibilité conformationnelle des protéines ou l'influence du solvant et des ions dans l'interaction protéine-ligand.

Évaluation des composés

Dans tous les cas, les molécules pré-sélectionnées après criblage doivent être validées en culture cellulaire, et le phénotype attendu résultant de l'exposition à ces molécules doit être le même que celui observé avec des mutants d'interaction. Dans ce contexte, les inhibiteurs sont soumis à diverses contraintes cellulaires. Ils doivent notamment être capables d'accéder aux compartiments cellulaires où se trouvent leurs cibles. Par ailleurs, l'influence des modifications post-traductionnelles des protéines sur leurs interactions est une propriété dont on peut tirer parti. Il est ainsi possible de développer des inhibiteurs d'interaction de protéines de surface, fondés sur des polysaccharides agissant comme leurs glycosidiques : l'interaction protéine-protéine est dans ce cas rompue par compétition avec la partie glycosylée [23]. L'ubiquitinylation est un autre type de modification post-traductionnelle exploitable ; à titre d'exemple, des composés nommés ubistatines [24] sont capables, en se fixant sur les polymères d'ubiquitine, de rompre l'interaction ubiquitine-protéasome.



Enfin, dans le cadre d'essais précliniques, les propriétés pharmacologiques et thérapeutiques des composés retenus sont évaluées dans des modèles animaux appropriés à la pathologie considérée.

Quelques résultats

Des résultats significatifs ont d'ores et déjà été obtenus par cette orientation thérapeutique, dans des domaines aussi variés que l'inflammation (Jak/Stat) [25], la prolifération cellulaire (anti-IGFR) [26] et la virologie (protéase du VIH) [27]. Toutefois, cette revue se limitera à une brève description de nouveaux agents anticancéreux ciblant des interactions protéine-protéine opérant dans les processus d'apoptose (Figure 2).

Interaction Bcl2-Bax

La découverte de molécules capables de sensibiliser des cellules résistantes à l'apoptose est une stratégie attractive pour le développement de nouveaux agents anticancéreux [28]. Certains membres de la famille des protéines anti-apoptotiques telles que Bcl-x_L et Bcl-2 interagissent avec des protéines pro-apoptotiques appartenant à la même famille, telles que Bak ou Bax. Des études en RMN ont révélé que ces interactions reposent sur un domaine BH3 (*Bcl-2 homology domain 3*) présent dans Bax. Un peptide de 16 acides aminés (*BH3 peptide*) dérivé du domaine BH3 de Bax forme une hélice α qui interagit avec une poche hydrophobe de Bcl-x_L [29] et inhibe l'interaction Bcl-x_L-Bax (Figure 2A). Le criblage d'une banque de 16 320 petites molécules chimiques α , par la suite, permis d'identifier deux composés capables d'inhiber la liaison du peptide BH3 à Bcl-2. L'un de ces composés, ABT-737, bloque l'hétérodimérisation entre Bax et Bcl-2 (Figure 2B); il induit l'apoptose de cellules transformées et sensibilise les cellules tumorales surexprimant Bcl-2 aux chimiothérapies [30]. Par ailleurs, d'autres composés chimiques ciblant cette interaction provoquent la régression de tumeurs du poumon dans un modèle de xénotransgreffe chez la souris [31].

Interaction Smac-XIAP

Les protéines de la famille des IAP (*inhibitors of apoptosis proteins*) sont des inhibiteurs endogènes des caspases; elles sont surexprimées dans de nombreux cancers, où elles contribuent aux mécanismes de résistance à l'apoptose observée dans les cellules cancéreuses [32]. Les IAP possèdent un domaine à doigt de zinc, appelé Bir (*Baculovirus inhibitory repeat*), qui est le site d'interaction avec Smac (*second mitochondria-derived activator of caspases*), une protéine mitochondriale activatrice des caspases au cours de l'apoptose [33]. Un tripeptide non naturel dérivé de Smac inhibe son interaction avec XIAP (*X-linked mammalian inhibitor of apoptosis protein*) (Figure 2D). Ce type de peptides sensibilisent des cellules tumorales à l'apoptose induite par le facteur apoptotique TRAIL (*TNF-related apoptosis-inducing ligand*) et stimulent l'activité antitumorale de ce facteur dans un modèle de xénotransgreffe intracraniale de gliome [34]. Des études cristallographiques ont montré que seuls quatre acides aminés de Smac se fixent sur le domaine Bir de XIAP (Figure 2C) et sont essentiels pour bloquer ses effets anti-apoptotiques [35]. Là encore, la conformation de ces quatre acides aminés au sein du complexe IAP-Smac a servi de support pour la synthèse rationnelle d'une molécule chimique capable, en se fixant avec une haute affinité à IAP, de promouvoir l'activation des caspases, en synergie avec le TNF α

et TRAIL, et d'induire l'apoptose de cellules cancéreuses humaines. Enfin, en raison de son interférence avec la signalisation TNF α -NF κ B, ce « mime chimique » de Smac pourrait conduire au développement d'agents thérapeutiques dans le cadre des pathologies de l'inflammation [36].

Interaction p53-Mdm2

La protéine p53 est une cible thérapeutique attractive en oncologie en raison de sa capacité à induire la mort cellulaire par apoptose, et donc de permettre l'éradication des cellules cancéreuses. Toutefois, l'activité de p53 est réprimée par un régulateur négatif, la protéine Mdm2, dont l'amplification dans de nombreux cancers favorise une prolifération incontrôlée. L'inhibition de l'interaction p53-Mdm2 dans ces cancers représente donc une stratégie intéressante pour activer une apoptose p53-dépendante dans les tumeurs surexprimant Mdm2 [37]. Intervenir sur le complexe p53-Mdm2 est apparu possible lorsqu'il a été montré que de petits peptides correspondant à l'extrémité aminotermine de p53, en se fixant sur l'extrémité aminotermine de Mdm2, bloquent l'interaction p53-Mdm2 dans des cellules tumorales et induisent leur apoptose [37]. La structure de Mdm2 complexée à ce peptide (Figure 2F) a révélé que les chaînes latérales de trois acides aminés de p53 s'engagent dans une cavité hydrophobe de la molécule Mdm2 (Figure 2E), ce qui est suffisant pour former le complexe p53-Mdm2 [4]. Ces observations ont rapidement stimulé la recherche de composés chimiques de faible poids moléculaire, capables de bloquer cette interaction. Le criblage d'une banque de molécules chimiques a alors permis d'isoler une classe de composés appelés Nutlins (Figure 2G), qui déplacent p53 de son complexe avec Mdm2 avec des valeurs de IC₅₀ de l'ordre de 100 nM à 300 nM [8]. Comme attendu, les Nutlins provoquent l'activation de p53 et l'apoptose de cellules cancéreuses. Plus spectaculaire encore, l'administration orale de Nutlin pendant 3 semaines à des souris *nude* porteuses de xénotransgreffes de cellules d'ostéosarcome conduit à un arrêt de la croissance des tumeurs [8].

Conclusions et perspectives

En conclusion, l'identification de petites molécules capables de moduler des interactions protéine-protéine est restée pendant longtemps un domaine largement sous-exploité par la recherche pharmacologique. Cependant, le développement de différentes technologies innovantes et la validation récente de ce type d'inhibiteurs dans des essais précliniques, comme c'est le cas de la colchicine, inhibiteur de l'interaction tubuline α -tubuline β [38], démontrent que les interactions protéiques intracellulaires constituent une nouvelle source de cibles thérapeutiques importantes. Les molécules

modulatrices de ces interactions représentent une nouvelle classe d'outils originale et prometteuse, tant en recherche fondamentale qu'en thérapeutique. Elles peuvent aider à différencier les multiples fonctions portées par une même protéine, à replacer la protéine dans une cascade de réactions, ainsi qu'à disséquer et reconstituer des réseaux de signalisations protéiques. Enfin, et surtout, on peut prédire sans risque que cette stratégie a de grandes chances de faire émerger de nouvelles familles d'agents pharmacologiques actifs dans diverses pathologies. ♦

SUMMARY

Therapeutic agents targetting protein-protein interactions: myth or reality?

Protein-protein interactions have a key role in transduction pathways that regulate many cellular functions. Structural and functional properties of protein-protein interface are now better understood, therefore offering attractive opportunities for therapeutic intervention. Developing small molecules that modulate protein-protein interactions is challenging. Nevertheless, significant progress in this endeavour has been made on several fronts. Here, we use few illustrative examples to summarize recent work in this emerging field. ♦

REMERCIEMENTS

Les travaux du groupe Structure et fonctions de la CK2 de l'unité U873 bénéficient du soutien financier de l'Inserm, du CEA et de la Ligue nationale contre le cancer (équipe labellisée EL2004.LNCC/CC2).

RÉFÉRENCES

- Lo Conte L, Chothia C, Janin J. The atomic structure of protein-protein recognition sites. *J Mol Biol* 1999 ; 285 : 2177-98.
- Nooren IMA, Thornton JM. Structural characterization and functional significance of transient protein-protein interactions. *J Mol Biol* 2003 ; 325 : 991-1018.
- Bogan AA, Thorn KS. Anatomy of hot spots in protein interfaces. *J Mol Biol* 1998 ; 280 : 1-9.
- Kussie PH, Gorina S, Marechal V, et al. Structure of the MDM2 oncoprotein bound to the p53 tumor suppressor transactivation domain. *Science* 1996 ; 274 : 948-53.
- Teague SJ. Implication of protein flexibility for drug discovery. *Nat Rev Drug Discov* 2003 ; 2 : 527-41.
- DeLano WL, Ultsch MH, de Vos AM, Wells JA. Convergent solutions to binding at a protein-protein interface. *Science* 2000 ; 287 : 1279-83.
- Kim c, Xuong NH, Taylor SS. Crystal structure of a complex between the catalytic and regulatory (RIalpha) subunits of PKA. *Science* 2005 ; 307 : 690-6.
- Vassilev LT, Vu BT, Graves B, et al. In vivo activation of the p53 pathway by small-molecule antagonists of MDM2. *Science* 2004 ; 303 : 844-8.
- Piebler J. New methodologies for measuring protein interactions *in vivo* and *in vitro*. *Curr Opin Struct Biol* 2005 ; 15 : 4-14.
- Toby GG, Golemis EA. Using the yeast interaction trap and other two-hybrid-based approaches to study protein-protein interactions. *Methods* 2001 ; 24 : 201-17.
- Serebriiskii IG, Kotova E. Analysis of protein-protein interactions utilizing dual bait yeast two-hybrid system. *Meth Mol Biol* 2004 ; 261 : 263-96.
- Trugnan G, Fontanges P, Delautier D, Ait-Slimane T. FRAP, FLIP, FRET, BRET, FLIM, PRIM... De nouvelles techniques pour voir la vie en couleur ! *Med Sci (Paris)* 2004 ; 20 : 1027-34.
- Pfleger KD, Eidne KA. Illuminating insights into protein-protein interactions using bioluminescence resonance energy transfer (BRET). *Nat Methods* 2006 ; 3 : 165-74.
- Thaminy S, Miller J, Stagljar I. The split-ubiquitin membrane-based yeast two-hybrid system. *Meth Mol Biol* 2004 ; 261 : 297-312.
- Hu CD, Kerpolla TK. Simultaneous visualization of multiple protein interactions in living cells using multicolour fluorescence complementation analysis. *Nat Biotechnol* 2003 ; 21 : 539-45.
- Lebowitz J, Lewis MS, Schuck P. Modern analytical ultracentrifugation in protein science: a tutorial review. *Protein Sci* 2002 ; 11 : 2067-79.
- Karlsson R, Falt A. Experimental design for kinetic analysis of protein-protein interactions with surface plasmon resonance biosensors. *J Immunol Methods* 1997 ; 200 : 121-33.
- Pierce MM, Raman CS, Nall BT. Isothermal titration calorimetry of protein-protein interactions. *Methods* 1999 ; 19 : 213-21.
- Kay LE. NMR studies of protein structure and dynamics. *J Magn Resonance* 2005 ; 173 : 193-207.
- Dauter Z. Current state and prospects of macromolecular crystallography. *Acta Crystallographica D Biol Crystallogr* 2006 ; 62 : 1-11.
- Erlanson DA, McDowell RS, O'Brien T. Fragment-based drug discovery. *J Med Chem* 2004 ; 47 : 3463-82.
- Wermuth CG. Les grandes méthodes de découverte sont-elles appropriées ? *Biofutur* 2003 ; 239 : 23-7.
- Kitov PI, Sadowska JM, Mulvey G, et al. Shiga-like toxins are neutralized by tailored multivalent ligands. *Nature* 2000 ; 403 : 669-72.
- Verma R, Peters NR, D'Onofrio M, et al. Ubistatins inhibit proteasome-dependent degradation by binding the ubiquitin chain. *Science* 2004 ; 306 : 117-20.
- Luo C, Laaja P. Inhibitors of JAKs/STATs and the kinases: a possible new cluster of drugs. *Drug Discov Today* 2004 ; 9 : 268-75.
- Garcia-Echeverria C, Pearson MA, Marti A, et al. In vivo antitumor activity of NVP-AEW541. A novel, potent, and selective inhibitor of the IGF-IR kinase. *Cancer Cell* 2004 ; 5 : 231-8.
- Song M, Rajesh S, Hayashi Y, Kiso Y. Design and synthesis of new inhibitors of HIV-1 protease dimerization with conformationally constrained templates. *Bioorg Med Chem Lett* 2001 ; 11 : 2465-8.
- Huang Z. Bcl-2 family proteins as targets for anticancer drug design. *Oncogene* 2000 ; 19 : 6627-31.
- Sattler M, Liang H, Nettlesheim D, et al. Structure of Bcl-xL-Bak peptide complex: recognition between regulators of apoptosis. *Science* 1997 ; 275 : 983-6.
- Degterev A, Lugovskoy A, Cardone M, et al. Identification of small-molecule inhibitors of interaction between the BH3 domain and Bcl-xL. *Nat Cell Biol* 2001 ; 3 : 173-82.
- Oltsersdorf T, Elmore SW, Shoemaker AR, et al. An inhibitor of Bcl-2 family proteins induces regression of solid tumours. *Nature* 2005 ; 435 : 677-81.
- Bilim V, Kasahara T, Hara N, et al. Role of XIAP in the malignant phenotype of transitional cell cancer (TCC) and therapeutic activity of XIAP antisense oligonucleotides against multidrug-resistant TCC *in vitro*. *Int J Cancer* 2003 ; 103 : 29-37.
- Du C, Fang M, Li Y, et al. Smac, a mitochondrial protein that promotes cytochrome c-dependent caspase activation by eliminating IAP inhibition. *Cell* 2000 ; 102 : 33-42.
- Fulda S, Wick W, Weller M, Debatin KM. Smac agonists sensitize for Apo2L/TRAIL- or anticancer drug-induced apoptosis and induce regression of malignant glioma *in vivo*. *Nat Med* 2002 ; 8 : 808-15.
- Liu Z, Sun C, Olejniczak ET, et al. Structural basis for binding of Smac/Diablo to the XIAP BIR3 domain. *Nature* 2000 ; 408 : 1004-8.
- Li L, Thomas RM, Suzuki H, et al. A small molecule Smac mimic potentiates TRAIL- and TNFalpha-mediated cell death. *Science* 2004 ; 305 : 1471-4.
- Bottger A, Bottger V, Sparks A, et al. Design of a synthetic Mdm2-binding mini protein that activates the p53 response *in vivo*. *Curr Biol* 1997 ; 7 : 860-9.
- Mukherjee AK, Basu S, Sarkar N, Ghosh AC. Advances in cancer therapy with plant based natural products. *Curr Med Chem* 2001 ; 8 : 1467-86.
- Oost TK, Sun C, Armstrong RC, et al. Discovery of potent antagonists of the antiapoptotic protein XIAP for the treatment of cancer. *J Med Chem* 2004 ; 47 : 4417-26.
- Fasan R, Dias RL, Moehle K, et al. Structure-activity studies in a family of beta-hairpin protein epitope mimetic inhibitors of the p53-HDM2 protein-protein interaction. *Chembiochem* 2006 ; 7 : 515-26.
- Petersen EF, Goddard TD, Huang CC, et al. UCSF Chimera. A visualization system for exploratory research and analysis. *J Comput Chem* 2004 ; 25 : 1605-12.

TIRÉS À PART

C. Cochet