

# Les composés « cagés » ou les précurseurs photochimiques de molécules biologiquement actives

## Mise au point et perspectives

Sandra Loudwig, Alexandre Specht et Maurice Goeldner

### Summary **Caged compounds, the photolabile precursors of bioactive molecules. Developments and prospects**

Caged compounds have been developed to allow a rapid and efficient photolytic release of a biomolecule within organized biological systems. This methodology permits more accurate time-resolved measurements, mainly because it overpasses effector's diffusion problems. Among the different photochemical protecting groups which have been described, the *ortho*-nitrobenzyl group is the most widely used caging group, allowing the photochemical protection of several chemical functions. The subsequent photolytic release of the biomolecules is usually fast and efficient but suffers from the formation of deleterious side products. *para*-Hydroxyphenacyl and coumarin derivatives represent more potent protecting groups for the caging of biomolecules. A series of applications using caged compounds, including protein folding, dynamic crystallography and two-photons photolysis, are described.

### Mots-clés **Photochimie, groupements protecteurs, biomolécules, photorégulation de systèmes biologiques.**

### Key-words **Photochemistry, protecting groups, biomolecule, photoregulation of biological systems.**

Les composés « cagés » sont des biomolécules dont les activités et la fonctionnalité sont masquées chimiquement par un groupement photolabile, la réaction photochimique permettant de transformer un composé biologiquement inerte en composé actif (*schéma 1*). La libération efficace et spécifique d'un composé biologiquement actif au sein d'un tissu, d'une cellule, d'un site actif d'enzyme, permet d'assurer un contrôle spatio-temporel de la biomolécule libérée en produisant un saut de concentration de cette molécule. L'avantage premier que présente l'utilisation de ces composés est de pouvoir s'affranchir de problèmes de diffusion liés aux techniques de mélange et de flux rapides, techniques nécessaires à toute étude dynamique de phénomènes biologiques rapides.

La dénomination de composé cagé, une traduction du terme anglais « caged compounds », n'est

évidemment pas très satisfaisante pour les chimistes qui ont su inventer et construire de vraies cages, par exemple au sein de la chimie supramoléculaire. Pour ces composés, la cage est symbolisée par un groupement protecteur photolabile, à l'origine du blocage de la fonction, et dont l'irradiation permet la libération du composé souhaité. Ce principe est illustré par l'ATP, molécule ubiquitaire des organismes vivants, qui a été la première cible des biologistes [1]. L'incorporation d'un groupement *ortho*-nitrobenzyle sur le phosphate  $\gamma$  de l'ATP a conduit au blocage de la fonction (dans cet exemple, il s'agissait du transport ionique catalysé par la  $\text{Na}^+, \text{K}^+$  ATPase) et a permis, après photolyse, une libération contrôlée d'ATP (*schéma 2*). Une autre cible très convoitée a été l'ion  $\text{Ca}^{2+}$  qui est un messager secondaire très important des cellules et qui a nécessité une conception différente de groupement protecteur photolabile

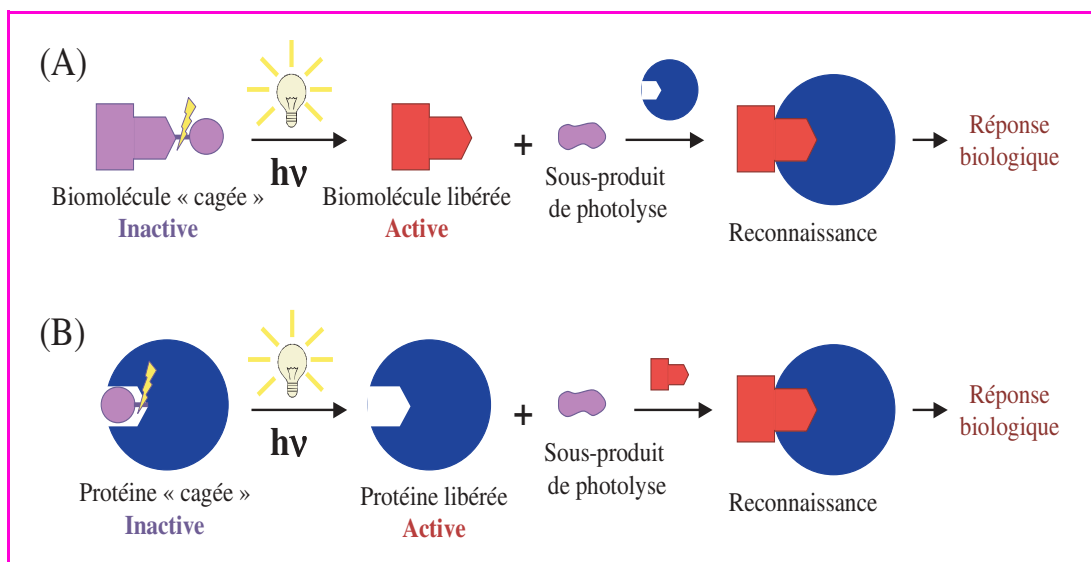


Schéma 1 - Principe de biomolécules cagées : (A) substrats, effecteurs... (B) protéines.

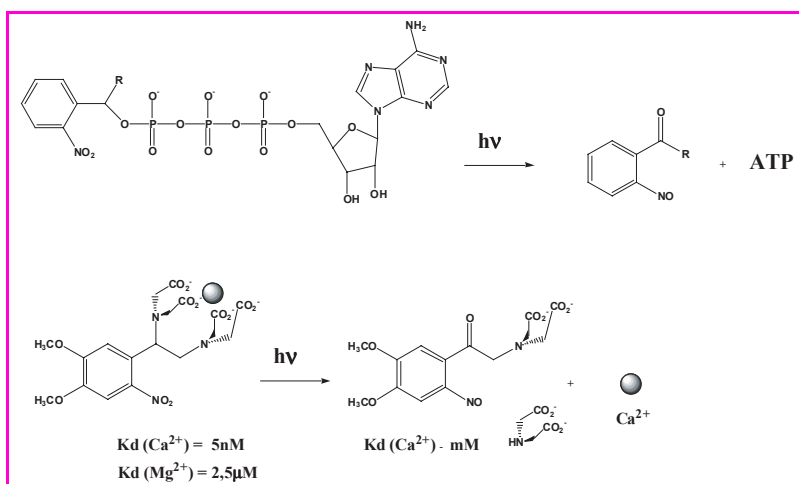
puisqu'il n'était plus question de mettre en place une liaison covalente sur un ligand. La solution a consisté à développer des chélateurs cagés du  $\text{Ca}^{2+}$ . Ces molécules devaient répondre à deux critères : permettre une complexation sélective de l'ion  $\text{Ca}^{2+}$  par rapport à d'autres ions divalents ( $\text{Mg}^{2+}$ ) et une décomplexation efficace par photolyse. Les applications biologiques utilisant l'ion  $\text{Ca}^{2+}$  comme messenger secondaire nécessitant un saut de concentration important, il fallait donc que le chélatant perde son pouvoir complexant après réaction de photolyse. Les premiers groupements photolabiles utilisés sur des chélatants de type EDTA étaient à nouveau des groupements *ortho*-nitrobenzyle [2-3] (schéma 2).

## Les applications biologiques

A l'évidence, les composés cagés intéressent différentes communautés scientifiques, d'une part les chimistes et les photochimistes et d'autre part, les

biologistes et les biophysiciens. Si les premiers s'intéressent à la découverte de nouvelles molécules et structures permettant d'améliorer les réactions photochimiques, les seconds utilisent ces molécules pour de nouvelles applications [4]. Un volume entier de *Methods in Enzymology* [5] a été consacré à l'étude de ces composés dont différents exemples sont mentionnés ci-dessous. Quelques applications plus récentes seront décrites dans le chapitre « Perspectives ».

- Étude de la contraction musculaire régulée par une libération d'ions  $\text{Ca}^{2+}$  ou d'ATP,
- Étude des flux ioniques et des cinétiques d'ouverture et de fermeture de différents canaux ioniques en photorégulant le transport ionique :
  - soit par une libération photochimique des neurotransmetteurs qui régissent les transports ioniques associés aux récepteurs membranaires : acétylcholine, GABA, glycine et glutamate,
  - soit à l'aide de messagers seconds cagés (cAMP et cGMP), de  $\text{Ca}^{2+}$  cagé ou de bloquants du canal cagés pour les canaux voltage-dépendants (sodium, potassium et calcium),
  - soit à l'aide d'ATP ou d'ADP cagés pour l'étude des pompes ioniques de type  $\text{Na}^+, \text{K}^+$  ATPase.
- Un autre type d'application concerne l'étude du mécanisme catalytique d'enzymes à l'aide de méthodes analytiques résolues en temps (IR, rayons X), permettant une étude dynamique contrôlée de phénomènes rapides. La photorégulation de l'activité enzymatique est réalisée soit à l'aide de précurseurs photolabiles de substrats, soit en cageant directement la protéine sur un résidu essentiel à l'activité catalytique. Ces exemples ne sont pas exhaustifs et illustrent simplement la grande variété de phénomènes dynamiques qui peuvent être abordés en biologie.

Schéma 2 - Exemples de composés cagés : ATP [1] et  $\text{Ca}^{2+}$  [2].

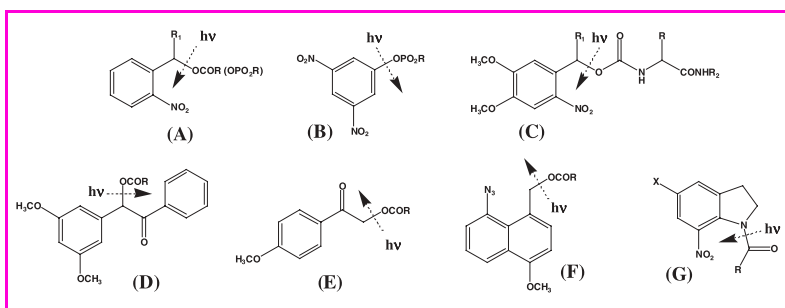


Schéma 3 - Groupements protecteurs photolabiles.

## Groupements protecteurs photosensibles

Les articles décrivant la protection de fonctions organiques par des groupements photolabiles sont nombreux [6] ; aussi ne citerons nous que quelques travaux « d'origine » et qui ont été à la base du concept des composés cagés (schéma 3). Les premiers dérivés ont utilisé comme fonctions photolabiles les groupements *ortho*-nitrobenzyle (A) et 3,5-dinitrophényle (B) sous forme d'esters d'acides carboxyliques [7] et phosphoriques [8]. Pour la protection des fonctions amines d'acides, ont été développés des carbamates qui utilisent à nouveau les dérivés *ortho*-nitrobenzyle ainsi que des groupements 6-nitroveratryle (C) [9]. Toujours pour la protection d'acides carboxyliques a été décrite la photolyse d'esters dérivés de benzoïnes (D) et de phénacyles substitués (E) [10], ainsi que d'esters benzyliques d' $\alpha$ -azidonaphtyles (F) [11]. Finalement, les composés 1-acyl-7-nitroindolines (G) ont été utilisés pour générer photochimiquement, en fonction du solvant de réaction, soit des esters soit des acides carboxyliques [12].

S'il est certain que l'outil photochimique n'est pas utilisé de manière routinière chez les chimistes (difficultés liées aux expériences menées en milieu concentré à grande échelle), il n'en est pas moins vrai que ces méthodes de protection présentent un avantage unique sur des méthodes plus conventionnelles qui est celui de la sélectivité de la déprotection.

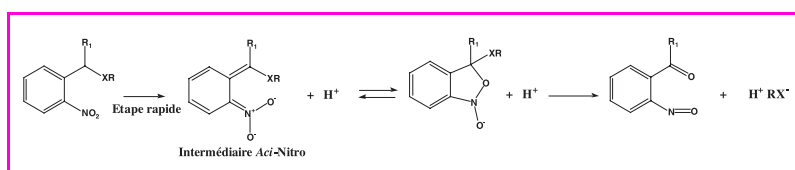
## La photochimie des composés cagés

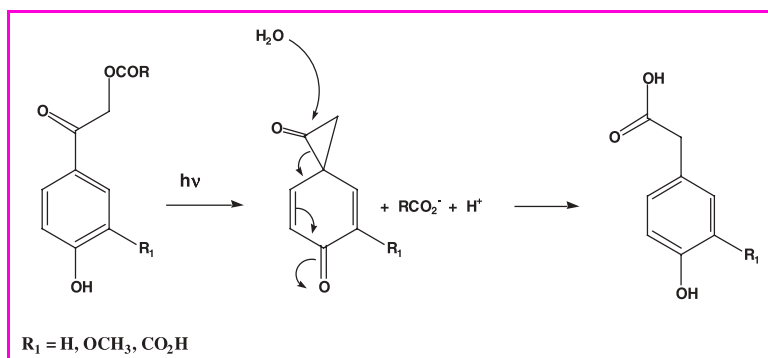
Les groupements photolabiles décrits ci-dessus ont été utilisés et transformés pour concevoir des composés cagés performants. Ces molécules doivent être solubles en milieu aqueux et être stables en milieu tamponné à pH neutre. Le concept de composé cagé sous-entend non seulement la possibilité de libérer de manière sélective la substance biologique souhaitée, mais également de pouvoir le faire de manière efficace et rapide. L'étude de phénomènes dynamiques exige un contrôle temporel et donc une connaissance de la cinétique de la réaction de photolyse. Le terme qui traduit le plus simplement l'efficacité de la

réaction de photolyse sera le produit  $Q \cdot \epsilon_\lambda$  ( $Q$  étant le rendement quantique de la réaction photochimique et  $\epsilon_\lambda$  le coefficient d'extinction molaire à la longueur d'onde d'irradiation). Les longueurs d'ondes  $\geq 300$  nm sont considérées pour les études utilisant des composés biologiques. Un autre élément important lié à la photolyse des composés cagés concerne les composés secondaires formés au cours de ces réactions. Ces composés peuvent présenter deux inconvénients majeurs : ils peuvent interférer avec l'évolution de la réaction photochimique (forte absorbance aux longueurs d'ondes d'irradiation) et ils peuvent posséder des propriétés délétères pour la fonction biologique. Finalement, une dernière propriété liée aux composés cagés est celle de pouvoir bloquer efficacement la fonction biologique lorsque le groupement protecteur est mis en place. Il n'y a pas de règle générale concernant ce point, un même groupement protecteur pouvant être efficace sur un système biologique et inefficace sur un autre. Le blocage de la fonction biologique dépendra bien sûr du choix du ligand cagé et du choix de la fonction chimique modifiée sur le ligand.

## Les dérivés *ortho*-nitrobenzyles

La fonction chimique qui a été la plus utilisée pour les composés cagés est la fonction *ortho*-nitrobenzyle, probablement autant pour des raisons historiques que pour leurs propriétés photochimiques. Le mécanisme postulé de cette réaction de photofragmentation est décrit dans le schéma 4. La cinétique de cette réaction a été étudiée dans le groupe de D. Trentham qui a démontré spectroscopiquement l'existence intermédiaire du composé aci-nitro dont la forte absorbance caractéristique et transitoire vers 410 nm a été utilisée pour établir la cinétique globale de la réaction [13]. Ce mécanisme, établi sur l'ATP cagée, sert de référence (à tort ou à raison) à l'ensemble des réactions utilisant les dérivés *ortho*-nitrobenzyles. Ces réactions de photolyse peuvent être relativement rapides, du domaine de la  $\mu$ s à la ms. Ce groupement a été utilisé pour protéger différentes fonctions (acides, amines, carbamates, alcool) et a conduit à effectuer une série de variations chimiques (nature des substituants sur le cycle aromatique ou en position benzylique) pour en améliorer les propriétés photochimiques. Un exemple intéressant nous est donné par la carbamylcholine cagée [14] (schéma 4 :  $\text{XH} = \text{NH}_2\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3\text{X}^-$ ). La

Schéma 4 - Mécanisme postulé de photofragmentation des dérivés *ortho*-nitrobenzyles.

Schéma 5 - Photolyse des groupements *p*-hydroxyphénacyle.

carbamylcholine est un agoniste du récepteur nicotinique de l'acétylcholine, plus résistant à l'hydrolyse des estérases que l'acétylcholine, et son dérivé cagé avait été utilisé pour permettre l'étude des cinétiques du récepteur nicotinique. L'incorporation d'un groupement carboxylate en position benzylique a permis deux améliorations intéressantes : une perte totale de l'activité résiduelle sur le récepteur avant photolyse ainsi qu'une amélioration substantielle du rendement quantique ( $\Phi = 0,2$  pour  $R_1 = \text{CH}_3$  et  $0,65$  pour  $R_1 = \text{CO}_2\text{H}$ ). Un des points faibles de cette fonction *ortho*-nitrobenzyle est la formation de phénones *ortho*-nitrosées lors des réactions de photolyse (schéma 4), composés qui présentent les deux inconvénients mentionnés précédemment. Ils possèdent une forte absorbance aux longueurs d'ondes généralement utilisées pour la photolyse ( $\epsilon_{\text{max}} \approx 325 \text{ nm} \geq 5 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ) et ils ont été démontrés réagir avec les cystéines libres des protéines [15].

### Les dérivés *p*-hydroxyphénacyles

La fonction *p*-hydroxyphénacyle [16] représente probablement la fonction la plus prometteuse pour cager des biomolécules. Elle a été utilisée pour modifier divers acides carboxyliques et phosphoriques [17] ainsi qu'un résidu thiol de cystéine [18]. La réaction photochimique en milieu tamponné (schéma 5) conduit non seulement à la libération rapide ( $> 10^7 \text{ s}^{-1}$ ) et efficace ( $\Phi > 0,3$ ) du ligand souhaité, mais présente un avantage remarquable qui est celui de générer un composé secondaire chimiquement inerte, dont le chromophore n'interfère pas avec l'évolution de la réaction photochimique. Diverses substitutions, notamment en position *ortho* de l'hydroxyle, ont permis de déplacer le  $\lambda_{\text{max}}$  vers les grandes longueurs d'ondes ( $R_1 = \text{OCH}_3$ ,  $\lambda_{\text{max}} = 350 \text{ nm}$ ) ou d'augmenter la solubilité aqueuse ( $R_1 = \text{CO}_2\text{H}$ ). Les principales utilisations du groupement *p*-hydroxyphénacyle comprennent les acides phosphoriques de divers nucléotides, les acides carboxyliques de neurotransmetteurs et de peptides. Comme mentionné, ce groupement a été utilisé pour bloquer l'activité enzymatique de tyrosine phosphatase en réagissant avec la cystéine

catalytique et l'activité enzymatique a pu être régénérée par photolyse [18]. Le groupement *p*-hydroxyphénacyle nécessite simplement quelques précautions concernant le choix du tampon utilisé pour la stabilité du composé cagé formé.

### Dérivés de coumarine

Les dérivés de coumarine connaissent également une série de développements intéressants concernant leur utilisation comme groupement protecteur photolabile de composés biologiques.

A nouveau, leur utilisation est focalisée sur la protection de différents nucléotides sous forme d'esters phosphoriques (schéma 6). Ces composés sont stables chimiquement et leurs cinétiques de photofragmentation extrêmement rapides, bien que le mécanisme précis ne soit pas établi [19]. Un élément intéressant lié à l'utilisation de ces molécules est le fait que les produits secondaires libérés lors de la réaction de photolyse (des dérivés du 4-hydroxyméthylcoumarine) sont des composés possédant une fluorescence fortement exacerbée par rapport aux composés de départ [20]. La substitution en C-7, par exemple par un groupement carboxymethoxy, permet d'assurer à ces composés une solubilité aqueuse suffisante pour des expériences biologiques sans altérer les propriétés photochimiques [21]. De plus, les dérivés 6-bromo-7-hydroxycoumarine ont permis d'obtenir de bons rendements de photolyse par la technique de photofragmentation utilisant deux photons [22] (voir chapitre suivant).

### Perspectives

Parmi les nombreuses applications, plusieurs d'entre elles sont plus proches des préoccupations des chimistes et biochimistes puisqu'elles font appel soit à la structure, soit à la fonction catalytique de macromolécules biologiques. Citons par exemple une question très importante en biologie structurale qui est l'étude du repliement des protéines. L'étude de ces phénomènes qui peuvent être rapides (domaine de

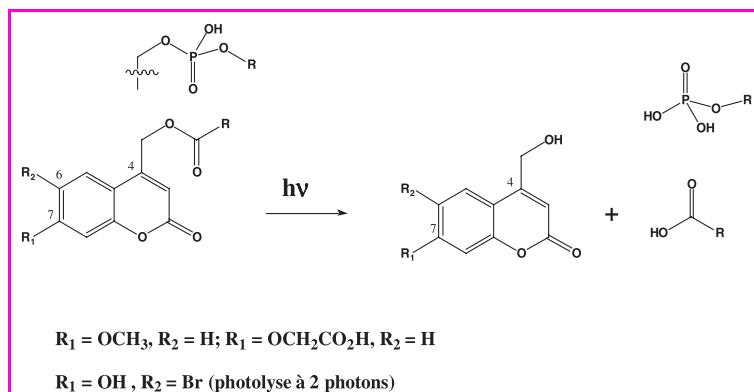


Schéma 6 - Photolyse des dérivés de coumarine.

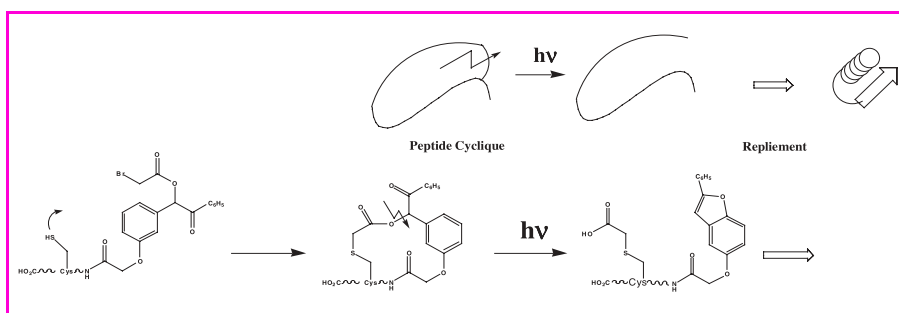


Schéma 7 - Photoinitiation du repliement d'un peptide.

la  $\mu$ s) nécessitent l'utilisation de techniques de mélange rapide ou de méthodes alternatives tels des sauts de température, de pH ou de pression. Les composés cagés offrent une solution originale et efficace pour l'étude de ces phénomènes dynamiques. Un exemple utilisant ce concept a été décrit récemment par le groupe de S. Chan [23]. Le schéma 7 illustre une des possibilités de déclencher ce repliement en utilisant une structure peptidique cyclique qui incorpore une fonction photolabile. La réaction photolytique provoque une ouverture rapide du cycle qui sera suivie d'une réorganisation structurale du peptide.

Une autre application fascinante pour les chimistes est la possibilité de pouvoir étudier le mécanisme catalytique d'une enzyme de manière dynamique par des méthodes analytiques résolues en temps. Les composés cagés sont destinés à contrôler l'activité enzymatique par voie photochimique. La photorégulation de l'activité enzymatique peut se concevoir de deux façons, soit en utilisant des ligands cagés qui libèrent photochimiquement le substrat au sein du site catalytique, soit en « cageant » directement l'enzyme en modifiant un résidu vital pour l'acte catalytique [24]. La seconde méthode est plus intéressante (elle présente l'avantage de bloquer la fonction de manière stable à l'aide d'une liaison irréversible), mais elle est également plus difficile à réaliser étant donné la nécessité de modifier un résidu de manière sélective. Un exemple remarquable de photorégulation de l'activité d'une cholinestérase a pu être réalisé récemment par modification sélective de la sérine catalytique à l'aide d'un réactif de type chlorocarbamoyle [25]. De manière plus générale, des réponses différentes utilisant la biologie moléculaire ont été apportées à cette question. D'une part, la méthode d'incorporation dans les protéines d'acides non naturels décrite par P.G. Schultz qui met le résidu catalytique directement sous forme protégée [26] ; d'autre part, par mutagenèse dirigée en incorporant un ou des résidus cystéines dont la modification chimique sélective conduit à la perte de la fonction [27].

La cristallographie Laue résolue en temps [28] représente une des applications possibles de la photorégulation d'enzymes. Cette technique cristallographique utilise une source polychromatique

de rayons X extrêmement puissante (synchrotron) permettant d'abaisser les temps d'acquisition des données cristallographiques. On peut ainsi effectuer des clichés successifs à différents temps pour suivre la réaction catalytique, en accord avec les cinétiques étudiées. Parmi les différentes questions posées par cette méthodologie, on peut noter la difficulté majeure que représente l'homogénéité de la réaction de photolyse sur un cristal de protéine pour permettre une

synchronisation avec les rayons X. En fait, cette méthodologie a donné des résultats satisfaisants essentiellement sur des protéines naturellement photorégulées ; citons comme exemple remarquable l'étude de la photodissociation du monoxyde de carbone de la myoglobine, où des clichés successifs dans des échelles de temps de quelques nanosecondes ont pu être obtenus [29]. L'utilisation des composés cagés pour l'étude de réactions enzymatiques par cristallographie résolue en temps a connu un développement limité, étant données les difficultés techniques inhérentes à la méthodologie. L'un des rares exemples décrit dans la littérature est l'étude du mécanisme d'hydrolyse du GTP en GDP sur la GTPase H-Ras p21 à l'aide d'un ester *ortho*-nitrobenzyle phosphorique du GTP [30]. Les constantes cinétiques lentes de cette réaction d'hydrolyse ( $t_{1/2} \approx 30$  min) ont permis d'obtenir un état d'avancement suffisant de la réaction de photolyse sur un cristal du complexe [H-Ras p21/GTP-cagé] pour une acquisition de données du complexe [p21/GTP] avant la réaction d'hydrolyse en GDP. Cette structure ainsi obtenue par cristallographie Laue a pu être directement comparée aux structures classiques obtenues à l'aide d'analogues de GTP non hydrolysables. Les mêmes auteurs ont amélioré la qualité des clichés de diffraction en piégeant le complexe [p21/GTP] directement après photolyse à 100 K, ce qui a permis d'utiliser des techniques classiques de diffraction à l'aide de sources monochromatiques [31]. Une alternative intéressante décrite récemment [32] sur l'acétylcholinestérase (enzyme extrêmement rapide) propose de combiner les cryotechniques avec les composés cagés. Ainsi, en effectuant la réaction de photolyse à 100 K, température où la réaction catalytique est « figée », on s'affranchit du problème de la synchronisation avec les rayons X. Après photolyse complète du composé cagé, on peut théoriquement, par des gradients de température appropriés, accéder à des états intermédiaires, non accessibles autrement, par des méthodes résolues en temps usuelles.

La possibilité de faire absorber par une même molécule deux (ou plusieurs) photons successifs envoyés à des intervalles de temps très brefs ( $\pm 10^{-16}$  s) a permis le développement de toute une série d'applications intéressantes. En photobiologie, l'utilisation de deux sources laser de faible énergie (entre 640 et 700 nm) produites à

quelques femtosecondes d'intervalle permet la photofragmentation efficace de certains composés cagés possédant les propriétés optiques adéquates (molécules possédant des sections efficaces d'absorption à deux photons [33]). La conséquence importante qui en résulte est une libération de la biomolécule, uniquement au point de focalisation des deux faisceaux, permettant d'atteindre ainsi une résolution spatiale remarquable au sein d'un tissu, sans altération du matériel biologique (mis à part un échauffement du milieu dû aux rayonnements IR qui devra être contrôlé). Cette résolution spatiale ne peut pas être atteinte avec une excitation classique à un photon. La référence [22] décrit un exemple remarquable de la libération de glutamate (neurotransmetteur excitateur) par photolyse à deux photons à l'aide de glutamate cagé par des bromo coumarines, sur des neurones de cortex et d'hippocampe à partir de tranches de cerveau de rat. La méthode a permis de décrire avec une précision exceptionnelle des cartes topographiques de la sensibilité au glutamate à la surface de ces neurones à l'aide de marqueurs fluorescents. Il est certain que cette méthode non invasive d'étude de cellules intéressera particulièrement les biologistes cellulaires.

En conclusion, nous pouvons constater que depuis la première description du concept des composés cagés en 1978 [1], une recherche très intense s'est développée et celle-ci se caractérise par son caractère pluridisciplinaire. Ce type de recherche stimulera probablement les chimistes à faire des incursions dans des domaines qui ne leur sont pas nécessairement familiers. Les progrès techniques en cours vont certainement contribuer à une accélération de ces recherches dans les différents domaines mentionnés et la demande en composés cagés nouveaux et performants va s'accroître. Cette revue étant essentiellement destinée aux chimistes, il nous paraît acquis que la recherche liée au développement de nouveaux groupements photolabiles constituera un objectif très valorisant. En particulier, la recherche de groupements photochimiques [34] qui permettront la protection de fonctions différentes des acides carboxyliques et phosphoriques déjà largement décrits dans la littérature, trouvera certainement un écho très favorable chez les biologistes pour concevoir de nouveaux composés cagés.

### Références et notes

- [1] Kaplan J.H., Forbush III B., Hoffman J.F., *Biochemistry*, **1978**, *17*, p. 1929.  
 [2] Kaplan J.H., Ellis-Davis G., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1988**, *85*, p. 6571.  
 [3] Adams S.R., Kao J.P.Y., Tsien R.Y., *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, *111*, p. 7957.  
 [4] Adams R.S., Tsien R.Y., *Ann. Rev. Physiol.*, **1993**, *55*, p. 755.  
 [5] Caged Compounds, *Methods in Enzymol.*, vol. 291, edited by G. Marriott Academic Press, **1998**.  
 [6] Pillai R., *Synthesis*, **1980**, p. 1.  
 [7] Barltrop J.A., Plant P.J., Schofield P., *Chem. Commun.*, **1966**, p. 822.

- [8] Kirby A.J., Varvoglis A.G., *Chem. Commun.*, **1967**, p. 406.  
 [9] Patchornik A., Amit B., Woodward R.B., *J. Am. Chem. Soc.*, **1970**, *92*, p. 6333.  
 [10] Sheehan J.C., Wilson R.M., Oxford A., *J. Am. Chem. Soc.*, **1971**, *93*, p. 7222.  
 [11] Barton D.H.R., Sammes P.G., *J. Chem. Soc. (C)*, **1971**, p.721.  
 [12] Amit B., Ben-Efraim Q.A., Patchornik A., *J. Am. Chem. Soc.*, **1976**, *98*, p. 843.  
 [13] Walker J.W., Reid G.P., McCray J.A., Trentham D.R., *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, *110*, p. 7170.  
 [14] Milburn T. *et al.*, *Biochemistry*, **1989**, *28*, p. 49.  
 [15] Barth A., Corrie J.E.T., Gradwell M.J., Maeda Y., Mantele W., Meier T., Trentham D.R., *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**, *119*, p. 4149.  
 [16] Park C., Givens R.S., *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**, *119*, p. 2453.  
 [17] Givens R.S., Weber J., Conrad P.G., Orosz G., Donahue S.L., Thayer S.A., *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, *122*, p. 2687 et références citées.  
 [18] Arabaci G., Guo X., Beebe K., Coggeshall K., Pei D., *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, *121*, p. 5085.  
 [19] Furuta T., Iwamura M., *Methods Enzymol.*, **1998**, *291*, p. 50.  
 [20] Schade B., Hagen V., Schmidt R., Herbrich R., Krause E., Eckardt T., Bendig J., *J. Org. Chem.*, **1999**, *64*, p. 9109.  
 [21] Hagen V., Bendig J., Frings S., Eckardt T., Helm S., Reuter D., Kaupp B., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2001**, *40*, p. 1046.  
 [22] Furuta T., Wang S. S.-H., Dantzker J.L., Dore T.M., Bybee W.J., Callaway E.M., Denk W., Tsien R.Y., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1999**, *96*, p. 1193.  
 [23] Hansen K.C., Rock R.S., Larsen R.W., Chan S.I., *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, *122*, p. 11567.  
 [24] Curley K., Lawrence D.S., *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **1999**, *3*, p. 84.  
 [25] Ludwig S. *et al.*, en préparation.  
 [26] Mendel D., Ellman J.A., Schultz P.G., *J. Am. Chem. Soc.*, **1991**, *113*, p. 2758.  
 [27] Bayley H., Chang C., Miller W., Niblack B., Pan P., *Methods Enzymol.*, **1998**, *291*, p. 117.  
 [28] Moffat K., *Chem. Rev.*, **2001**, *101*, p. 1569.  
 [29] Srajer V., Teng T.-Y., Ursby T., Pradervand C., Ren Z., Adachi S., Schildkamp W., Bourgeois D., Wulff M., Moffat K., *Science*, **1996**, *274*, p. 1726.  
 [30] Schlichting I., Almo S., Rapp G., Wilson K., Petratos K., Lentfer A., Wittinghofer A., Kabsch W., Pai E.F., Petsko G.A., Goody R.S., *Nature*, **1990**, *245*, p. 309.  
 [31] Scheidig A.J., Burmester C., Goody R.S., *Structure*, **1999**, *7*, p. 1311.  
 [32] Specht A., Ursby T., Weik M., Peng L., Kroon J., Bourgeois D., Goeldner M., *ChemBioChem*, **2001**, *2*, p. 845.  
 [33] Albota M. *et al.*, *Science*, **1998**, *281*, p. 1653.  
 [34] Curieusement, la fonction alcool a été très peu utilisée pour cager des composés biologiques. Furuta T., Hirayama Y., Iwamura M., *Org. Lett.*, **2001**, *3*, p. 1809 ; Ludwig S., Goeldner M., *Tetrahedron Lett.*, **2001**, *42*, p. 7957.



A. Specht, M. Goeldner et S. Ludwig

**Sandra Ludwig et Alexandre Specht** sont chercheurs et **Maurice Goeldner** est professeur au Laboratoire de chimie bioorganique de la Faculté de Pharmacie à l'université Louis Pasteur de Strasbourg\*.

\* Laboratoire de chimie bioorganique, UMR 7514 CNRS, Faculté de Pharmacie, Université Louis Pasteur, BP 24, 67401 Illkirch Cedex.  
E-mail : goeldner@bioorga.u-strasbg.fr