

consiste à rendre les tumeurs plus immunogènes pour le système immunitaire, par exemple en déclenchant une inflammation sur le site de la tumeur, ou en fournissant aux lymphocytes *T* les molécules co-stimulantes dont ils manquent.

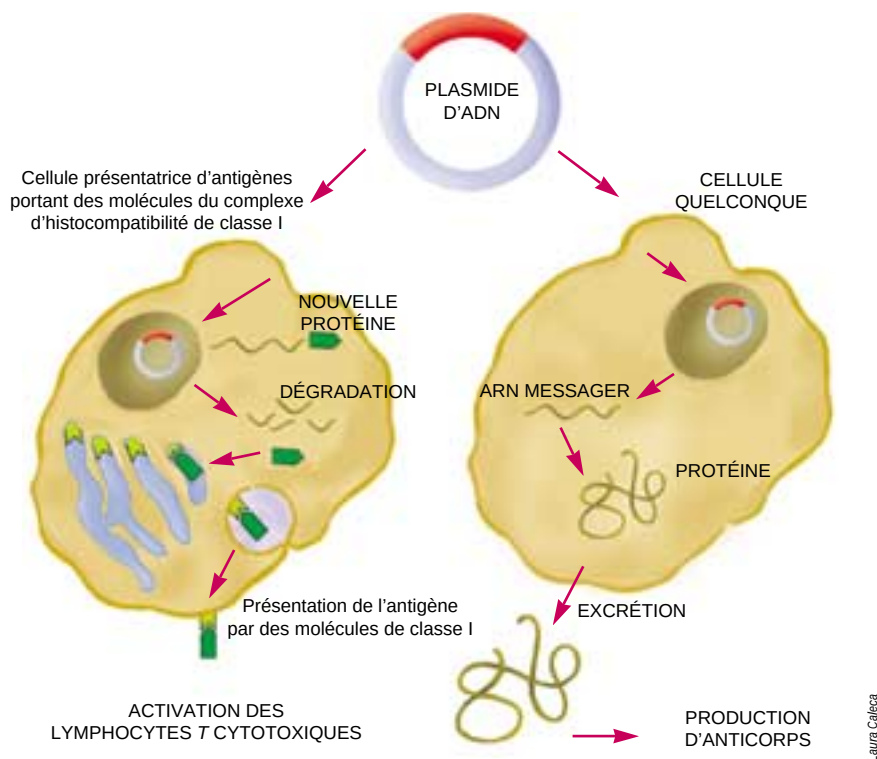
Aujourd'hui, des vaccins thérapeutiques sont en cours d'essais cliniques pour lutter contre le mélanome.

La situation est différente pour certaines infections chroniques, notamment l'hépatite *B*. Le système immunitaire est activé, mais insuffisamment pour vaincre l'infection. Pire encore, dans le cas de l'hépatite *B*, le système immunitaire, activé par le virus, est lui-même responsable de la maladie chronique, car les lymphocytes *T* qui tentent d'éliminer le virus finissent par endommager une quantité excessive de cellules hépatiques.

Un vaccin thérapeutique « apprend » au système immunitaire à réagir correctement contre l'agent infectieux. Dans le cas de l'hépatite *B*, par exemple, on cherche à déclencher la production d'anticorps neutralisants et à éviter l'activation des lymphocytes *T* cytotoxiques, responsables de la maladie hépatique.

Des vaccins thérapeutiques destinés à lutter contre diverses maladies chroniques sont en cours de mise au point : des vaccins contre l'herpès génital, le virus de l'hépatite *B* et celui de l'hépatite *C*, les papillomavirus, *Helicobacter pylori* (responsable de gastrites et d'ulcères gastriques et duodénaux) et le VIH. La plupart de ces agents infectieux participent à l'apparition de tumeurs dans les organes infectés : le virus de l'hépatite *C* est responsable de tumeurs du foie, *Helicobacter pylori*, de tumeurs de l'estomac, le papillomavirus de cancers du col et le virus herpétique HSV 2 de cancers de l'utérus. Jusqu'à présent, nous avons assimilé l'immunisation au déclenchement d'une réaction immune.

Dans le cas des maladies auto-immunes ou des allergies, il s'agit au contraire d'inhiber une réaction immune nocive. On pourrait vraisemblablement renverser le cours des maladies auto-immunes en supprimant les cellules pathogènes, généralement des lymphocytes *T* CD₄⁺ auxiliaires ou des lymphocytes *T* CD₈⁺ cytotoxiques, ou en modifiant leur action. On suppose qu'en inhibant les



6. LA VACCINATION PAR L'ADN pourrait déclencher une réaction immune puissante et efficace. L'ADN des plasmides pénètre dans les cellules et le gène codant l'antigène voulu s'exprime. L'antigène emprunte alors deux voies : il peut être sécrété et déclencher directement la production d'anticorps (à droite). Il peut aussi être traité dans la cellule modifiée : les fragments antigéniques sont présentés à la surface de la cellule par les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe I, stimulant ainsi les lymphocytes *T* cytotoxiques (à gauche).

lymphocytes auxiliaires TH₁, qui participent aux réactions cytotoxiques et à l'inflammation locale, et en activant les lymphocytes TH₂, qui stimulent notamment la production d'anticorps, on réduirait l'inflammation chronique qui accompagne les maladies auto-immunes. Inversement, dans le cas des maladies allergiques, on pourrait favoriser les cellules TH₁ au détriment des cellules TH₂ qui stimulent les mécanismes de l'allergie.

En conclusion, la vaccination n'est plus aujourd'hui seulement préventive. C'est plutôt un moyen de déclencher des réactions immunitaires, qu'elles servent à prévenir une infection ou à modifier le cours d'une maladie déjà établie.

La vaccination doit procurer une immunité protectrice contre une maladie. Tandis que les médicaments soignent les maladies infectieuses quand elles se produisent, les vaccins arment l'organisme contre les agents infectieux. Le génie génétique nous permet d'envisager la mise au point de nouveaux vaccins qui ne seront plus une étape douloureuse de l'enfance,

mais des outils utiles de prévention et de traitement, tout au long de la vie. Ils seront plus sûrs, plus efficaces, et souvent administrés au niveau des muqueuses plutôt qu'injectés. Ils devraient permettre de traiter diverses maladies infectieuses chroniques, des cancers, des maladies auto-immunes et des allergies.

Rino RAPPUOLI dirige le centre de recherche IRIS de la Société Vaccins Chiron, à Sienne. Sergio ABRIGNANI y dirige le département d'immunologie et Guido GRANDI le département de biologie moléculaire.

Cellular and Molecular Immunology, sous la direction de A.K. Abbas, A.H. Lichtman, J.S. Pober, W.B. Saunders Company, 1994.

Bacterial Pathogenesis : A Molecular Approach, sous la direction de A.A. Salyers et D.D. Whitt, asm Press, Washington D.C., 1994.

Medical Microbiology, sous la direction de Mins, Playfair, Roitt, Wake- lin et Williams, Mosby, 1993.

Du laboratoire à l'usine

GEORG ARNOLD KREI • ERNST BUSCHMANN

Il y a loin de la découverte d'un principe actif à sa fabrication industrielle. Lors de la mise au point des méthodes industrielles, les ingénieurs chimistes ont fort à faire pour conserver une qualité du produit aussi bonne qu'en laboratoire.

Vers la fin des années 1980, George Pettit et ses collègues de l'Université de Tempe découvrent une nouvelle classe de substances anticancéreuses dans l'escargot marin *Dolabella auricularia* (voir la figure 1). Avant d'obtenir ce résultat, ils ont récolté 1,6 tonne de cet animal dans l'océan Indien et ont séparé ses composants en quelque 20 000 fractions, dont ils ont ensuite testé l'efficacité pharmacologique. Ils ont finalement trouvé des inhibiteurs de la division cellulaire qu'ils ont nommés dolastatines. Lors de tests sur des animaux de diverses espèces, ils observent enfin que la dolastatine 10 et la dolastatine 15 ont une puissante activité cytostatique.

Six mois plus tard, les chimistes des Laboratoires BASF parviennent à synthétiser des molécules de structure apparentée, encore plus actives, tel le pentapeptide LU 103793, composé par l'enchaînement de cinq acides aminés. Dès la demande de brevet déposée, les ingénieurs chimistes cherchent à fabriquer le produit, car la société ne disposera que de 20 années de fabrication de la molécule sans concurrence ; la perte financière qui résulterait d'un seul mois de retard pourrait atteindre 50 millions de francs.

Réactifs et réactions

La mise au point d'une fabrication industrielle d'un médicament commence par des études de chimie : les chimistes doivent synthétiser des quantités suffisantes du composé, purifié, pour que les médecins et pharmaciens effectuent leurs études toxicologiques, pharmacologiques et galéniques. Généralement on doit synthétiser une dizaine de kilogrammes de substance

pour couvrir les besoins jusqu'à la première phase clinique.

Les méthodes de synthèse de laboratoire ne procurent pas de telles quantités : ceux qui cherchent à identifier les substances actives se contentent de quelques milligrammes, réalisés à partir d'une palette de quelque 50 000 réactifs, dont certains sont parfois très chers ou disponibles en quantités de l'ordre du gramme. Ils se satisfont de rendements de 40 à 60 pour cent et ne se préoccupent pas de savoir si les réactions sont possibles dans de gros réacteurs.

Aussi les ingénieurs chargés de l'industrialisation doivent souvent mettre au point des procédés complètement différents, qui doivent se rapprocher le plus possible de ceux qui seront mis en œuvre lors de la fabrication industrielle : toute modification apportée ultérieurement risque d'engendrer de nouvelles impuretés, qui devraient ensuite être soumises à une nouvelle analyse toxicologique, longue et coûteuse.

La disponibilité des réactifs doit être envisagée d'emblée : moins de 5 000 réactifs sont disponibles en quantités de l'ordre du kilogramme. Des banques de données spécialisées, telles que le Répertoire des produits chimiques disponibles de la Société MDL Information Systems ou le Répertoire mondial des fabricants de produits chimiques de la Société Chemical Information Services, sont utiles pour ce choix, mais, parfois, les ingénieurs doivent prévoir la synthèse de certains des réactifs qui seront utilisés lors de la production.

La déshydroproline, un acide aminé non naturel, est un de ces réactifs qui interviennent lors de la synthèse du LU 103793 et dont on n'a pu produire de quantités suffisantes, parce que sa synthèse dégage deux gaz toxiques.

Nous avons alors utilisé des programmes d'ordinateur comme REACCS (Système d'Accès aux Réactions) et CASP (Planification de Synthèse Assistée par Ordinateur) afin de mettre au point d'autres synthèses. Plus de 400 possibilités ont été proposées, mais toutes ont été éliminées après des expériences de laboratoire, et nous avons dû reprendre une technique décrite par des chimistes, qui obtiennent les acides aminés désirés par kilogrammes à partir d'un dérivé rare du sélénium.

Dans quel ordre devons-nous assembler les cinq acides aminés du LU 103793 ? Parmi les 14 possibilités de synthèse (voir la figure 2), huit sont des synthèses linéaires : on ajoute les acides aminés les uns à la suite des autres. Plus complexes, les méthodes convergentes sont souvent plus économiques : on synthétise des blocs de deux ou trois acides aminés, que l'on combine ensuite pour former la molécule entière ; le rendement global est supérieur.

La troisième étape du procédé de laboratoire, qui a permis la synthèse des premiers grammes de la substance, était une condensation des deux dipeptides valine-valine et méthylvaline-proline, mais le rendement était mauvais, et la réaction conduisait à une racémisation partielle (une transformation moléculaire analogue à la conversion d'un groupe de mains gauches en un mélange de mains gauches et de mains droites) ; comme on devait, en outre, utiliser un réactif coûteux, qui n'était alors pas disponible en quantités de l'ordre du kilogramme, la voie fut abandonnée. Nous n'avions pas le temps d'explorer systématiquement les 13 autres voies possibles, et l'ordinateur ne pouvait nous

aider ; l'expérience et l'intuition furent mises à contribution.

Nous avons préféré une voie de synthèse linéaire passant par le tétra-peptide diméthylvaline-valine-méthylvaline-proline, car ce composé semblait intéressant pour la synthèse d'autres composés anticancéreux. Ultérieurement, toutefois, il apparut qu'une autre séquence de réactions à partir d'un composé initial différent – la prolinebenzylamide – était plus efficace.

Les économies de l'orientation

Lors de la planification des synthèses, l'ingénieur chimiste doit tenir le plus grand compte de la chiralité des molécules. La plupart des molécules bioactives (environ 80 pour cent) ont un ou plusieurs atomes chiraux : ces atomes et les groupes qu'ils portent ne sont pas superposables à leur image dans un miroir, tout comme une main gauche n'est pas superposable à une main droite. Or la structure tridimensionnelle d'une molécule détermine son affinité pour un récepteur, une enzyme ou des membranes biologiques. Aussi, l'activité biologique, mais aussi la toxicité, la disponibilité biologique et la dégradation par l'organisme des divers énantiomères (les formes main gauche et main droite) d'un même produit chiral sont parfois fort différentes : les chimistes médicaux s'attachent à ne synthétiser les principes actifs que sous leur forme d'énantiomère pur.

Pour parvenir à un tel résultat, on peut utiliser des réactifs initiaux dotés de la bonne chiralité et synthétiser d'emblée le produit de configuration spatiale correcte, mais, en pratique, on commence généralement par fabriquer un mélange d'énantiomères (ou mélange racémique) que l'on fractionne ensuite. Quand on ne trouve pas de méthode pour retransformer les énantiomères inutiles en la forme voulue, cette stratégie gâche au moins la moitié des réactifs, de sorte qu'il faut ensuite mettre au point des méthodes de récupération des précieux intermédiaires de réaction. La synthèse énantiosélective, quand elle existe, est bien préférable. C'est la raison pour laquelle les méthodes de génie génétique, où des enzymes et des micro-organismes procurent directement des

molécules asymétriques, s'imposent progressivement.

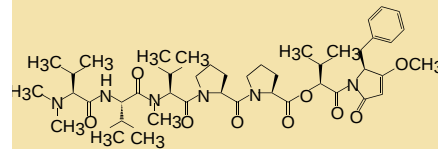
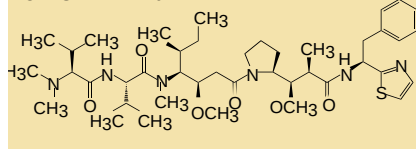
Enfin les chimistes industriels savent que la plupart des principes actifs ne sont produits que par quelques tonnes par an, de sorte qu'il n'est pas rentable de construire une installation de production spécialisée pour chacun d'eux. Dans les installations polyvalentes, on trouve le plus souvent des cuves mélangeuses (*voir la figure 3, à droite*). Dans certains cas cependant, on doit employer des équipements spéciaux, tels des systèmes à photoactivation (où des rayonnements lumineux déclenchent les réactions), des cuves à électrolyse ou des enceintes de pyrolyse.

Du petit au gros

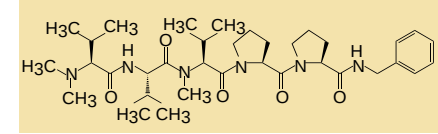
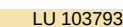
Finalement la synthèse industrielle de la dolostatine *LU 103793* a nécessité plus d'une dizaine d'étapes. Nous avons mis six mois à analyser et à optimiser les diverses étapes d'une future production industrielle, à mettre au point des méthodes nécessaires au traitement de tous les produits intermédiaires et secondaires, ainsi que des résidus, à réaliser une installation capable de produire une dizaine de kilogrammes du composé, afin que le département de pharmacologie puisse décider lequel des trois candidats serait sélectionné pour la poursuite des études.



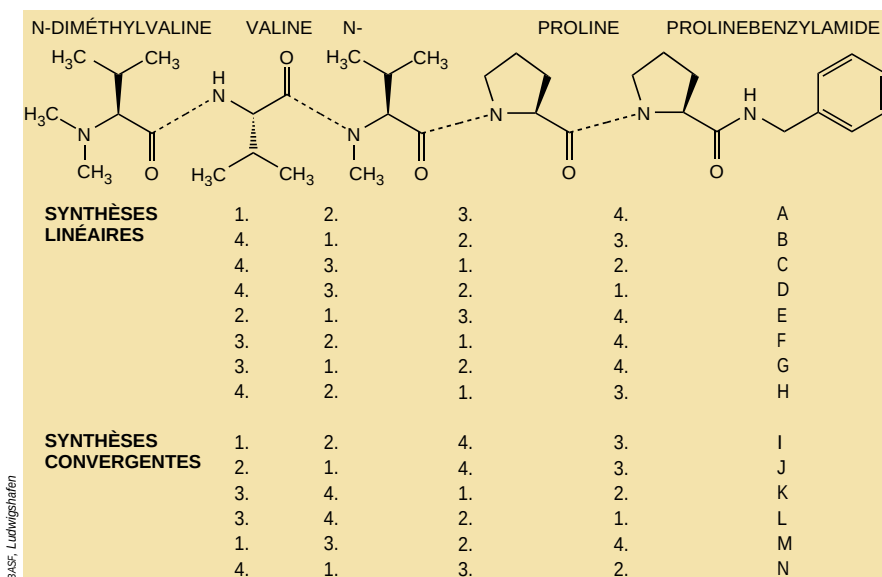
Laborsynthese zum Produktionsverfahren



1. L'ESCARGOT DE MER *Dolabella auricularia* (en haut) est une source précieuse de plusieurs peptides à activité antitumorale. Parmi ceux-ci figurent les dolastatines 10 et 15, à partir desquelles on a conçu une substance encore plus active, nommée provisoirement **LU 103793**.



George Pettit, Arizona State University



2. LA MISE AU POINT d'une stratégie pour la synthèse industrielle du pentapeptide **LU 103793** comporte une première étape importante : déterminer l'ordre d'assemblage des cinq acides aminés constitutifs de cette molécule. Il existe en principe 14 possibilités : huit voies de synthèse linéaire, où les acides aminés sont assemblés à la suite l'un de l'autre, et six voies de synthèse convergente, où l'on procède tout d'abord à l'assemblage en blocs de deux ou trois acides aminés et où l'on réunit ensuite les petits peptides ainsi obtenus. Les chiffres indiqués sur cette figure désignent l'ordre des liaisons. Par exemple, dans la synthèse J, on lie d'abord la valine et la N-méthylvaline, puis on ajoute la N-diméthylvaline ; on lie ensuite la proline et la prolinebenzylamide et l'on termine par la liaison des deux peptides.

La mise au point et l'optimisation des réactions s'effectue généralement à l'échelle du laboratoire, ce qui permet des économies d'argent et de temps. Dès ce stade, on doit déjà prévoir l'extrapolation du procédé : les rendements resteront-ils bons ? Les produits resteront-ils de qualité ? Les réactions de synthèse engendreront-elles des produits dangereux ? Le procédé crée-t-il des nuisances écologiques ? Ces questions sont d'autant plus importantes que les synthèses utilisent souvent des méthodes de pointe, directement issues de la recherche et encore mal connues.

Dans notre cas, nous avons d'abord reproduit la synthèse au laboratoire dans des ballons de 100 millilitres, afin d'envisager les problèmes d'industrialisation qui se poseraient quand nous utiliserions des réacteurs de volume compris entre un et quatre litres (voir la figure 4, à gauche). Puis nous avons étudié les problèmes qui se poseraient dans des réacteurs polyvalents d'une capacité de 100 à 4 000 litres, en acier inoxydable résistant à la corrosion ou revêtus d'émail.

Le passage du réacteur d'étude au réacteur industriel nécessite une bonne collaboration entre les équipes de mise au point du procédé industriel et les

chimistes médicaux, au laboratoire de recherche. Quand on analyse les conditions de réaction qui seront importantes lors de la production (durée de remplissage, de montée en température et de refroidissement, pointes de température, etc.), on obtient des informations, parfois surprenantes, que l'on doit rapporter au laboratoire, afin d'affiner les prévisions et de modifier éventuellement le procédé.

En effet, un réacteur n'est pas homogène : en chaque point, la réaction dépend de la température, laquelle dépend de l'énergie absorbée ou dégagée, et de la concentration en réactifs et en produits. Pour prévoir le déroulement de la réaction globale et sa sélectivité, on doit tenir compte des phénomènes de transfert de chaleur, de diffusion moléculaire, de réactions hors d'équilibre... Ces phénomènes ont des effets différents selon les réacteurs. Par exemple, quand on ajoute à un mélange un composé qui réagit plus vite qu'il ne se dissout, la réaction a lieu différemment dans un petit ballon en verre ou dans un gros réacteur.

C'est pourquoi les spécialistes du génie des procédés recherchent les paramètres dont dépendra la réaction à l'échelle industrielle, afin de maîtriser les phénomènes qui gêneraient

la production. À cette fin, nous utilisons des appareils spéciaux dont les comportements sont proches de ceux du réacteur industriel : nous employons des ballons avec un système de chauffage et de refroidissement segmenté, qui reproduit à l'échelle du laboratoire les réchauffements ou les refroidissements de gros réacteurs. Les méthodes d'analyse moderne, telle la spectroscopie infrarouge en ligne, permettent de suivre le déroulement des réactions (l'étude de l'absorption des rayonnements infrarouges par les molécules révèle les vibrations caractéristiques des groupes chimiques, ce qui permet d'identifier les groupes présents et de surveiller l'évolution des concentrations en divers composés dans le volume traversé par le rayonnement).

Quand le déroulement d'une réaction dépend beaucoup de phénomènes physiques, on cherche souvent à la remplacer par une réaction moins sensible ou à équiper le réacteur d'équipements spéciaux. À l'extrême, on effectuera plutôt la réaction en parallèle dans de nombreux petits réacteurs (voir la figure 5).

Quelques réactions gênantes

Un problème systématiquement rencontré, lors de l'industrialisation, est celui des réactions fortement exothermiques ou endothermiques (c'est-à-dire respectivement qui dégagent ou qui consomment de la chaleur). La capacité d'échange thermique du réacteur – essentiellement à travers ses parois – détermine alors la vitesse maximale de réaction. Comme le rapport entre la surface des parois et le volume est inversement proportionnel à la taille du réacteur, les gros réacteurs sont mal appropriés : les réactions y sont lentes.

De tels effets ont gêné la synthèse d'un précurseur du Captopril (un hypotenseur) : lors de la réaction, en solution aqueuse et à une température comprise entre 0 et 5 °C, la proline réagit avec un chlorure d'acide en présence d'hydroxyde de sodium pour former un produit d'addition acide-proline et du chlorure de sodium. Une acidification (à un pH égal à deux) précipite ce produit sous forme de cristaux. La réaction, très exothermique, s'effectue en moins d'une heure, en laboratoire, et donne alors un produit

très pur avec un excellent rendement. Toutefois, quand elle a lieu dans un réacteur industriel, la réaction met jusqu'à dix heures : le milieu réactionnel devient très visqueux, et le produit ne précipite plus spontanément. On doit piloter précisément les variations d'acidité et de température, tout en agitant vigoureusement, pour obtenir finalement des «galets» de quelque cinq centimètres de diamètre. Leur pureté est grande, mais le rendement de la réaction est insuffisant.

En effet, l'augmentation de la durée de réaction permet une formation accrue de composés secondaires qui perturbent la cristallisation. Dans un tel cas, le remède a été l'adjonction d'un circuit afin de refroidir le produit. Cette modification a évité l'échauffement du réacteur et a considérablement accéléré la réaction.

Les réactions en phase hétérogène, dont la vitesse dépend de l'échange des réactifs entre plusieurs phases – par exemple entre un liquide et une phase solide ou gazeuse –, sont également difficiles à industrialiser. Nous avons dû organiser une telle réaction au cours de la synthèse du LU 103793, lors de la méthylation (le greffage d'un groupe méthyle –CH₃) de la valine. Dissous dans du diméthoxyéthane, cet acide aminé devait réagir avec du diméthylsulfate et du tertiobutylate de

potassium, que l'on devait mettre en suspension en raison de sa faible solubilité. Si une telle réaction a lieu avec une grande sélectivité et un bon rendement dans un ballon de 100 millilitres, elle est incomplète dans un réacteur industriel.

En effet, la réaction comporte plusieurs étapes : l'acide aminé réagit d'abord avec le tertiobutylate, en donnant un sel bipotassique, qui subit ensuite une méthylation. Au cours de la réaction, ce sel bipotassique s'accumule et précipite : vers la fin de la réaction, la vitesse de transformation est limitée par la solubilisation du sel, très lente dans les conditions d'une production industrielle en raison d'une remise en suspension insuffisante. Cette fois, le remède fut vite trouvé : nous avons ajouté de l'eau au mélange réactionnel, afin de décomposer une partie du tertiobutylate de potassium en hydroxyde de potassium et en butanol tertiaire, ce qui garde le sel bipotassique en solution.

Plus nombreuses sont les phases simultanément présentes dans un réacteur, plus l'industrialisation est difficile. Les expériences à l'échelle du laboratoire deviennent rapidement insuffisantes lorsque des transferts de réactifs entre un gaz et un liquide ou entre un liquide et un solide se produisent simultanément, à des

vitesse comparables. Et, pour de nombreux systèmes hétérogènes, l'ingénieur chimiste doit éviter la formation imprévue de mousses. Au laboratoire, une mousse est peu gênante, mais, dans un réacteur industriel, on ne peut se permettre de voir une mousse gêner l'écoulement des gaz dans les solutions ou s'écouler dans les circuits de gaz. Quand des mousses se forment, lors du passage de bulles de gaz à travers une suspension de fines particules solides en solution, on n'a d'autre solution que de programmer des arrêts et des lancements de la réaction, ou d'utiliser un autre solvant que celui qui conduit aux mousses.

Des mousses se forment même dans des systèmes biphasiques simples, par exemple quand on fait bouillir une solution qui contient un solide en suspension. Un tel cas s'est produit, par exemple, lors de la recristallisation à partir d'un mélange d'éthanol et d'eau. On avait d'abord versé l'eau dans le réacteur, puis le produit solide et enfin l'éthanol, avant de chauffer le tout. Pour éviter la formation indésirable de grandes quantités de mousse, on a ajouté les réactifs dans l'ordre inverse : d'abord l'éthanol, puis l'eau.

Les réactions qui modifient la viscosité du mélange réactionnel sont également gênantes, car les augmen-



3. LES ÉQUIPEMENTS DE LABORATOIRE (à gauche) permettent de prévoir les difficultés qui surviendront lors du passage à la production industrielle. D'une capacité de quatre litres seulement, ce ballon a la même forme que les réacteurs de production, et il se conduit de la même façon. Il permet de déterminer à une échelle réduite les conditions de réaction qui devront être utilisées lors de la production industrielle : temps de remplissage et de vidange, durée

de chauffage et de refroidissement, etc. La cuve de droite, revêtue d'émail et d'une capacité de 400 litres, est utilisée dans une des usines pharmaceutiques des Laboratoires BASF. Les écrans disposés au plafond indiquent la pression, la température et le pH (l'acidité) en divers points de la cuve et permettent de suivre le déroulement de la réaction. À gauche de la cuve, un récipient collecteur est disposé sur une balance.

tations de viscosité ralentissent la diffusion des réactifs et les transferts thermiques. Dans un ballon en verre équipé d'un mélangeur, l'augmentation de la viscosité passe souvent inaperçue, mais, dans une cuve mélangeuse qui n'est pas équipée de racleurs, la formation de zones stationnaires peut bloquer les transferts de chaleur, de sorte que le mélange

réactionnel s'échauffe et que, au pire, le solvant s'évapore excessivement.

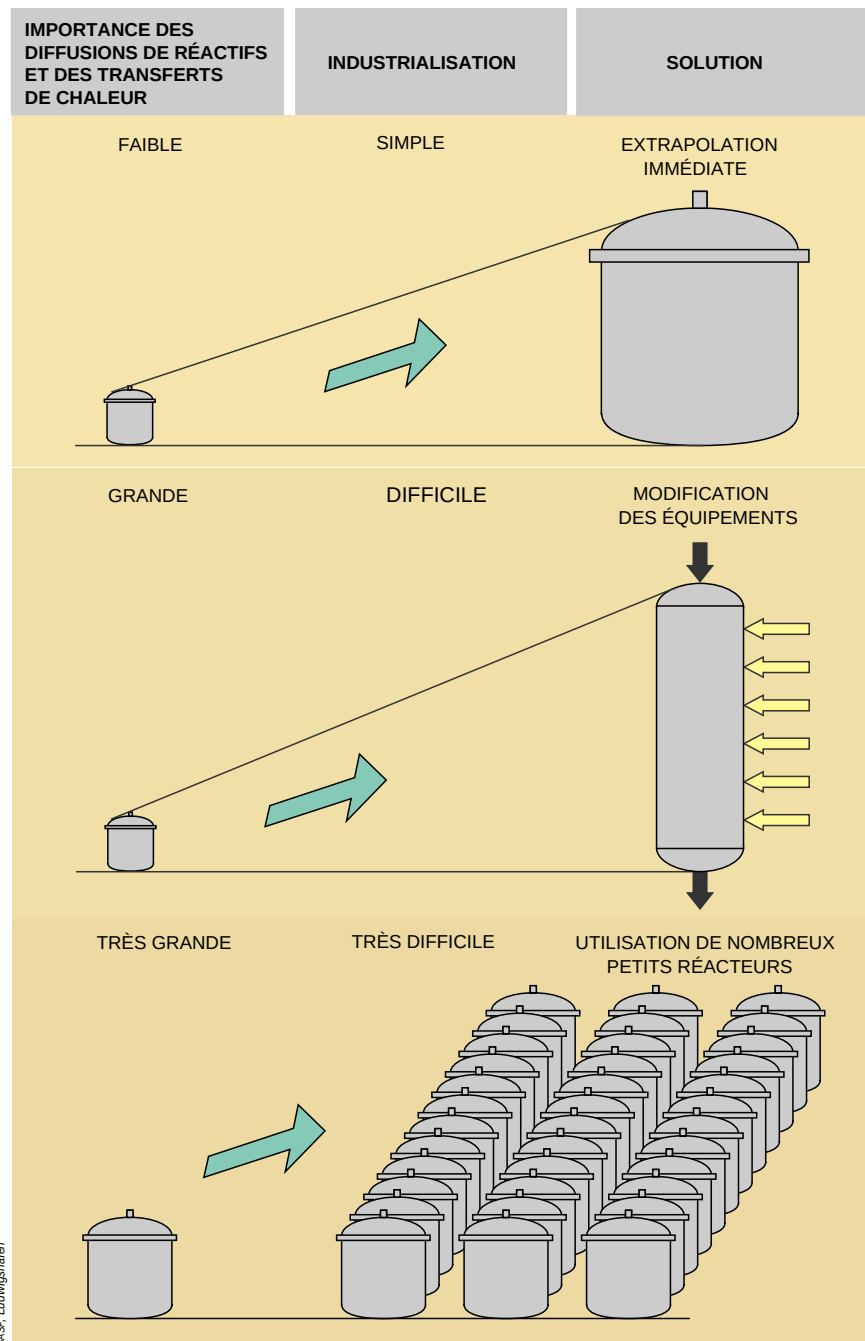
Les difficultés de l'industrialisation vont de pair avec les problèmes de sécurité. Dès la conception des réactions au stade du pilote, les ingénieurs chimistes cherchent à minimiser les causes possibles de fausses manœuvres et d'accident. Les réductions réalisées à l'aide d'hydrures tels que le boro-

hydrure de sodium (NaBH_4) ou le lithiure d'aluminium (LiAlH_4 , voir la figure 6) sont particulièrement problématiques, car ces produits se décomposent au contact de l'eau, libérant de l'hydrogène inflammable : quand de telles réductions s'imposent, le réacteur et son environnement doivent être protégés de l'eau et des flammes. Les conduites d'eau doivent être écartées du réacteur, et les circuits de refroidissement doivent contenir un autre fluide réfrigérant, tel le toluène. En outre, on doit surveiller le déroulement de la réaction, en mesurant notamment la température dans le réacteur, et l'on doit éliminer l'hydrogène formé en balayant par de l'azote la conduite de vidange.

Obligations de résultats

En pharmacie, les équipements doivent être sans cesse perfectionnés, car les exigences industrielles sont compliquées de contraintes écologiques et sanitaires. Généralement les principes actifs doivent être purs à plus de 99 pour cent, et aucun des produits secondaires ne doit être présent en concentration supérieure à 0,1 pour cent. Pour les substances actives qui sont à l'état solide, on doit en outre livrer des grains de taille déterminée, d'humidité résiduelle et de forme cristalline spécifiées, car ces paramètres déterminent la biodisponibilité du principe actif.

Les techniques de purification les plus utilisées sont l'extraction en phase liquide-liquide, la filtration, la diffusion à travers des membranes, la cristallisation, la précipitation ou la séparation chromatographique. La distillation est rarement utilisée, car les produits intermédiaires et les produits finaux ont souvent des températures de fusion élevées et des pressions de vapeur faible, tout en résistant mal aux températures élevées. La distillation sous vide, avec sa faible capacité, est rarement rentable. Même l'élimination des solvants par distillation, procédé courant et simple, est parfois difficile : lors de la synthèse du *LU 103793*, nous devons estérifier la proline par du méthanol (CH_3OH) en présence de chlorure de thionyle (SOCl_2), avec apparition d'acide chlorhydrique (HCl) et de dioxyde de soufre (SO_2) comme produits secondaires ; une fois la réaction terminée, le méthanol en excès



4. LA DIFFICULTÉ DU PASSAGE à la production industrielle résulte surtout de phénomènes physiques tels que le transport des réactifs et les transferts de chaleur. Quand l'effet de ces phénomènes est faible, au cours des réactions réalisées, l'industrialisation est facile, mais, pour les réactions qui dépendent de ces phénomènes, on doit parfois changer de réaction ou utiliser des équipements spéciaux, telles des pompes de recirculation pour assurer un refroidissement plus efficace. Dans les cas les plus défavorables, on doit effectuer la réaction en parallèle dans un grand nombre de petits réacteurs.

devait être éliminé par distillation sous vide. Lors des études d'industrialisation, le rendement de cette étape chuta de plus de 99 pour cent à 90 pour cent, parce que 10 pour cent de l'ester formé se décomposait en cours de distillation. D'où venait l'eau qui provoquait cette hydrolyse? Nous avons observé que, lors d'un chauffage prolongé, l'acide chlorhydrique et le méthanol réagissaient, formant du chlorure de méthyle et de l'eau. Cette réaction n'avait jamais été observée au stade du laboratoire ; elle apparut lors des études d'industrialisation, parce que le temps de contact entre les deux composés était allongé. De nombreux pièges similaires guettent l'ingénieur chimiste et le spécialiste de génie des procédés.

Cristallisation et précipitation

La précipitation ou la cristallisation d'une substance en solution, suivie de la séparation des matières solides, procure souvent un produit très pur, sans chauffage excessif et à un faible coût. De ce fait, la précipitation est souvent utilisée pour la purification des principes actifs. Lors de l'industrialisation, des précautions spéciales sont nécessaires.

La recherche des conditions de cristallisation est souvent difficile, parce que les principes actifs ont le plus souvent une structure complexe. En raison de leurs nombreux groupes polaires ou de leurs groupes chargés, ils ne sont solubles que dans quelques rares solvants polaires. D'autre part, la vitesse de croissance des cristaux dépend d'interactions moléculaires qui sont gênées quand les molécules sont grosses et quand elles contiennent beaucoup de groupes polaires.

Pour obtenir une bonne cristallisation, le chimiste doit bien choisir les solvants utilisés, mais aussi les conditions de la précipitation (la vitesse de refroidissement ou d'addition de l'agent de précipitation), et il doit tenir compte de la présence des produits qui accompagnent le composé à cristalliser. Parfois, les variations de la qualité des réactifs bloquent la précipitation : au lieu de récupérer un précipité cristallin facilement filtrable, on obtient une bouillie aux propriétés de filtration lamentables (voir la figure 6).

L'optimisation des étapes de cristallisation ou de purification à l'échelle industrielle améliore le rendement et, surtout, permet d'obtenir des solides de caractéristiques physiques déterminées. Généralement le chimiste recherche des précipités en grains grossiers, car ceux-ci sont faciles à récupérer par filtration. Cependant, dans le cas des principes actifs peu solubles dans l'eau, on préfère souvent des grains petits, de surface spécifique supérieure, afin d'obtenir un produit plus actif dans l'organisme.

Cette «biodisponibilité» est accrue quand les principes actifs sont administrés sous la forme de solutions solides, c'est-à-dire quand les molécules de principes actifs sont dispersées parmi les molécules d'un excipient. Encore récemment, la réalisation de telles solutions était coûteuse, mais la technique de fusion-extrusion employée par la Société *BASF* et sa filiale *Knoll* donne de bons résultats : le principe actif est amené dans un extrudeur où il est mélangé à un polymère thermo-

plastique et hydrosoluble (telle la polyvinylpyrrolidone), fondu et homogénéisé. Le cordon extrudé par la machine passe sous des rouleaux à demi-formes qui le pressent en comprimés.

On sait depuis longtemps que certaines molécules cristallisent de façons différentes selon les conditions de cristallisation : par exemple, le diamant et le graphite sont deux formes cristallines du carbone pur. Souvent une seule forme est stable, mais plusieurs formes sont métastables (elles n'ont pas l'énergie minimale, mais ne se transforment que très difficilement en la forme stable) : le véronal, par exemple, est un barbiturique qui peut se présenter sous plus de 11 formes différentes qui ont des solubilités et, donc, des efficacités différentes ; dans le cas d'un antibiotique, le palmitate de chloramphénicol, une forme cristalline est active, alors qu'une autre ne l'est absolument pas.

Ce phénomène d'allotropie est important, en pharmacie, parce que les composés présents sous une forme



5. LA SÉCURITÉ DES PROCÉDÉS est une préoccupation majeure de l'industrie pharmaceutique. Les réacteurs industriels doivent être conçus de manière que les possibilités d'erreurs de conduite soient minimisées et que les dysfonctionnements n'aient pas de conséquences notables. Des réactions qui emploient le borohydrure de sodium (NaBH_4) ou le lithium d'aluminium (LiAlH_4), par exemple, sont particulièrement problématiques, car ces réactifs très utilisés en laboratoire se décomposent au contact de l'eau, libérant de l'hydrogène, inflammable. Pour utiliser de tels réactifs en production industrielle, on doit isoler le réacteur et son environnement de toute source d'eau, et remplacer l'eau des systèmes de refroidissement par un autre liquide réfrigérant, tel le toluène. Comme les réactions s'effectuent à des vitesses différentes, selon les parties du réacteur, on doit surveiller leur déroulement, par exemple en mesurant la température en divers points. Enfin, afin d'éviter l'accumulation d'hydrogène, on balaie constamment la conduite d'évacuation par un courant d'azote. Le personnel de laboratoire et les ouvriers qui manipulent du lithium d'aluminium dans l'usine doivent être revêtus de combinaisons anti-feu, à proximité d'extincteurs prêts à l'emploi.

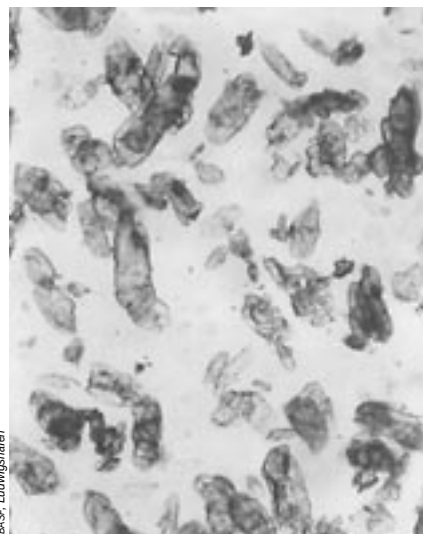
métastable, dans une crème ou dans une solution, peuvent se transformer en des formes stables, au cours du stockage chez le pharmacien ou chez le malade ; des dépôts concentrés ou de gros cristaux risquent de provoquer des surdosages des principes actifs.

Les transitions que subit une substance polymorphe dépendent notamment de la polarité du solvant, de l'acidité et de la température. Souvent plusieurs formes apparaissent simultanément au cours des cristallisations à partir d'une phase vapeur, des sublimations ou des solidifications. L'ingénieur chargé de la mise au point du procédé industriel doit orienter les réactions vers la production du type de structure désiré.

Ces efforts ont des conséquences économiques considérables : la ranitidine, un composé qui réduit l'hyperacidité gastrique, existe sous deux formes différentes, toutes deux actives, mais une seulement est protégée par un brevet. Avant de fabriquer la forme non brevetée, on devra vérifier qu'elle n'est pas métastable et ne risque pas de se transformer spontanément dans l'autre forme, ce qui violerait le brevet déposé.

Analyse et séparation

Les opérations de cristallisation et de précipitation réduisent les rendements globaux des synthèses quand une partie du principe actif reste en solution.

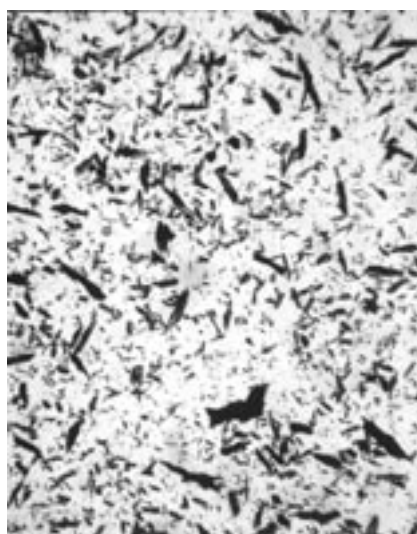


En principe, on peut reprendre la solution-mère, mais en pratique, ce retraitement est trop coûteux. La chromatographie séparative évite de telles pertes. Cette technique sépare des substances présentes dans un fluide par passage sur une phase stationnaire. Dans la chromatographie sur colonne, par exemple, on fait passer la solution-mère à travers un tube vertical garni d'un solide adsorbant ; en raison de leurs interactions différentes avec le support solide, les divers composés du mélange migrent dans la colonne à des vitesses différentes et se rassemblent dans des zones séparées.

La chromatographie en lit mobile simulé (voir la figure 7), mise au point en 1997, est une adaptation industrielle de la méthode : la purification ne s'opère plus par lots, mais en continu par circulation à contre-courant du lit solide et de la solution-mère mélangée au solvant ; le produit recherché et les produits secondaires sont prélevés latéralement. Le mouvement du lit solide, qui est subdivisé en 8, 12 ou 16 segments, n'est en fait que simulé par un changement cadencé des points d'amenée et de soutirage.

La qualité

Les produits fabriqués dans les conditions industrielles ne peuvent être utilisés pour les essais cliniques que s'ils sont très purs. Les impuretés présentes dans le produit testé lors des



essais toxicologiques précliniques doivent être identiques, et en concentrations égales, à celles du produit utilisé pour les essais cliniques ; des puretés de 99 pour cent sont la règle. Dès le début des recherches d'industrialisation, avant la production, la structure de toutes les impuretés présentes à des concentrations supérieures à 0,1 pour cent doit être établie, et, à partir d'une teneur de 0,5 pour cent, les composés secondaires doivent être fabriqués séparément et soumis à une étude toxicologique. Pour l'industrie pharmaceutique européenne, ce sont les directives européennes édictées en 1995 qui s'appliquent.

Les analyses s'effectuent généralement par chromatographie liquide à haute pression, à l'aide d'appareils pilotés par ordinateur. Parfois aussi, on recourt à de l'électrophorèse capillaire, où les substances à analyser se déplacent dans un tube très fin, entraînées par un champ électrique.

Les principes actifs des médicaments sont souvent des solides que l'on ne peut tous tester. Aussi, en phase de production les contrôles de qualité doivent se fonder sur l'analyse d'échantillons prélevés au hasard. De ce fait, on doit s'assurer que le procédé mis en œuvre produit de manière reproductible le composé désiré avec une qualité régulière. Les systèmes d'assurance qualité, déjà en vigueur depuis une vingtaine d'années pour la fabrication de préparations pharmaceutiques (tels les comprimés), ont récemment été appliqués à la synthèse des substances actives. Dans chaque pays, des inspecteurs nationaux vérifient le respect des directives correspondantes pour la mise sur le marché projetée dans le pays concerné ; les membres de la Convention d'inspection pharmaceutique reconnaissent les inspections nationales de manière réciproque.

Comme les États-Unis, qui sont un marché considérable, ne sont pas membres de cette Convention, les laboratoires qui ne sont pas américains se conforment également aux directives de l'Agence américaine du médicament. L'industrie pharmaceutique s'efforce aujourd'hui d'harmoniser les règles de bonnes pratiques de fabrication dans les divers pays. Ces règles imposent notamment une documentation sans faille sur la mise au point des principes actifs, des travaux préparatoires jusqu'à la fabrication du pre-

6. LORS DE L'INDUSTRIALISATION, les ingénieurs sont très attentifs aux variations de la qualité des réactifs. Une telle variation a eu, dans l'exemple illustré ici, des conséquences spectaculaires : au lieu d'obtenir des cristaux facilement purifiables par simple filtration (à gauche), on a obtenu un précipité épais (à droite), qui a définitivement colmaté les pores du filtre. On a finalement compris que de faibles quantités d'une impureté avaient perturbé la cristallisation.

mier lot de un kilogramme. Le procédé de synthèse, au stade du pilote, doit être décrit dans les moindres détails. La première étape est toujours celle du nettoyage de l'installation : comme ces installations sont continuellement utilisées pour la fabrication de nouveaux produits, on doit absolument éviter les contaminations par des substances actives. Par endoscopie, par exemple, on doit contrôler visuellement les parties difficilement accessibles des réacteurs et, en cas de doute, on doit procéder au démontage des installations, pour leur nettoyage.

Les règles de bonne pratique de fabrication exigent également une définition claire et bien documentée des diverses tâches et responsabilités des personnes qui conduisent les installations. Le contrôle des réactifs et des substances actives incombe à un service responsable du contrôle de qualité.

Pour la mise sur le marché, les règles de bonne pratique imposent une autre mesure coûteuse : la validation des procédés. Le fabricant doit prouver que son procédé donne de manière reproductible et fiable un produit conforme aux spécifications. Les paramètres critiques du procédé doivent être identifiés, et leurs limites définies. Quand la purification d'un produit résulte d'une recristallisation qui nécessite une étape préliminaire de dissolution à chaud, par exemple, on peut craindre que des produits secondaires indésirables se forment en cas de surchauffe prolongée. La température et le temps de cristallisation sont ainsi des variables critiques : on doit déterminer en laboratoire la durée maximale d'exposition admissible à cette température avant que les spécifications du produit ne soient modifiées. De même, la concentration en eau d'un solvant est un paramètre déterminant quand le produit est sensible à l'hydrolyse. Quand, par exemple, des opérations de synthèse industrielle se font en présence de un pour cent d'eau, on doit vérifier, au stade de la validation, quelle est la plus grande concentration en eau admissible.

Les installations sont validées après la fabrication de trois lots obtenus dans des conditions définies, et qui sont soumis à des analyses particulièrement poussées.

Le code de bonnes pratiques de fabrication stipule également la procédure à suivre lors de modifications



7. DES MODIFICATIONS DES TECHNIQUES chromatographiques permettent désormais de les utiliser pour la séparation à l'échelle de la production industrielle de diverses substances. Dans cette installation de chromatographie à contre-courant simulé de la Société UOP, 16 colonnes sont disposées en série. Le cadencage de l'ouverture et de la fermeture des points d'amenée et de soutirage permet de simuler le mouvement d'une phase solide. On effectue alors une chromatographie en continu qui consomme moins de solvant et évite les pertes dues à la sélection des fractions.

des procédés et des écarts au fonctionnement standard, le traitement des produits non conformes aux spécifications, la qualification des installations de production, la calibration régulière des points de mesure, ainsi que les conditions de stockage pour les produits intermédiaires et les substances actives. Toutes ces dispositions et bien d'autres visent un but unique : assurer la qualité des principes actifs des médicaments.

Finalement, lorsqu'un nouveau médicament permet le traitement de maladies graves et communes, le public et les médias rendent généralement hommage à la performance du chimiste qui a découvert ou synthétisé pour la première fois la substance active, mais bien peu soupçonnent la colossale quantité de travaux et les trésors d'ingéniosité qu'il a fallu pour que le médicament soit enfin commercialisé.

Georg Arnold KREI et Ernst BUSCHMANN sont ingénieurs chimistes à la Société BASF.

H.A.P. De JONGH, *Schaalvergroting van chemische syntheses in de Pharmaceutische industrie*, in *Chemisch Weekblad*, vol. 69, n° 10, pp. B5 à B7, 1973.

E. PAUL, *Design of Reaction Systems for Specialty Organic Chemical*, in *Chemical Engineering Science*, vol. 43, n° 8, pp. 1773 à 1782, 1988).

E. PAUL, *Reaction Systems for Bulk Pharmaceutical Production*, in *Chemistry and*

Industry, vol. 10, pp. 320 à 325 (1990).

H.J. FEDERSEL, *Drug Chirality, Scale-up, Manufacturing and Control*, in *Chemtech*, vol. 23, n° 12, pp. 24 à 33, 1993.

H.J. FEDERSEL, *Chirale Arzneimittel, Scale-up, Kontrolle und deren Bedeutung für die pharmazeutische Forschung*, in *Chemie in unserer Zeit*, vol. 27, n° 2, pp. 78 à 87, 1993.

N. CHOPEY, *Pilot Plants : More Selective, More Effective*, in *Chemical Engineering*, vol. 103, n° 8, pp. 33 à 39, New York, 1996.

La chimie médicinale

GEORGES TEUTSCH

Les chimistes médicaux connaissent aujourd'hui la structure moléculaire des cibles qu'ils visent, de sorte qu'ils élaborent plus rationnellement des principes actifs. Ils découvrent des molécules qui ont simultanément des effets bénéfiques sur plusieurs organes.

Qu'est-ce que la chimie médicinale? Naguère, c'était un art où les pharmaciens concevaient des molécules qu'ils connaissaient mal, afin qu'elles aient un effet précis sur un organisme dont ils ne savaient pas grand-chose. Aujourd'hui, les chimistes médicaux élaborent des produits chimiques aux caractéristiques pharmacologiques précises, déterminées par la constitution de leurs cibles.

Tout organisme vivant est un système chimique, sur lequel on agit soit en y introduisant des molécules extérieures, soit en modifiant l'équilibre des molécules internes, par des moyens non chimiques.

Cette dernière solution a été peu explorée, mais on sait, par exemple, que la sécrétion de certaines molécules de l'organisme, ou molécules endogènes, varie avec l'éclairement ou avec la saison : en modifiant l'éclairement reçu par un malade, on commande la libération de mélatonine, l'hormone sécrétée par l'épiphyse. De même, l'influence du mental, notamment des émotions, sur la décharge d'adrénaline n'est pas contestable. La sécrétion de la prolactine, l'hormone de la lactation, est très sensible à des stimulations tactiles. La formation osseuse dépend de stimuli mécaniques, ce qui explique la rapide perte de masse osseuse des astronautes en microgravité. On peut également imaginer que l'acupuncture provoque des modifications locales, voire générales, des concentrations en certaines molécules endogènes. Enfin n'oublions pas l'effet placebo : il est si puissant que les pharmacologues doivent comparer les nouveaux médicaments à des molécules placebo dépourvues d'activité biologique intrinsèque.

La chimie médicinale délaisse ces phénomènes pour ne s'occuper que de médication chimique directe, et le chimiste médicinal est avant tout un chimiste engagé dans la conception et dans la réalisation de molécules nouvelles, dotées de propriétés pharmacologiques définies. Sa tâche ne diffère pas fondamentalement de celle des chimistes des matériaux, car, comme eux, il cherche à créer une matière ayant des propriétés déterminées : résistance, flexibilité, légèreté, etc. pour l'un ; activité biologique, sélectivité, biodisponibilité, etc. pour l'autre. Dans les deux cas, le dialogue est permanent entre l'exploration des structures moléculaires et les tests d'évaluation de l'activité des produits. Aussi la chimie médicinale est-elle une synthèse entre la chimie, la biochimie des cibles thérapeutiques (voies de signalisation, systèmes enzymatiques), la physiologie (absorption, distribution, métabolisme, excrétion) et la toxicologie.

Les récepteurs, cibles des médicaments

L'une des approches les plus utilisées par les chimistes médicaux est la modification de principes actifs. Au Centre de recherches de la Société *Roussel Uclaf*, par exemple, nous avons notamment utilisé cette approche dans le cas des hormones stéroïdiennes dérivées du cholestérol. Le cholestérol partage avec les hormones stéroïdiennes

un noyau nommé stérane, composé de trois cycles à six atomes de carbone et d'un cycle à cinq atomes de carbone (voir la figure 2). Les hormones stéroïdiennes, telles que le cortisol (synthétisé par les glandes surrénales) ou la progestérone (sécrétée par le corps jaune et le placenta, elle assure la nidation de l'œuf et intervient au cours de la grossesse) sont synthétisées par les organismes animaux à partir du cholestérol.

Ces composés sont présents dans le sang et, parfois, dans les urines, mais en concentrations trop faibles pour satisfaire les besoins thérapeutiques (sauf dans le cas des estrogènes, dont certains sont encore extraits de l'urine de juments gravides).

Après l'isolement de la cortisone, à la fin des années 1930, et la mise en évidence de sa remarquable activité anti-inflammatoire, une dizaine d'années plus tard, l'industrie pharmaceutique chercha frénétiquement des analogues plus actifs ou plus sélectifs de la molécule. Conservant le squelette de base, les chimistes médicaux modifièrent toutes les positions accessibles à la chimie d'alors : remplacement de liaisons simples par des liaisons doubles entre deux atomes de carbone voisins, remplacement de certains atomes d'hydrogène par des atomes d'halogènes (fluor, chlore, brome ou iode) ou par des groupes d'atomes qui modifient la solubilité dans l'eau ou dans les graisses, adjonction de cycles conte-

1. UNE PETITE PÉNICILLINE (au centre) interagit avec l'enzyme bêta lactamase d'une bactérie (dont le squelette est représenté en jaune). En étudiant la fixation de l'enzyme sur la pénicilline, on invente des pénicillines modifiées, qui viennent à bout des bactéries devenues résistantes aux antibiotiques, grâce à leurs enzymes. Pour ces études, on utilise des banques de structures tridimensionnelles établies par cristallographie des cibles, lesquelles sont souvent des protéines.

nant d'autres atomes que le carbone... Par ce jeu d'essais et d'erreurs, toute une gamme d'anti-inflammatoires cortisoniques apparut (*voir la figure 2*), en même temps qu'un ensemble de relations qualitatives entre les structures des molécules et leur activité biologique.

On ne sait pas pour autant prévoir l'activité à partir de la structure : les relations observées sont seulement descriptives, et non explicatives, car on ignore dans le détail comment les principes actifs ainsi créés agissent sur leurs cibles. De surcroît, même quand on a établi des relations quantitatives entre certaines caractéristiques structurales et l'activité, on n'a, au mieux, optimisé qu'une des étapes indispensables à l'efficacité des principes actifs : la liaison d'une molécule à un récepteur étant ainsi assurée, il reste que l'absorption, par voie orale ou sous-cutanée, la répartition dans les organes

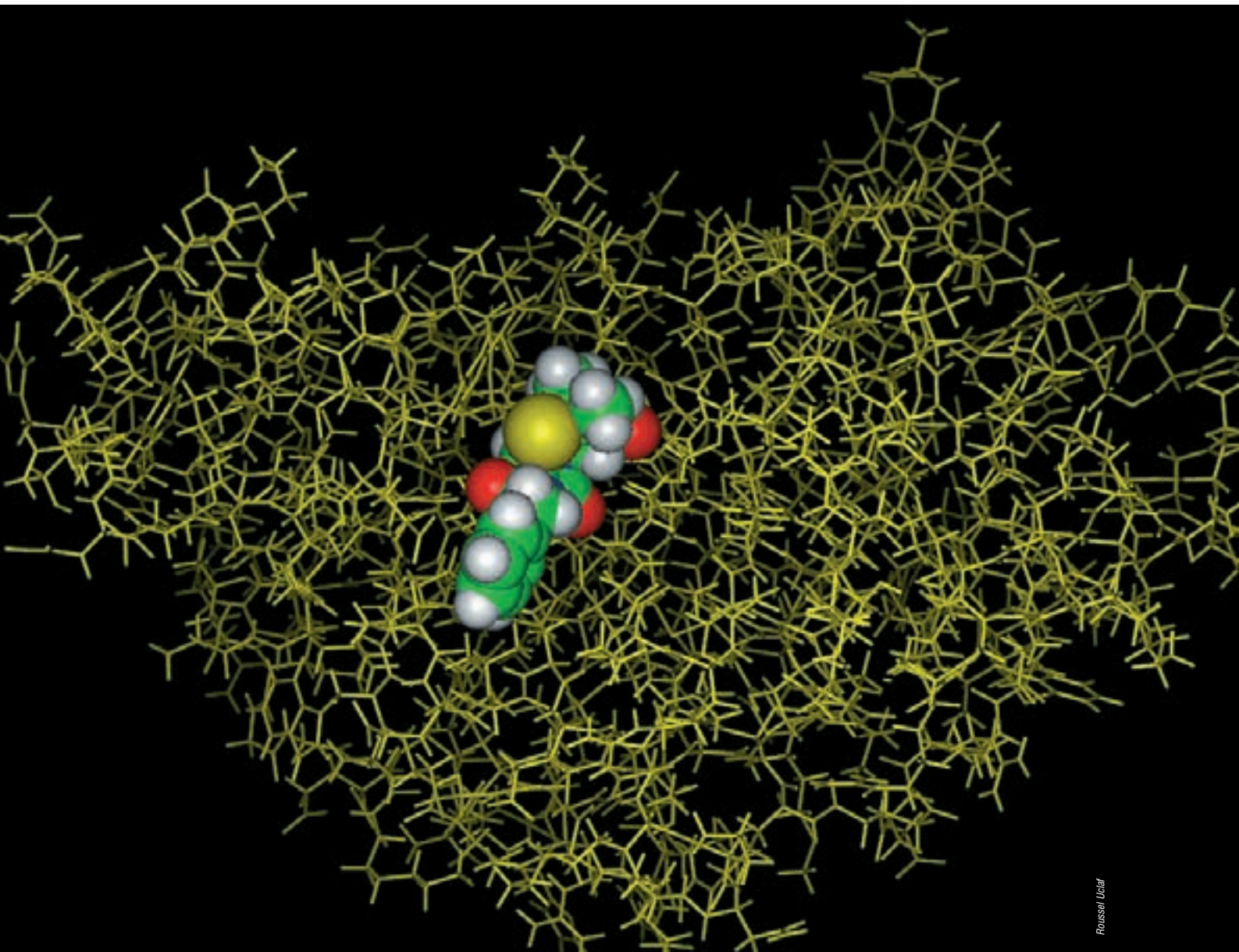
cibles, la transformation métabolique, les activités indésirables, etc. sont des phénomènes régis par des lois différentes et qui imposent des caractéristiques spécifiques des principes actifs. Les principes actifs optimisés résultent le plus souvent d'une série de compromis.

De nombreux autres principes actifs ont été inspirés par des molécules du corps dont on connaissait la fonction (molécules « endogènes ») : les analogues de prostaglandines (des molécules composées de deux chaînes hydrocarbonées greffées à un cycle à cinq atomes de carbone) modulent de nombreuses réactions métaboliques ; des peptides (des enchaînements de quelques acides aminés) de l'hypothalamus stimulent la sécrétion d'hormones par l'hypophyse ; les analogues de l'adrénaline, de la dopamine ou de la sérotonine agissent sur le système nerveux...

La liaison aux récepteurs

Beaucoup de composés biologiquement actifs qui forment des têtes de série doivent leur activité à leur liaison à des protéines nommées récepteurs. Les dérivés issus de ces têtes de série ont souvent une activité biologique analogue à celle de la tête de série (agonistes), mais les modifications chimiques conduisent également à des composés antagonistes, c'est-à-dire qui s'opposent à l'activité des molécules agonistes en bloquant les récepteurs.

Ainsi les chimistes médicaux ont obtenu des antagonistes de la LHRH (une hormone qui intervient dans la régulation du cycle menstruel) quand ils ont remplacé certains des dix acides aminés de la LHRH par des acides aminés synthétiques fortement solubles dans les graisses. Ce fut un coup de chance : initialement, les chimistes



étaient gênés par la courte durée de vie des peptides et ils tentaient seulement de les stabiliser dans l'organisme en remplaçant certains acides aminés naturels par des analogues de synthèse. Ces modifications engendrèrent des agonistes plus puissants... et aussi des antagonistes.

De même, le remplacement d'atomes d'hydrogène liés au noyau stérane par des groupes encombrants, généralement lipophiles (solubles dans les graisses), a transformé des agonistes de la progestérone, de la cortisone et de l'estradiol en antagonistes : le RU 486, principe actif de la pilule abortive, est un des exemples les plus

connus produits par cette démarche (voir *Le RU 486, principe actif sociale-ment contesté*, par Édouard Sakiz, page 122).

Souvent les modifications d'activité ainsi obtenues restent incomprises, et l'élucidation des effets observés nécessite de longues études. Dans le cas du RU 486, par exemple, il a fallu des mois de travail pour comprendre que l'activité antagoniste résulte d'une conformation modifiée du complexe entre le RU 486 et le récepteur, rendant ce dernier incapable de déclencher la transcription des gènes qui assurent l'activité agoniste. D'autre part, les études fines du

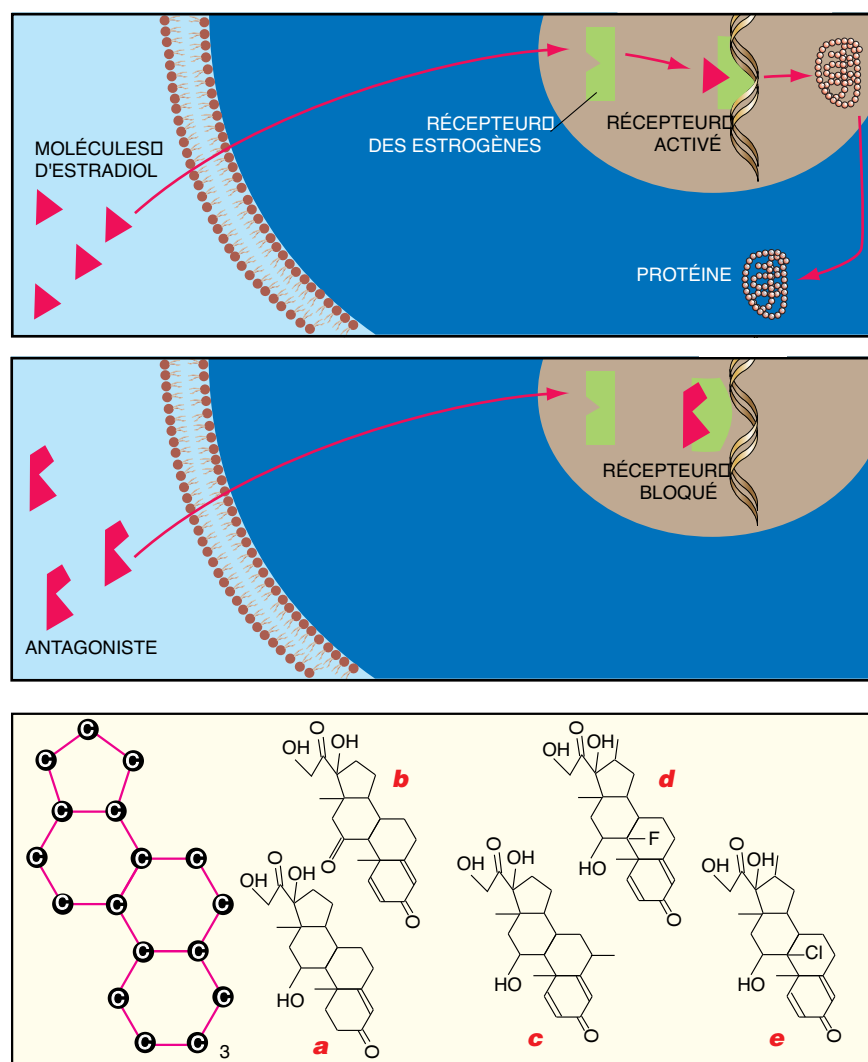
mécanisme d'action de la molécule ont montré que les récepteurs des hormones stéroïdiennes sont suffisamment flexibles pour se lier à des ligands variés, à condition que certains éléments de reconnaissance soient présents : par exemple, l'atome de carbone 3 du noyau stérane doit être lié à un atome d'oxygène pour les hormones stéroïdiennes.

La nature réserve des surprises : les chimistes médicaux ont longtemps admis que la qualité agoniste ou antagoniste d'une molécule pour un récepteur était indépendante de l'organe ou du tissu contenant ce récepteur, mais J. Compston et ses collègues de l'Université de Cambridge ont démontré que certaines molécules dont la formule chimique est voisine de celle des estrogènes sont agonistes dans certains tissus et antagonistes dans d'autres, alors qu'ils agissent toujours sur le même récepteur.

Plus récemment, les chimistes des Laboratoires *Eli Lilly* ont montré que la molécule nommée raloxifène, aujourd'hui testée pour la prévention de l'ostéoporose, agit comme un anti-estrogène sur l'utérus (elle prévient la prolifération des cellules de l'endomètre) et sur les cellules cancéreuses estrogéno-dépendantes (elle limite leur croissance), tandis qu'elle conserve une activité estrogénique sur les récepteurs osseux (ce qui assure l'intégrité des os).

Cette découverte de «modulateurs sélectifs du récepteur estrogène» est prometteuse, parce qu'elle laisse envisager des molécules ayant plusieurs activités simultanées : un même médicament pourrait ainsi préserver la masse osseuse d'une femme ménopausée tout en réduisant son taux de cholestérol sanguin, sans agir sur la muqueuse utérine et en inhibant le développement des cellules cancéreuses sensibles aux estrogènes.

Déjà beaucoup explorées, les molécules endogènes ont encore un grand avenir, car les neurobiologistes ou les immunologistes, par exemple, identifient aujourd'hui une foule de composés qui ressemblent aux hormones et pourraient donc conduire à des dérivés biologiquement actifs : les interférons libérés lors d'agressions par des virus, les peptides cérébraux, qui assurent la communication entre les neurones, les cytokines, qui règlent les interactions des cellules du soi,



2. PARMI LES DÉRIVÉS de principes actifs nommés têtes de série, on a découvert des molécules qui se lient aux mêmes cibles que celles des têtes de série, soit avec la même action (agonistes), soit sans provoquer d'effet (antagonistes). Dans la partie supérieure de l'image, on a représenté le mode d'action de l'estradiol ou d'un de ses agonistes (*en haut*) et celui d'un antagoniste (*en dessous*). Le tableau inférieur montre le noyau stérane présent dans de nombreuses hormones (*à gauche*) et quelques-unes des molécules qui le contiennent : le cortisol (*a*), présent dans l'organisme, et des molécules qui en sont dérivées, la prednisone (*b*), la méthylprednisolone (*c*), la dexaméthasone (*d*) et la béclo méthasone (*e*).

pourraient être des têtes de série prometteuses.

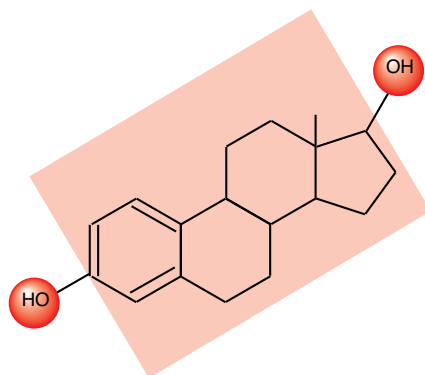
Pourquoi se cantonner aux molécules déjà présentes dans l'organisme ? L'environnement contient une foule de composés actifs, que les chimistes médicaux s'attachent également à modifier. Contrairement aux travaux avec les molécules endogènes, où le chimiste médical se fonde sur la connaissance de la physiologie, aucun *a priori* ne guide les études (sauf dans le cas de médications traditionnelles, voir *La recherche des simples*, par Xavier Lozoya, page 36), et la recherche ne commence que lorsqu'une molécule extraite d'une plante, d'un champignon ou d'une bactérie révèle, souvent par hasard, une activité biologique. Une fois établie la structure chimique, le chimiste médical se livre au même travail de synthèse d'analogues et de modélisation des relations entre structure et activité que pour les molécules endogènes.

Des médicaments dans la nature

La plupart des antibiotiques proviennent de telles études : pénicillines, céphalosporines, monobactames, macrolides, aminoglycosides ont été obtenus par hémisynthèse, c'est-à-dire par modification chimique de têtes de série recueillies dans la nature. De même, des morphiniques actifs sur le système nerveux central ont été dérivés de l'opium, tandis que des médicaments neuroactifs étaient dérivés d'alcaloïdes de la classe de l'ergotamine (un composé présent dans l'ergot de seigle) ; plus récemment, des dérivés anticancéreux étaient obtenus à partir du taxol (présent dans l'if).

Plus fréquemment que dans le cas des molécules endogènes, qui sont moléculairement adaptées à l'organisme, le chimiste médical doit modifier la « biodisponibilité » des molécules étudiées : c'est ainsi que de nombreux travaux ont été nécessaires pour parvenir à la mise au point de pénicillines et de céphalosporines absorbables par voie orale et, donc, résistant aux acides et aux enzymes du système digestif.

Là encore, l'approche est pragmatique : le chimiste médical procède par hypothèses successives, se fondant sur la connaissance phy-



3. UN PHARMACOPHORE est un ensemble de plusieurs groupes chimiques dont l'action combinée est responsable d'une activité biologique. Ici, le pharmacophore de l'estradiol est l'ensemble des deux groupes hydroxyle (-OH) aux extrémités de la molécule. Ces groupes n'agissent sur le récepteur de l'hormone que parce qu'ils sont maintenus écartés d'une distance de un nanomètre environ par une partie centrale rigide (*en rose*). D'autres molécules ayant les mêmes groupes hydroxyle séparés par la même distance agissent sur le même récepteur.

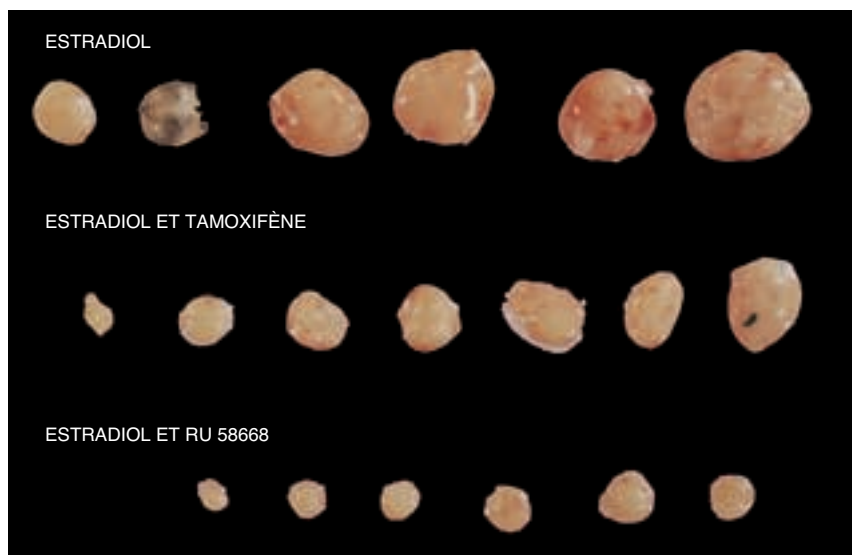
sico-chimique des composés actifs et des milieux où ces composés doivent agir. Par exemple, pour produire des pénicillines administrables par voie orale, on a synthétisé des précurseurs des molécules actives (pro-drugues) qui traversent la paroi intestinale et qui, dans le sang, sont coupées par des enzymes nommées estérases : le composé actif est alors libéré dans le sang. On cherche aujour-

d'hui des méthodes aussi efficaces pour les céphalosporines.

Si les composés naturels ont encore de beaux jours devant eux, les chimistes médicaux ne délaissent pas les molécules synthétiques, qui peuvent également constituer des têtes de série. C'est même l'activité quotidienne d'une grande majorité de chimistes médicaux, qui se préoccupent ainsi d'augmenter l'activité, la sélectivité, de surmonter des phénomènes de résistance, de diminuer les effets secondaires ou toxiques, de concevoir des méthodes de synthèse moins coûteuses... Les objectifs sont souvent si nombreux que le travail relève quelquefois de la quadrature du cercle.

La recherche des variations

Aujourd'hui la mode est à la recherche de bio-isostères, c'est-à-dire de fonctions chimiques différentes qui ont néanmoins la même activité biologique. Par exemple, on sait depuis les années 1980 que le groupe tétrazole (un cycle pentagonal à quatre atomes d'azote et un atome de carbone, avec un atome d'hydrogène lié à un des atomes d'azote) agissait comme les molécules sulfonamides $R-SO_2-NH-CON$ et les acides carboxyliques $R-COOH$: dans les trois cas, un atome d'hydrogène peut se dissocier (caractère acide). De même,



4. LES TUMEURS MAMMAIRES DE SOURIS (ici classées par ordre de taille, pour plusieurs souris) évoluent différemment selon les molécules dérivées des estrogènes qui ont été administrées aux animaux. On a comparé ici l'effet de l'estradiol (*rangée supérieure*), de l'estradiol administré avec le tamoxifène (*rangée du milieu*) et de l'estradiol administré avec le composé nommé RU 58668 (*rangée inférieure*) : alors que l'estradiol favorise la croissance cancéreuse, le tamoxifène et, plus encore, le RU 58668 limitent ou font régresser les tumeurs (la photographie montre l'effet des molécules après dix semaines de traitement).

on a observé que, dans quelques rares cas, le groupe nitro $-\text{NO}_2$ peut agir comme un groupe carboxylate $-\text{COO}^-$.

D'autres analogies entre groupes chimiques apportent également des variations intéressantes qui préservent les activités de base. Ainsi un atome d'oxygène O peut parfois être remplacé avantageusement par un groupe difluorométhyle $-\text{CHF}_2$, parce que la densité d'électrons est forte dans les deux cas (cette densité d'électrons détermine la liaison des médicaments aux récepteurs). De même, on conserve une bonne solubilité dans les graisses quand on remplace un groupe méthyle $-\text{CH}_3$ par un atome de chlore $-\text{Cl}$.

Deux groupes chimiques ne sont jamais équivalents, mais c'est là un avantage : les différences conduisent à une gamme d'activités biologiques. En raison de la très grande diversité des cibles biologiques, l'observation des propriétés de molécules déjà synthétisées ne permet pas une prévision parfaitement fiable du comportement de molécules nouvelles, mais elle guide les tentatives de modification.

Le concept de «pharmacophore» est beaucoup utilisé pour ces travaux. Ce concept est à la fois plus ancien et plus large que celui de «bio-isostère» : c'est la structure nécessaire pour obtenir une activité biologique particulière. Généralement c'est un ensemble de groupes chimiques (le plus souvent

deux à quatre) qui occupent des positions définies dans l'espace (parce que ces groupes sont portés par des atomes de carbone voisins, dans les molécules, ou parce qu'ils sont éloignés, mais à des distances fixes). Ce concept a évolué avec l'avènement des banques de données informatisées de structures tridimensionnelles de molécules : initialement le pharmacophore correspondait à une molécule réelle ou, du moins, à une structure partielle, tandis qu'aujourd'hui une combinaison disjointe de groupes peut porter ce nom.

Un des pharmacophores les plus simples que nous ayons étudiés est celui des estrogènes, classe d'hormones dont le chef de file est l'estradiol, l'hormone des mammifères qui intervient au cours du cycle menstruel (voir la figure 3) : ce pharmacophore est constitué de deux donneurs de liaisons hydrogène (des groupes hydroxyle $-\text{OH}$) séparés de un nanomètre environ par un squelette hydrophobe (le noyau stérane). À cette définition correspond une foule de molécules capables de se lier au même récepteur. C'est cette «largeur» du pharmacophore des estrogènes qui explique que de nombreuses molécules de l'environnement ou des plantes aient une activité analogue à l'activité des hormones humaines : ces molécules sont respectivement des xénoestrogènes et des phytoestrogènes.

L'action analogue des molécules possédant le même pharmacophore que celui des estrogènes est un inconvénient pour les femmes : on savait que les estrogènes peuvent favoriser la croissance de certains cancers du sein quand ils sont à des doses excessives, et les cancérologues ont établi qu'une proportion notable de cancers du sein sont dus à ces xéno- et phytoestrogènes ; inversement certains phytoestrogènes présents dans l'alimentation (soja) semblent protéger les femmes japonaises.

La partie hydrophobe, entre les deux groupes hydrophiles, est importante, parce que, selon sa constitution exacte, elle modifie l'activité globale de la molécule ; souvent, même, elle participe directement à la liaison au récepteur. Notons en outre qu'un même pharmacophore peut avoir plusieurs activités différentes : par exemple, le RU 486 est un anti-glucocorticoïde, c'est-à-dire qu'il s'oppose à l'activité du cortisol, mais c'est aussi un antiprogestérone ; il se fixe donc sur plusieurs récepteurs.

L'approche mécanistique

Si le chimiste doit souvent tâtonner pour trouver des molécules qui se lient à un récepteur dont la structure est encore inconnue, une approche plus rationnelle est possible, lors de la recherche d'inhibiteurs d'en-



5. DANS L'ÉCURIE des Laboratoires Roussel, à Romainville (photographiée ici dans les années 1930), on extrayait des estrogènes de l'urine de juments gravides. Les hormones stéroïdiennes, telle la progestérone (sécrétée par le corps jaune et le placenta, elle assure la

nidation de l'œuf et intervient au cours de la grossesse), sont synthétisées par les organismes animaux à partir du cholestérol. Elles sont présentes dans le sang et dans les urines, mais en concentrations trop faibles pour satisfaire les besoins thérapeutiques.

zymes. Dans ce cas particulier (mais important : pensons aux anti-protéases utilisées en trithérapie du SIDA), deux lignes de travaux ont jeté les bases d'une méthode rationnelle de mise au point de principes actifs. Tout d'abord, les biochimistes ont appris à cristalliser les protéines (et les enzymes, qui sont des protéines), de sorte que les cristallographes ont déterminé leur structure. D'autre part, des études plus classiques de biochimie ont amélioré notre connaissance des réactions enzymatiques. Nous reviendrons ultérieurement sur les exemples d'utilisation rationnelle des données structurales.

Même quand il ne dispose pas de ces informations, le chimiste médical n'est pas démuni. Pour inhiber une enzyme, on peut tout d'abord administrer une grande quantité d'une molécule analogue au substrat de cette enzyme, de sorte que l'enzyme transforme ce substrat exogène, plutôt que le substrat endogène. On peut aussi administrer un substrat exogène que l'enzyme ne peut couper, nommé inhibiteur compétitif ; dans ce cas, l'affinité de l'inhibiteur pour le site actif de l'enzyme est déterminante pour que l'enzyme se lie plutôt à l'inhibiteur qu'au substrat naturel. Contre les enzymes qui contiennent un atome de métal (tel le zinc ou le fer), les inhibiteurs chélatants, qui forment un complexe résistant avec l'atome métallique, sont particulièrement efficaces. On peut aussi viser non le substrat isolé, mais le substrat en cours de transformation, afin de mieux cibler l'effet, en raison de la forme très particulière que prend le substrat lié à l'enzyme.

Enfin les inhibiteurs suicides ont semblé très prometteurs : ces molécules, modifiées par les enzymes, sont alors suffisamment réactives pour se lier irréversiblement à l'enzyme et la désactiver ; ainsi l'enzyme succombe à une sorte d'accident du travail. Malgré l'élégance de l'opération, les inhibiteurs de ce type ne sont plus guère recherchés, parce que les intermédiaires réactifs qu'ils forment peuvent s'échapper et agir sur d'autres molécules que les enzymes ; en outre, la destruction des enzymes provoque souvent une réaction de l'organisme, qui, détectant une concentration réduite en enzyme, met en œuvre ses systèmes de renouvellement de la molécule.



Le Forum Centrale Entreprises aura lieu sur le site de l'école Centrale Paris, à Châtenay-Malabry.

Mardi 18 Novembre: Journée Métiers

Lors de cette journée, des stands regrouperont des ingénieurs provenant de diverses entreprises mais appartenant au même secteur d'activité.

De plus, un débat se tiendra à 17 heures sur le thème des formations complémentaires.

Mercredi 19 Novembre: Journée Entreprises

Lors de cette journée, chaque société disposera de son propre stand, où les élèves pourront apprécier ses spécificités.

Le Forum s'achèvera sur une conférence d'une personnalité du monde industriel.

Pendant les deux jours, seront à la disposition des élèves un Espace Conseil (avec simulations d'entretiens et stands de rédaction de CV), des Petits-Déjeuners et Déjeuners Rencontres entre élèves ingénieurs et entreprises, ainsi que l'accès au serveur Internet du Forum.

Renseignements : Forum Centrale Entreprises,

tel: 01 41 13 15 15, fax: 01 46 83 93 39

Attention, le Forum est strictement réservé aux étudiants (carte d'étudiant exigée à l'entrée).

Le principal progrès récent résulte de la constitution de banques de données de structures tridimensionnelles de protéines cibles (récepteurs, enzymes), éventuellement complexées à leur ligand (pour les récepteurs) ou à un inhibiteur (pour les enzymes).

L'approche structurale

Le génie génétique, qui s'est beaucoup développé, a contribué à l'enrichissement rapide de ces banques de données : les méthodes de manipulation de gènes permettent de synthétiser des protéines sur mesure, à partir de

séquences géniques identifiées. Puis les méthodes de cristallographie des protéines donnent la structure des molécules synthétisées.

Ces informations bouleversent la chimie médicinale : alors que le chimiste peinait naguère à obtenir une idée, souvent floue, du site actif, en essayant d'en dresser indirectement la topographie par la synthèse d'un grand nombre de ligands, il dispose de plus en plus fréquemment d'un modèle réaliste de la cible (*voir la figure 1*). C'est comme si quelqu'un venait d'allumer la lumière dans le château de la Belle au bois dormant, jusqu'alors plongé dans l'obscurité.

La mise au point d'inhibiteurs puissants de la protéase du VIH, avec lesquels on traite aujourd'hui les personnes atteintes du SIDA, a largement bénéficié des études cristallographiques de la protéase liée à des inhibiteurs initialement détectés par criblage moléculaire.

Ce procédé de cocrystallisation de protéines et de leurs ligands a même souvent été utilisé de manière itérative au cours de l'optimisation de molécules. Il permet d'améliorer rapidement l'affinité de l'inhibiteur (ou du ligand) pour le site actif ou (ou le récepteur) : connaissant les caractéristiques chimiques des liaisons, on augmente les interactions liantes et l'on réduit les interactions défavorables.

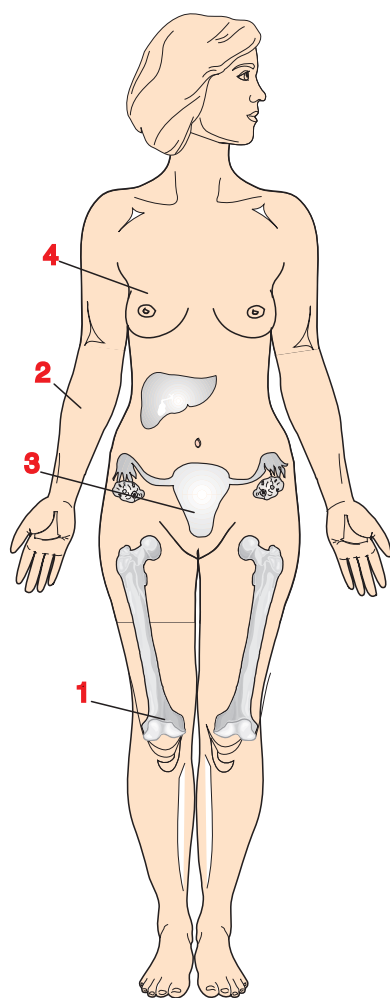
On a même conçu *de novo* des ligands d'enzymes à partir de la seule connaissance de la structure tridimensionnelle du site récepteur. Cette approche se développera rapidement, car les programmes de cartographie du génome humain promettent une explosion du nombre de protéines cibles. La conception de principes actifs ne deviendra pas pour autant une opération banale, car il restera toujours à résoudre les problèmes de pharmacodynamique et d'activité *in vivo*, pour lesquels on n'a pas de solution générale. On peut cependant espérer que l'utilisation extensive de banques de données informatiques sera d'un grand secours pour trouver des solutions par analogie.

De ce fait, on comprend que l'informatique est un des facteurs décisifs dans les progrès fulgurants de la chimie médicinale. Elle permet d'utiliser la modélisation moléculaire et la détermination structurale (rayons X) de manière interactive, les temps

de calcul étant considérablement réduits, mais aussi de cribler rapidement des banques de structures tridimensionnelles à la recherche de pharmacophores potentiels. L'avènement de la chimie combinatoire et des criblages biologiques à haut rendement conduit à un déluge de données qui seraient inexploitable sans moyens informatiques.

Quand on ignore la structure tridimensionnelle d'une protéine, on peut souvent la modéliser à partir de la structure d'une protéine apparentée. La constitution de bibliothèques virtuelles de produits, à l'aide de programmes informatiques, une technique que l'on a nommée *synthèse in silico*, permet d'évaluer un grand nombre de molécules potentielles, de pharmacophores, de conformations ou de caractéristiques calculables *a priori*. Grâce à ces exercices de simulation, la part de l'incertitude et du tâtonnement se réduira progressivement pour faire de la chimie médicinale une science, alors qu'elle s'apparentait plutôt à un art.

Le rêve des gestionnaires de l'industrie pharmaceutique, de pouvoir programmer la mise au point des nouveaux médicaments, n'a jamais été aussi près de se réaliser... mais gageons qu'il reste suffisamment d'inconnues pour laisser aux chimistes médicaux la possibilité d'exercer leur perspicacité et leur créativité.



6. LES MODULATEURS SÉLECTIFS de récepteurs figureront sans doute parmi les médicaments de demain, parce qu'ils peuvent avoir simultanément plusieurs effets bénéfiques. Les plus avancés sont les modulateurs du récepteur des estrogènes, aujourd'hui testés pour la prévention de l'ostéoporose : ils conservent les propriétés bénéfiques des estrogènes sur le maintien de la masse osseuse (1) et la baisse du cholestérol (2), alors qu'ils ont une activité antiestrogénique sur l'utérus (3) et sur les cellules cancéreuses sensibles aux estrogènes (4).

Georges TEUTSCH est responsable du programme Chimie combinatoire au Centre de recherches de la Société Roussel Uclaf.

Camille Georges WERMUTH, *The Practice of Medicinal Chemistry*, Academic Press, 1996.

H. SINGH, A. CHAWLA, V. KAPOOR, D. PAUL et R. MALHOTRA, *Medical chemistry of tetrazole*, in *Progress in Medicinal Chemistry*, sous la direction de G. Ellis et G. West, Elsevier, pp 151-183, 1980.

C. WRIGHT, E. MANSELL, J.-C. GAZET et J. COMPSTON, *Effect of long term tamoxifen treatment on bone turnover in women with breast cancer*, in *British Medical Journal*, 1993, vol. 306, pp. 429-430.

T. B. CLARKSON, M. S. ANTHONY et C. L. HUGHES, *Estrogenic soybean isoflavones and chronic disease*, in *Trends Endocrinol. Metab.*, 1995, vol. 6, pp.11-16.

Les nouvelles formes galéniques

ALBERTO FRIGERIO • FRANCESCA BODEGA

De nouvelles façons d'administrer les médicaments prolongent leur action et permettent de diminuer les doses.

Pour nous soigner lorsque nous sommes malades, nous avalons généralement des comprimés, des poudres, des gélules ou des liquides, à intervalles réguliers. Toutefois, avant d'atteindre les organes visés par le traitement, les principes actifs ingérés sont partiellement dégradés dans le système gastro-intestinal : une partie seulement parvient dans le sang, qui la dilue et la transporte

alors dans tout le corps. Dans le cas où le traitement vise un organe particulier, celui-ci n'est atteint que par une petite partie du principe actif absorbé.

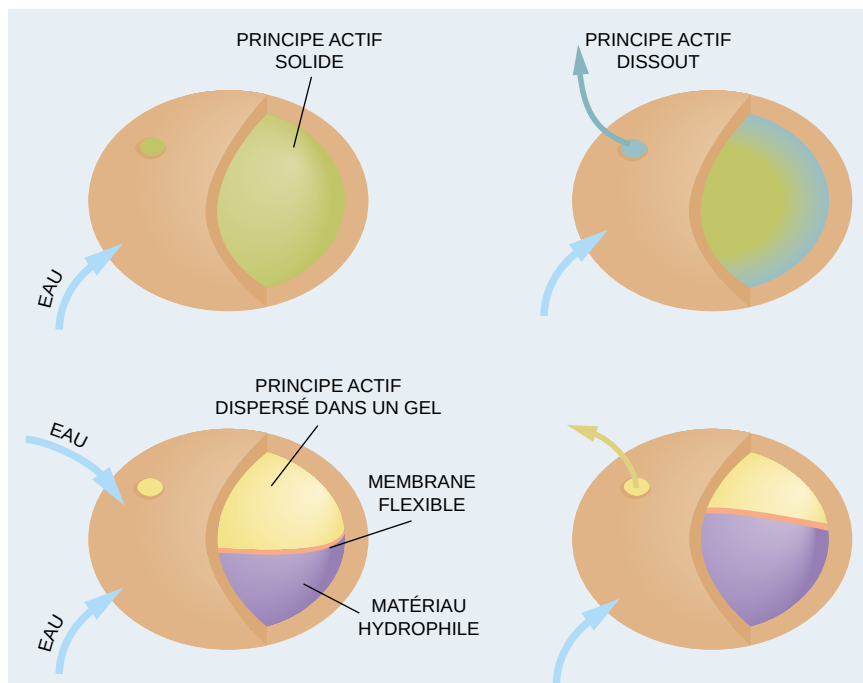
Le métabolisme des médicaments dans le système digestif limite les doses de principe actif effectivement disponibles pour le traitement et, parfois, l'efficacité de celui-ci. Or on ne peut augmenter les doses administrées sans augmenter aussi les quantités méta-

bolisées dans le système digestif, ce qui accroît parfois des effets secondaires déjà indésirables.

À l'inverse, si l'on réduisait la proportion de molécules actives dégradées ou si on les délivrait précisément dans l'organe à traiter, on pourrait diminuer les doses administrées. Les traitements seraient plus efficaces et les effets secondaires moindres.

Par ailleurs, la concentration en principe actif dans le sang suit le cycle de la digestion : elle augmente après l'absorption du médicament, puis diminue à mesure que les molécules sont dégradées dans l'organisme. Pour les traitements où cette concentration doit rester constamment à des valeurs élevées, des prises fréquentes de médicaments sont nécessaires.

Comment délivrer plus durablement et plus efficacement les médicaments ? Les différents types de médicaments à libération modifiée qu'étudient aujourd'hui les pharmaciens assurent une concentration constante en principe actif dans le sang, retardent ou accélèrent la libération du principe actif, ou encore diminuent le nombre de prises quotidiennes pour la même action thérapeutique. D'autres procédés optimisent l'administration de médicaments à travers les muqueuses buccales ou nasales, voire directement à travers la peau. Ces nouveaux systèmes d'administration facilitent la prise des médicaments par les malades (ils pallient les oublis) et en augmentent l'efficacité. Comme ils réduisent la quantité totale de principe actif utilisée, ils contribuent à rendre les traitements moins coûteux.



1. LES COMPRIMÉS OSMOTIQUES sont constitués d'un noyau de principe actif et d'une enveloppe semi-perméable (*en haut*). Seules les molécules d'eau du milieu environnant traversent la membrane (*flèches bleues*), par osmose, et pénètrent dans le noyau, dissolvant le principe actif. L'augmentation de la pression interne provoque la sortie du principe actif dissous dans l'eau, par un orifice préalablement percé dans la membrane. Certains comprimés osmotiques contiennent deux compartiments (*en bas*), séparés par une membrane déformable. L'augmentation de la pression consécutive à l'entrée d'eau dans l'un des compartiments chasse le principe actif contenu dans l'autre compartiment (sous forme d'une dispersion dans un gel).

Des comprimés étanches

Lorsque nous avalons un comprimé ou une gélule classiques, le contenu est dissous en une seule fois dans le tube digestif : toutes les molécules actives sont libérées en même temps dans l'organisme. Au contraire, les comprimés à libération modifiée retiennent plus longtemps le principe actif, à l'intérieur d'une membrane pour les comprimés osmotiques, mélangé à un polymère pour les comprimés à matrice hydrophile.

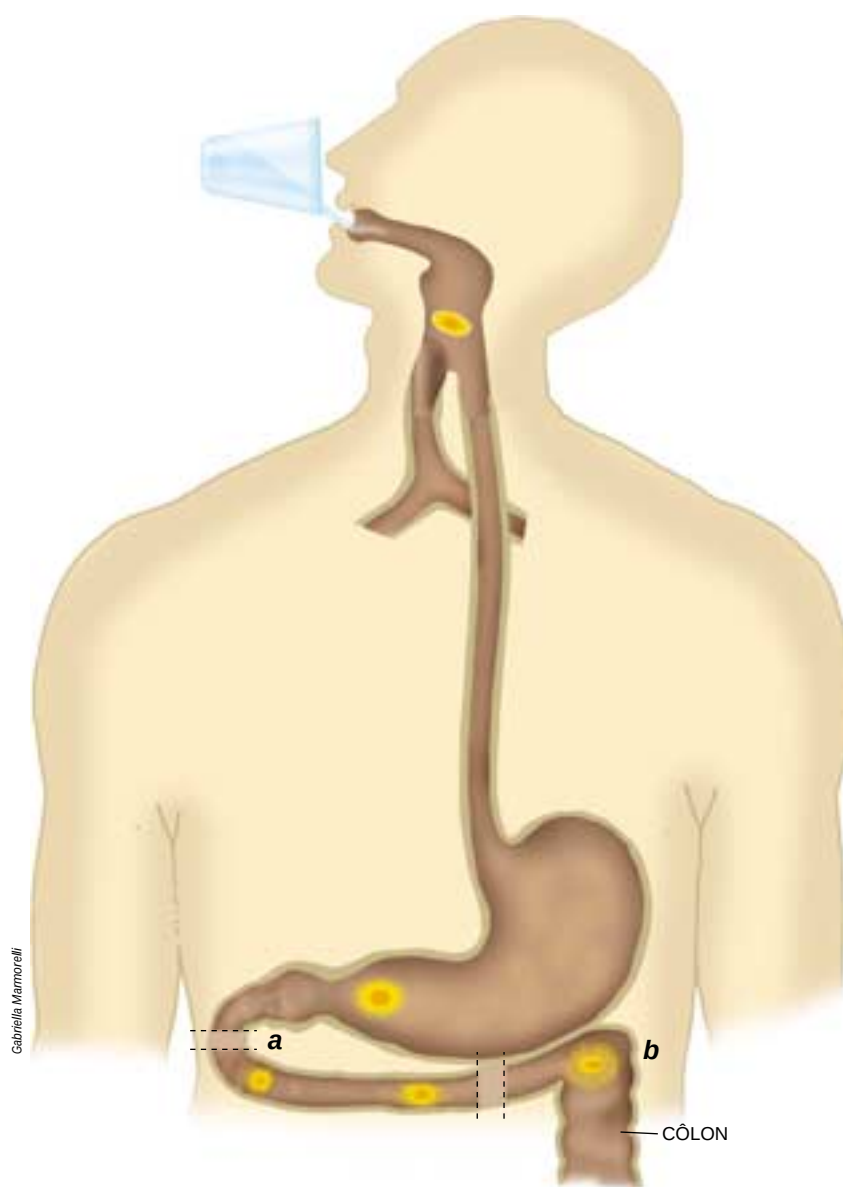
Dans les comprimés osmotiques, un noyau qui contient le principe actif est enveloppé par une membrane semi-perméable rigide, que seules les molécules d'eau peuvent traverser. Dans l'organisme, la différence de concentration en eau entre l'intérieur du comprimé et le milieu environnant provoque, par osmose, l'entrée de molécules d'eau dans le noyau. Cette eau dissout progressivement le principe actif. La membrane étant rigide, l'augmentation de la pression à l'intérieur du comprimé provoque la sortie d'une solution saturée en principe actif, à travers un trou préalablement percé à cet effet dans la membrane. Ce procédé a été utilisé pour la première fois avec l'indométacine, un anti-inflammatoire. Il est aujourd'hui employé pour l'administration de nombreux médicaments, dont la nifédipine (un hypotenseur), la phénylpropanolamine (un excitant) et le salbutamol (un bronchodilatateur).

Lorsque le principe actif est peu soluble dans l'eau, on facilite l'entrée de celle-ci dans le comprimé en amincissant la membrane semi-perméable. La résistance mécanique de l'enveloppe est assurée par une membrane micro-poreuse, entièrement perméable, placée sous la membrane semi-perméable. On empêche aussi la précipitation du principe actif peu soluble, qui pourrait obstruer l'orifice pré-percé par lequel la solution traverse la membrane, en lui ajoutant des carbonates ou des bicarbonates, qui produisent des bulles lors de leur dissolution dans l'eau, agitant ainsi le milieu. Enfin, lorsque la solubilité du principe actif dépend de l'acidité, on ajoute des molécules qui fixent celle-ci à la valeur voulue.

D'autres comprimés osmotiques ont deux compartiments, séparés par une paroi élastique ou mobile. Un compartiment contient le principe actif, finement dispersé dans un gel qui se fluidifie au contact de l'eau et peut ainsi s'échapper facilement par le trou de sortie. Le contenu de l'autre compartiment crée un afflux de molécules d'eau, par osmose : la forte pression qui résulte de l'entrée de l'eau dans ce compartiment pousse la membrane qui sépare les deux compartiments, ce qui expulse le principe actif, dissous. Dans certains comprimés osmotiques à deux compartiments, le

principe actif est dilué avant son expulsion. On utilise aussi de tels dispositifs pour libérer simultanément deux principes actifs, en les plaçant chacun dans un compartiment.

L'une des principales difficultés dans la fabrication des comprimés osmotiques est le percement d'un trou dans la membrane semi-perméable. Généralement, on perce ce trou à l'aide d'un laser, mais on peut aussi inclure des particules solubles dans l'eau (ou à une certaine acidité) dans la membrane semi-perméable : lorsque le comprimé est dans l'organisme, la dissolution de ces particules



2. LA LIBÉRATION DIFFÉRÉE d'un principe actif permet son transport, sans dégradation à travers l'estomac et l'intestin, jusque dans le côlon. L'enveloppe du comprimé ne se dissout que dans l'intestin, moins acide que l'estomac (a). Là, la matrice hydrophile du comprimé commence à s'hydrater, et la libération du principe actif est maximale dans le côlon (b).