

Chimie combinatoire et nouveaux médicaments

MATTHEW PLUNKETT • JONATHAN ELLMAN

Grâce à cette nouvelle technique, on fabrique rapidement de nombreuses molécules de structures apparentées, accélérant ainsi la découverte de médicaments potentiels.

Pour combattre les maladies, le système immunitaire fabrique des protéines, les anticorps, qui neutralisent les micro-organismes envahisseurs ; plus d'un milliard d'anticorps peuvent être synthétisés par des combinaisons variées des divers gènes qui codent les parties de ces anticorps. Pourtant le système immunitaire ne fabrique pas de nouveaux anticorps chaque fois qu'il est confronté à un nouvel agent pathogène. Il crible tous les anticorps disponibles, sélectionne les plus efficaces et les fabrique en grande quantité. Pour trouver de nouvelles molécules thérapeutiques, les chimistes ont décidé de suivre cet exemple : la chimie combinatoire qu'ils ont récemment mise au point synthétise de nombreux composés apparentés dont on évalue ensuite l'éventuel pouvoir thérapeutique.

La méthode diffère notablement de celle qu'utilisaient jusqu'à présent les laboratoires pharmaceutiques : la recherche systématique d'une activité biologique dans des composés de synthèse et dans toutes les substances d'origine naturelle, par exemple extraites de bactéries ou de plantes. Quand on identifie une substance intéressante, qui constitue alors une « tête de série », les chimistes modifient pas à pas la structure, vérifiant systématiquement comment évoluent les propriétés chimiques et biologiques de la molécule.

L'efficacité et la sécurité des composés ainsi obtenus sont

généralement correctes, mais, pour un médicament qui est mis sur le marché, des milliers d'autres sont élaborés, puis abandonnés. Cette méthode est longue et coûteuse : il faut plusieurs années de travail et des centaines de millions de francs pour passer d'une tête de série à un médicament commercialisé.

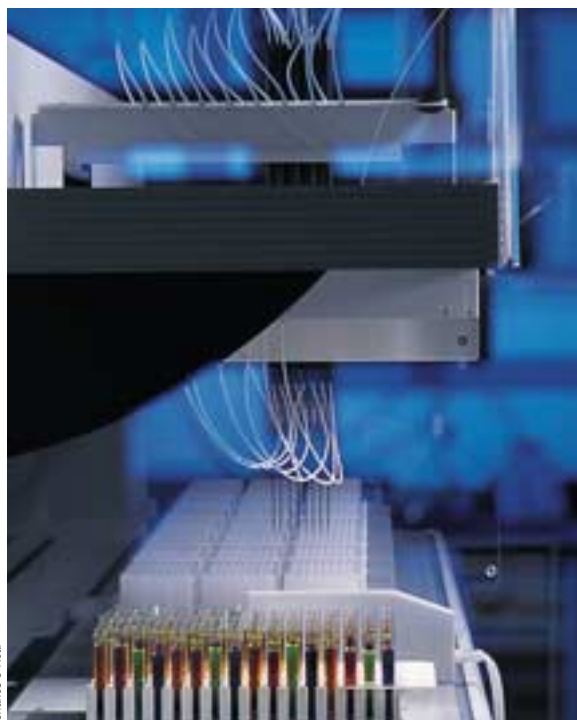
La méthode a été améliorée par la mise au point de tests rapides et fiables d'évaluation de l'efficacité et de la toxicité ; en outre, on sait mieux aujourd'hui

prévoir comment évoluera l'activité biologique d'une molécule en fonction des modifications imposées à sa structure. Toutefois, à mesure que la médecine progresse, la demande de médicaments s'accélère. Les biologistes demandent toujours plus de molécules à tester et des têtes de série qui nécessitent de moins en moins de modifications.

La bonne combinaison

La chimie combinatoire répond à ces exigences, en produisant rapidement des millions de molécules de structures apparentées. Il ne s'agit pas de molécules quelconques, car les chimistes sélectionnent celles qu'ils font réagir, afin d'obtenir les propriétés voulues. Le criblage des molécules obtenues révèle les plus actives : la chimie combinatoire fournit des médicaments potentiels, disponibles pour les tests cliniques beaucoup plus rapidement qu'auparavant et à un coût inférieur.

Les collections, ou banques, combinatoires de produits à cribler s'obtiennent facilement : on utilise des réactions standards pour assembler des éléments constitutifs sélectionnés de façon aussi variée que possible. Considérons, par exemple, quatre molécules, A1, A2, B1 et B2. Les molécules A1 et A2, dont



1. LE MÉLANGE aléatoire de sous-unités moléculaires est le fondement de la chimie combinatoire. Cette méthode permet de synthétiser rapidement d'innombrables molécules. Un robot (ci-dessus) répartit dans des tubes à essai (ci-dessus et à droite) les sous-unités qui réagissent pour former une grande variété de molécules.

les structures sont voisines, appartiennent à une même classe de composés ; B1 et B2 à une deuxième classe. Supposons que les composés de type A puissent réagir avec les composés de type B et former de nouvelles molécules dont on a toute raison de croire que certaines auraient une efficacité thérapeutique. La chimie combinatoire permet de construire toutes les combinaisons possibles : A1-B1, A1-B2, A2-B1 et A2-B2.

Naturellement, les chimistes utilisent beaucoup plus de deux molécules par famille. Soit 30 molécules de structure proche ayant toutes un groupe amine ($-\text{NH}_2$), par exemple, et 30 molécules portant un acide carboxylique ($-\text{CO}_2\text{H}$). Dans des conditions appropriées, la réaction des amines et des acides forme de nouvelles molécules, nommées amides (elles ont un groupe $-\text{CONH}-$). La réaction des 30 amines et des 30 acides donne au total 30×30 ,

soit 900 combinaisons différentes. Si l'on effectue une réaction avec 30 molécules d'une troisième série, le nombre total de combinaisons sera égal à 27 000 ($30 \times 30 \times 30$). Et avec plus de 30 molécules dans chaque série, le nombre de combinaisons augmente rapidement.

Les chimistes disposent de deux techniques combinatoires : la première, la synthèse en parallèle, a été élaborée au milieu des années 1980 par Mario Geysen, des Laboratoires *Glaxo Wellcome* ; la seconde, la synthèse par mélange et répartition, a été mise au point à la fin des années 1980 par Árpád Furkan, du Laboratoire *Advanced Chem-Tech*, à Louisville.

Initialement, M. Geysen utilisait la synthèse en parallèle pour identifier rapidement le site de fixation d'une protéine à un anticorps. Il fabriquait des fragments de protéine, ou peptides, en combinant plusieurs acides aminés (les protéines et les peptides sont des enchaînements d'acides aminés). En réalisant des dizaines, voire des centaines de réactions simultanées, puis en vérifiant si les peptides obtenus se liaient à un anticorps sélectionné, il repéra rapidement les peptides actifs parmi une multitude de molécules.

Dans une synthèse en parallèle, tous les couples de réactifs sont préparés séparément : les chimistes les placent souvent dans des plaques de microtitrage, c'est-à-dire des feuilles de plastique moulées, comportant huit rangées de douze petits puits ; chaque puits reçoit les quelques millilitres de solution où auront lieu les réactions. Cet agencement en lignes et en colonnes facilite l'identification des constituants combinés et celle des composés présents dans les puits.

Si l'on veut produire, par exemple, une série d'amides en combinant huit amines différentes et douze acides carboxyliques, comme on l'a décrit précédemment, on place une solution contenant la première amine dans les puits de la première rangée, une solution de la deuxième amine dans les puits de la deuxième rangée, et ainsi de suite. Puis on ajoute un des acides dans les puits de la première colonne, un autre acide dans les puits de la deuxième colonne, et ainsi de suite jusqu'à la dernière colonne. Ainsi, à partir de 20 molécules différentes seulement, on obtient une banque de 96 produits.

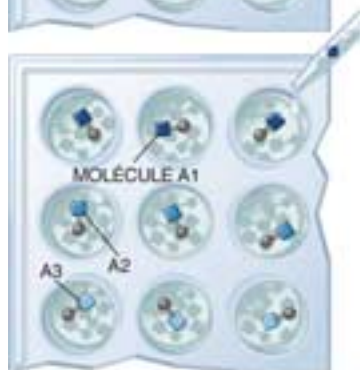
Les chimistes commencent souvent une synthèse combinatoire en fixant la première série de molécules réactives

La synthèse en parallèle



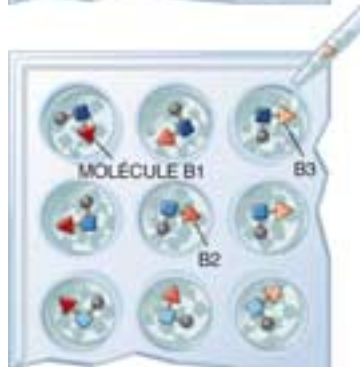
Étape 1

On part d'une feuille de plastique moulée (une plaque de microtitrage) comportant des puits ; les puits sont partiellement remplis avec une solution contenant des billes de polystyrène inertes (les cercles gris). Les plaques de microtitrage ont généralement 8 rangées et 12 colonnes, soit 96 puits ; on n'a représenté ici que le coin supérieur gauche de la plaque.



Étape 2

On ajoute une première série de molécules – celles de la classe A (les carrés) – aux billes, en mettant les molécules A1 dans la première rangée, les molécules A2 dans la deuxième rangée, et ainsi de suite. Après avoir ajouté la première classe de molécules, on filtre le contenu de chaque puits afin d'éliminer toutes les molécules qui ne se sont pas fixées aux billes.



Étape 3

On ajoute la deuxième série de molécules – celle de la classe B (les triangles) – dans les colonnes : les molécules B1 dans la première colonne, les molécules B2 dans la deuxième, etc. Comme dans l'étape 2, on élimine les réactifs en excès.



Étape 4

Quand la banque des 96 produits est achevée, on détache les produits obtenus de leur support solide, afin d'en tester l'activité biologique.

sur des supports solides, telles des billes microscopiques de polystyrène, chimiquement inertes. Après chaque réaction, on élimine par lavage les réactifs qui n'ont pas réagi et qui restent en solution, et l'on ne conserve que les produits fixés sur les billes. Cette technique impose que l'on fixe les réactifs sur les billes, puis qu'on détache les produits de la réaction ; toutefois, la facilité de la purification compense les éventuelles difficultés posées par ces deux opérations.

Aujourd'hui, dans de nombreux laboratoires, le travail routinier de la synthèse en parallèle est automatisé : des robots déposent les réactifs dans les puits appropriés. La méthode est ainsi plus précise et moins fastidieuse. Les chercheurs de la Société *Parke-Davis* avaient construit le premier système automatisé pour la synthèse en parallèle, qui permettait l'obtention simultanée de 40 composés ; aujourd'hui, un robot de la Société *Ontogen* fabrique jusqu'à 1 000 molécules par jour. La durée d'une synthèse en parallèle dépend du nombre de composés obtenus et, en raison des limitations pratiques, on produit des banques de quelques dizaines de milliers de composés au plus par cette méthode.

La synthèse par mélange et répartition

Contrairement à la synthèse en parallèle, où chaque composé reste dans son propre puits, la synthèse par mélange et répartition brasse des produits qui se ressemblent dans un même tube à essai. On réduit ainsi le nombre de tubes à essai nécessaires tout en augmentant le nombre des produits obtenus (on peut en obtenir plusieurs millions). En contrepartie, l'identification de tous ces produits et la mesure de leur activité biologique sont très difficiles.

Supposons que trois groupes de molécules A, B et C soient respectivement composés de trois molécules (A1, A2, A3 ; B1, B2, B3 ; C1, C2, C3). Dans un récipient, on fixe les molécules A1 sur des billes de polystyrène ; dans un deuxième récipient, on place les molécules A2 et, dans le troisième, les molécules A3. On réunit alors toutes les billes portant des molécules A dans un même récipient, on les mélange, puis on divise le mélange en trois parties égales : chaque récipient contient un mélange des trois composés A. Puis on ajoute les molécules B1

dans le premier récipient, les molécules B2 dans le deuxième et les molécules B3 dans le troisième. Après avoir recommencé les mêmes manipulations et introduit les molécules C, on obtient 27 composés différents. On procède ainsi par divisions successives, car, si l'on mélangeait tous les composés en une seule fois, seuls ceux qui réagissent le plus vite se fixeraient, les autres ne réagiraient pas.

Pour isoler la molécule la plus efficace, on teste d'abord toutes les combinaisons et l'on détermine celle qui a l'activité biologique recherchée la meilleure.

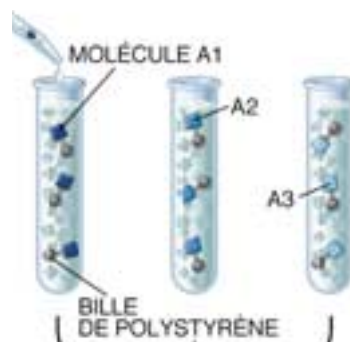
Plusieurs laboratoires pharmaceutiques ont automatisé la méthode de synthèse par mélange et répartition. L'un des premiers robots, celui de la Société *Chiron* fabrique des millions de molécules en quelques semaines : il délivre les produits chimiques et les mélange, et répartit les billes de polystyrène.

La principale difficulté de cette méthode reste l'identification d'un composé actif parmi des milliers d'autres. Kit Lam, de l'Université d'Arizona, a surmonté cet obstacle, car il a remarqué qu'à la fin d'une synthèse de ce type, toutes les molécules fixées sur une

La synthèse par mélange et répartition

Étape 1

Dans des tubes à essai, on place une suspension de billes de polystyrène inertes (les cercles gris). Pour simplifier, on n'a indiqué sur cette figure que trois tubes, mais on peut en utiliser des dizaines. On ajoute une première série de molécules – la classe A (les carrés) – dans les tubes, à raison d'un type moléculaire par tube.



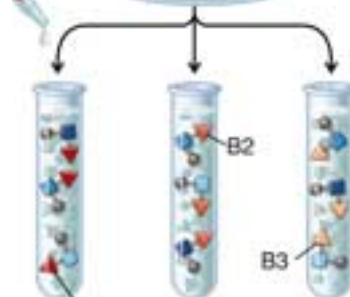
Étape 2

On regroupe le contenu des trois tubes.



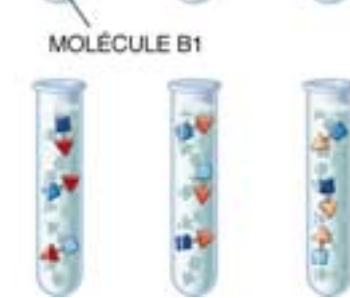
Étape 3

On partage le mélange en trois. Puis on ajoute la deuxième série de molécules – la classe B (les triangles) – en plaçant les molécules B1 dans le premier tube, les molécules B2 dans le deuxième, etc. On répète les étapes 1, 2 et 3 autant de fois que nécessaire, selon le nombre de sous-unités qui doivent être ajoutées.



Étape 4

On sépare les billes des réactifs qui n'ont pas réagi, puis on détache des billes les produits formés. Les chercheurs testent souvent l'activité biologique du mélange de chaque tube afin de déterminer l'activité biologique moyenne. Comme tous les mélanges sont identiques, au début de l'étape 3, on détermine quel est le mélange le plus actif : si c'est le tube où l'on a ajouté B2, on recommence la synthèse en ajoutant seulement des molécules B2 aux composés A. On détermine ensuite quelle est la combinaison A-B2 la plus active biologiquement.



Jared Schneidman Design