

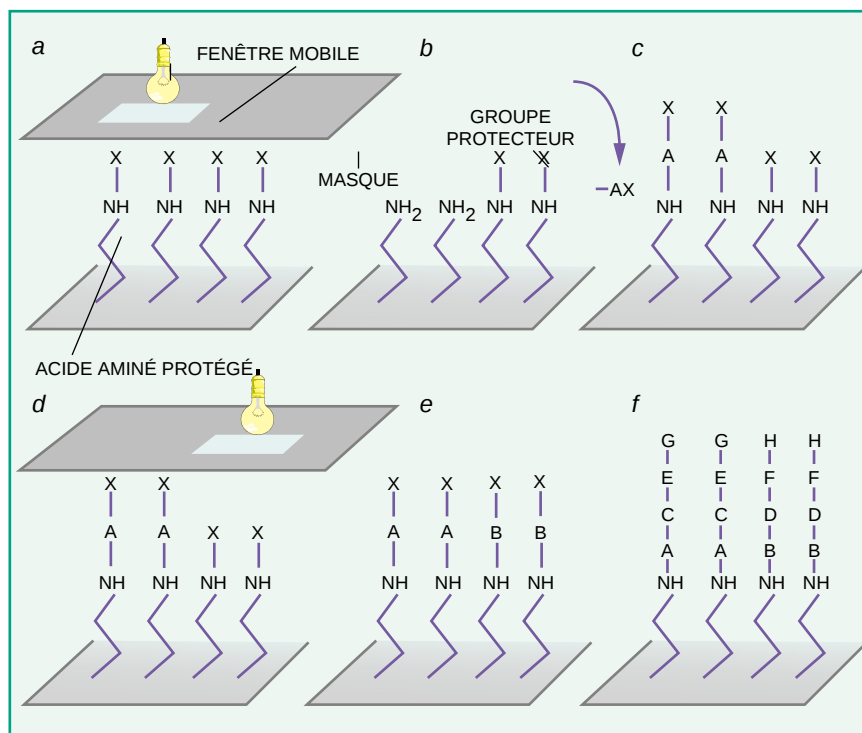
Toutefois, les chimistes rêvent de réaliser, grâce à la chimie combinatoire, des banques de molécules fondées sur l'établissement de liaisons carbone-carbone, et non pas seulement sur des liaisons amides ($-\text{CO}-\text{NH}-$). En fait, les chimistes ont synthétisé facilement des banques combinatoires de peptides et d'oligonucléotides parce qu'ils maîtrisaient si bien les couplages entre les éléments constitutifs qu'ils ont réussi à faire des synthèses multi-étapes sur support solide sans avoir à purifier les produits intermédiaires de synthèse. Les produits obtenus, en fin de réaction, sont même parfois utilisés sans être purifiés, ni caractérisés.

Le caractère univoque de ces synthèses a permis de s'abstraire de ce qui fait habituellement l'essentiel du travail du chimiste : la purification, l'isolement et la caractérisation, opérations artisanales qui doivent être réalisées molécule par molécule. Cette économie d'opérations fastidieuses confère à la chimie combinatoire son attrait. La synthèse se réduit à des opérations de mélange et d'agitation praticables en parallèle et à grande échelle par des robots. Toutefois, on ne pourra créer des banques combinatoires fondées sur d'autres réactions, et notamment sur la création de liaisons carbone-carbone, que si les réactions mises en jeu sont sélectives et si les rendements sont satisfaisants.

La généralisation de la synthèse combinatoire pose donc – enfin ! – des problèmes de chimie aux chimistes : trouver des conditions de synthèse telles que le rendement soit supérieur à 95 pour cent, quelles que soient les molécules qui réagissent.

Support solide ou solution homogène ?

Dans la synthèse sur support solide, la molécule en cours de synthèse est portée par une bille, ce qui permet de la séparer très simplement par filtration. Dans le cas des peptides et des oligonucléotides, 20 ans d'optimisation de la synthèse sur support solide ont précédé l'apparition de la chimie combinatoire : on dispose d'un arsenal de réactifs et de conditions opératoires qui permettent de réaliser des synthèses sur support solide avec un excellent rendement, quelle que soit la séquence synthétisée. Parce qu'ils espèrent synthétiser par la chimie combinatoire d'autres structures que des peptides ou



1. LA SYNTHÈSE COMBINATOIRE DIRIGÉE PAR LA LUMIÈRE est une autre méthode destinée à la préparation de banques combinatoires. Dans une première étape (a), tous les peptides greffés sur un support de silice sont protégés par un groupe X. L'ouverture est mise en place, et la lumière, qui pénètre uniquement par ce trou, libère les groupes protecteurs (b). On ajoute alors la brique de construction AX, qui ne peut réagir qu'avec les groupes non protégés (c). On déplace la fenêtre (d) et l'on ajoute le réactif BX. Seules quelques chaînes (dont on connaît la position) réagissent (e). En procédant de proche en proche, on fabrique des oligopeptides dont l'ordinateur a enregistré la séquence et la position sur la plaque (f).

des oligonucléotides, les chimistes tentent, aujourd'hui, sur support solide, des synthèses qui jusqu'à présent étaient réalisées dans des solvants. Cette «reconversion» n'est pas aisée.

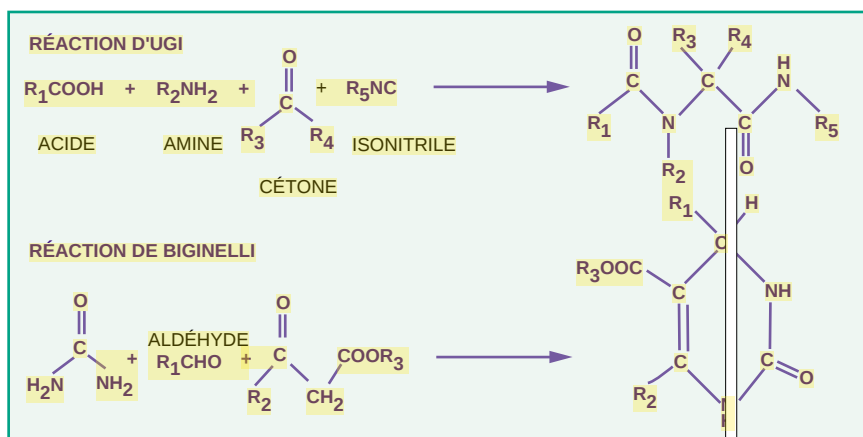
D'où viennent les difficultés ? Même si les billes de polystyrène faiblement réticulées gonflent dans le solvant pour donner une sorte de gel, ce qui permet aux réactifs de rencontrer les molécules attachées au polystyrène, le milieu n'est pas identique à une solution, et les rendements sont inférieurs.

Des progrès ont déjà été obtenus : les chimistes ont modifié les billes de polystyrène en y greffant notamment des chaînes de polyéthylène glycol, ce qui les rend compatibles avec un plus grand nombre de solvants. Ils mettront certainement au point des supports solides encore mieux adaptés, leur permettant de transposer plus facilement sur support solide les synthèses connues en solution homogène.

Une autre solution consiste à échapper au support solide. Ainsi, des supports à solubilité conditionnelle sont utilisés : le premier élément de la molécule à synthétiser est fixé à l'extré-

mité d'une molécule de polyéthylène glycol grâce à un bras clivable. Le polyéthylène glycol est soluble dans la plupart des solvants ; on peut ainsi réaliser la première étape de la synthèse dans le solvant utilisé normalement pour cette synthèse. En revanche, le polyéthylène glycol est quasi insoluble dans l'éther. On le fait précipiter avec la petite molécule qu'il porte, en ajoutant de l'éther, puis, après filtration, les autres étapes de la synthèse se poursuivent sur le même principe.

Une autre méthode encore consiste à faire des réactions à plusieurs composants, lesquelles permettent aussi d'échapper à la synthèse sur support solide : plusieurs molécules sont amenées à réagir simultanément et donnent une seule molécule (voir la figure 2). L'ensemble des combinaisons possibles à partir des molécules de départ, ou synthons, présente une diversité moléculaire notable. Toutefois, on connaît peu de réactions de ce type, mais étant donné leur potentiel en synthèse combinatoire, les chimistes recherchent de nouvelles réactions multicomposants.



2. LA SYNTHÈSE DE LIAISONS CARBONE-CARBONE par la méthode combinatoire est un objectif des chimistes. Certaines réactions, par exemple celles que l'on a schématisées, ont été utilisées pour créer des banques de molécules présentant de telles liaisons. En mélangeant des réactifs judicieusement choisis, on obtient une unique molécule contenant plusieurs substituants R_n . Grâce à la synthèse combinatoire, on peut réaliser toutes les combinaisons possibles à partir de divers acides, amines, cétones, etc.

La biochimie combinatoire

La biosynthèse par des micro-organismes génétiquement modifiés permet aussi d'obtenir des banques de séquences aléatoires de peptides. Pour ce faire, on fusionne une séquence aléatoire de nucléotides avec le gène codant une protéine de surface d'un bactériophage, un virus des bactéries. Une seule séquence aléatoire de nucléotides est introduite par phage, de sorte que l'on obtient une banque de phages recombinants : chacun présente à sa surface un peptide correspondant à l'oligonucléotide synthétique inséré dans son génome. Dès 1990, des banques de 10 à 100 millions de peptides ont été obtenues de cette façon. Ces banques de peptides présentées par des phages ont été criblées pour leur affinité vis-à-vis de divers récepteurs, et l'on a trouvé de nombreux peptides qui présentaient une affinité notable pour ces récepteurs.

De nombreux antibiotiques (les macrolides) sont des molécules cycliques (des macrolactones) élaborées à partir de différents acides par des enzymes bactériennes. La synthèse chimique totale est difficile, et l'on fait appel à des bactéries pour biosynthétiser ces macrolides. On obtient des macrolides différents selon la nature et l'ordre des acides incorporés. Différents gènes bactériens, regroupés en modules, codent les enzymes nécessaires à l'incorporation des différents acides dans le macrolide en construction. Si l'on dispose de n modules et que l'on biosynthétise des macrolides contenant p acides, le clo-

nage de toutes les combinaisons possibles de modules conduit à p^n produits différents. Il s'agit en quelque sorte d'une évolution artificielle où toutes les combinaisons sont réalisées en accéléré.

Des banques restreintes et ciblées

Au début des années 1990, des banques de peptides de plusieurs millions de molécules ont été synthétisées. Ces banques étaient constituées de mélanges où il était difficile d'identifier des molécules actives : plusieurs molécules de structure voisine et peu actives ajoutaient parfois leurs effets pour donner l'illusion que l'on avait une seule molécule très active. L'analyse de si grandes banques était fastidieuse et, aujourd'hui, les banques ne contiennent plus que 1 000 à 10 000 molécules au maximum ; dans la plupart des cas, il s'agit de molécules isolées ou de mélanges d'un petit nombre de molécules (entre 10 et 100), synthétisés en parallèle.

Ainsi, la taille des banques a été réduite, mais la diversité moléculaire préservée. Les molécules qui interviennent dans la synthèse des banques sont soigneusement sélectionnées. Des programmes tiennent compte de paramètres physico-chimiques et topologiques qui optimisent la diversité moléculaire en choisissant au mieux les molécules de construction (voir *Chimie combinatoire virtuelle*, par R. Lahana, page 56).

Aussi l'ambition des chimistes est-elle aujourd'hui de synthétiser des banques combinatoires plus restreintes,

mais aussi diverses que possible. De surcroît, quand on pressent qu'une structure chimique est essentielle pour obtenir l'activité recherchée, on peut synthétiser une banque de molécules qui, toutes, présentent la sous-structure souhaitée, mais substituée de façon combinatoire. On obtient alors une banque de molécules focalisée.

Plusieurs molécules pharmacologiques issues de la chimie combinatoire sont déjà en cours d'essais cliniques, et leur nombre va certainement augmenter au cours des prochaines années. On estime à 10^{200} le nombre de molécules dont la masse molaire est comparable à celle des médicaments usuels !

L'agrochimie, dont les cibles biologiques sont de même nature que celles de la pharmacie va vraisemblablement produire ses prochaines molécules par chimie combinatoire. Le champ d'application de la chimie combinatoire s'étend-il au-delà du domaine des sciences de la vie ? Oui, et Peter Schultz, à l'Université de Berkeley, a appliqué la méthode combinatoire à la synthèse d'oxydes mixtes, c'est-à-dire à la chimie minérale. Il a réalisé une banque combinatoire de films d'oxydes et a recherché, dans cette banque, les composés qui étaient supraconducteurs ou magnétorésistants. C'est ainsi qu'une nouvelle famille de matériaux de formule générale $\text{La}_x(\text{Ba}, \text{Sr}, \text{Ca})_y\text{CoO}_5$, présentant une magnétorésistance élevée, a été découverte.

La méthode combinatoire représente une façon, aujourd'hui incontournable, de rechercher des produits nouveaux, dont les applications devraient s'étendre bien au-delà de l'industrie pharmaceutique.

Daniel MICHELET a été membre de la direction scientifique du Groupe *Rhône-Poulenc*, de 1992 à 1997. Claude HÉLÈNE est directeur scientifique du Groupe *Rhône-Poulenc* et professeur au Muséum national d'histoire naturelle, où il dirige l'unité INSERM U 201.

L. BOUREL et al., *Synthèse combinatoire. Les autoroutes de la diversité*, in *L'actualité chimique*, pp. 33-40, décembre 1995.

F. BALKENHOHL et al., *Combinatorial Synthesis of Small Organic Molecules*, in *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, vol. 35, pp. 2288-2337, 1996.

J. HOGAN, *Combinatorial Chemistry in Drug Discovery*, in *Nature Biotechnology*, vol. 15, n° 4, avril 1997.