

J. C. Blanchard ¹
C. Cotrel ²

Une famille chimique originale de tranquillisants : les cyclopyrrolones *

Nous tenons à citer Mlle M. C. Bardone, et MM. M. Barreau, A. Boireau, J. L. Challier, C. Crisan, D. Farge, C. Garret, L. Gendreau, L. Jeanmart, L. Julou, A. Léger, M. Messer, P. Simon, D. Simond, J. M. Stutzmann, G. Taurand, biologistes et chimistes du Centre de recherche de Vitry, qui ont participé aux travaux de recherches effectués sur les cyclopyrrolones.

L'objectif majeur de l'industrie pharmaceutique est de contribuer au progrès thérapeutique en mettant au point des médicaments nouveaux et brevetables qui aient des avantages significatifs sur les produits existants au plan de l'efficacité et de la tolérance, ou qui représentent des innovations majeures permettant de combler des lacunes de l'arsenal thérapeutique.

L'axe thérapeutique ayant été défini de façon aussi précise que possible, en liaison avec le corps médical, le rôle de l'association du pharmacochimiste et du pharmacologue (au sens large du terme) est évidemment essentiel dans la phase des recherches précliniques d'un nouveau médicament.

Bien entendu, le pharmacologue doit avoir bien en mains les divers modèles expérimentaux qui sont nécessaires pour déceler et caractériser le type de produits recherchés. Bien plus, dans le cadre d'une hypothèse de travail originale, s'inspirant de résultats plus ou moins récents de la recherche fondamentale, le pharmacologue est amené à mettre au point des modèles nouveaux qui permettront de déceler des produits interférant de façon spécifique avec la cible biologique choisie.

De son côté, en maintenant un dialogue permanent avec le pharmacologue, le pharmacochimiste va synthétiser de nouveaux produits, soit par modification structurale de produits déjà connus qui possèdent, à des degrés divers, le type d'activité recherchée, soit en imaginant des structures très originales susceptibles d'interférer avec la cible biologique choisie. Enfin, le pharmacochimiste peut concevoir la synthèse de structures chimiques très originales, dérivés de pharmacophores intéressants, pouvant donner lieu à des modifications chimiques variées, non orientées *a priori* vers tel ou tel type d'activité mais dont la large exploration des propriétés biologiques peut se révéler très fructueuse.

Dans le domaine des médicaments psychotropes, à la suite de la découverte, en 1952, par Delay, Deniker et Harl de l'efficacité

thérapeutique de la chlorpromazine dans le traitement des psychoses, la psychopharmacologie a connu un essor extraordinaire et les neuroleptiques ou antipsychotiques et les tranquillisants ou anxiolytiques sont, sans doute, les médicaments les mieux caractérisés du point de vue pharmacologique. Dans le cas des neuroleptiques, les recherches ont été particulièrement actives et sept années seulement se sont écoulées entre la synthèse, en 1950, par Rhône-Poulenc de la chlorpromazine, premier dérivé de la phénothiazine à activité neuroleptique, et l'apparition, en 1957, d'une deuxième famille de neuroleptiques, non tricycliques, celle des butyrophénonones développée par Janssen.

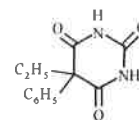
Dans le cas des tranquillisants anxiolytiques et hypnogènes (figure 1), bien que de nombreux produits tels le méprobamate et le

Antiquité : Opium, belladone

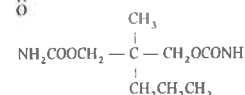
XIX^e siècle : Bromures, chloral, chloralose

1864-1903 : Acide barbiturique, barbital

1912 : Phénobarbital



1955 : Méprobamate



1960 : Benzodiazépines

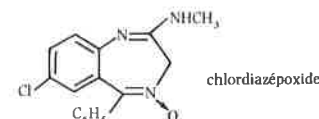


Figure 1. Des sédatifs et des hypnotiques aux tranquillisants anxiolytiques et hypnogènes.

* Exposé présenté, lors des Journées PIRMED, les 2 et 3 juin 1983, à Paris.

¹ Département Biologie du Centre de recherches Rhône-Poulenc de Vitry.

² Département Chimie du Centre de recherches Rhône-Poulenc de Vitry.

phénobarbital aient été utilisés et le demeurent encore, dans l'ensemble, l'usage de la plupart de ces produits a rapidement décliné lorsque, en 1960, a été introduit en thérapeutique le chlordiazépoxyde ou Librium, premier dérivé de la famille des benzodiazépines, suivi trois années plus tard, par le diazépam ou Valium.

L'extension de l'utilisation des benzodiazépines tient vraisemblablement beaucoup à leur grande efficacité, mais peut-être plus encore à leur grande marge de sécurité qui diminue considérablement les risques de suicide.

D'un autre côté, il est curieux de constater que, contrairement au cas des neuroleptiques, 23 ans après l'introduction du chlordiazépoxyde, cette classe thérapeutique des tranquillisants reste encore représentée presque exclusivement par la famille des benzodiazépines ou des familles très apparentées. Cependant, comme le démontrent les travaux réalisés au cours des dernières années par le Centre de recherches de Vitry du groupe Rhône-Poulenc, l'objectif de trouver des tranquillisants puissants dans une autre famille chimique était réalisable.

En fait, c'est parce que la famille chimique des benzodiazépines était déjà très étudiée et paraissait fort protégée sur le plan des brevets, que les chercheurs de ce groupe entreprirent, aux alentours de 1965, la recherche de nouveaux tranquillisants non benzodiazépines. C'est l'histoire de cette recherche qui devait aboutir à la découverte de la famille des cyclopyrrolones que nous voudrions évoquer maintenant.

Caractéristiques des psychotropes et choix d'un test de sélection

Il faut tout d'abord rappeler que, dans le cas des diverses classes de médicaments psychotropes, pour découvrir un produit nouveau ou une nouvelle famille de produits, il est, en règle générale, nécessaire de bien connaître le profil des activités psychopharmacologiques caractérisant les médicaments de la classe thérapeutique considérée.

En ce qui concerne les tranquillisants, leurs principales propriétés, rappelées sur la figure 2, peuvent être classées en cinq groupes : anticonvulsivantes, myorelaxantes, anti-agressives, sédatives, hypnotiques et anxiolytiques.

Ces cinq propriétés constituent le spectre pharmacologique caractéristique des tranquillisants de la famille des benzodiazépines. Inversement, il est admis que tout produit possédant chez l'animal, au laboratoire, un spectre pharmacologique analogue aussi complet que possible, est susceptible d'exercer, chez l'homme, une activité thérapeutique comme anxiolytique, voire comme hypnotique.

Pour mettre en évidence ces propriétés caractéristiques, le pharmacologue dispose d'un certain nombre de tests permettant de déceler ces divers types de propriétés (figure 3).

C'est ainsi que les activités anticonvulsivantes sont mises en évidence par l'étude de l'antagonisme vis-à-vis des convulsions induites chimiquement, par le pentétraazol par exemple, ou électriquement.

- Anticonvulsivantes
- Myorelaxantes
- Anti-agressives
- Sédatives-hypnotiques
- Anxiolytiques

Figure 2. Propriétés caractéristiques des tranquillisants.

Activités	Tests pharmacologiques
Anticonvulsivantes	Convulsions chimiques : PENTÉTRAZOL Convulsions électriques (électrochoc)
Myorelaxantes	Test de la traction-accrochage Réflexe multisynaptique
Anti-agressives	Bataille par choc électrique
Sédatives-hypnotiques	Motilité spontanée Perte du réflexe de redressement (animaux traités par la chlorpromazine)
Anxiolytiques	Test dit « de conflit »

Figure 3.

Des effets dans les tests de la traction-accrochage ou l'inhibition des réflexes multisynaptiques sont le reflet des activités myorelaxantes. Les activités anti-agressives sont mises en évidence dans le test de la bataille par choc électrique.

Les activités sédatives ou hypnotiques sont estimées par la mesure de la diminution de la motilité spontanée des animaux et par la perte du réflexe de redressement chez des animaux traités par une faible dose d'un neuroleptique tel que la chlorpromazine qui, donnée isolément, ne supprime pas ce réflexe.

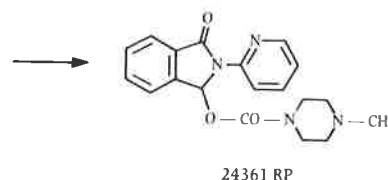
Un effet positif dans un test de conditionnement opérant dit test de « conflit » est considéré comme le reflet de l'activité anxiolytique.

Lors de la mise en place, au Centre de recherches de Vitry, du programme de recherche de nouveaux tranquillisants, l'objectif initial était de découvrir, parmi les nombreux produits synthétisés dans des séries chimiques originales, une molécule qui possède une activité liminaire et puisse ainsi représenter une piste exploitable par nos collègues chimistes.

Les pharmacologues du Centre de recherches de Vitry étaient bien entendu conscients du fait que, pour les tranquillisants comme pour les autres produits psychotropes, seule la mise en évidence d'un spectre pharmacologique aussi complet que possible, permet de prévoir l'activité d'un produit; pour accroître cependant leurs possibilités d'exploration, ils choisirent comme test de tri simple, permettant de repérer une potentialité tranquilisante, le test de mesure de l'activité antagoniste vis-à-vis des convulsions induites par le pentétraazol. Ils se fondaient, pour ce choix, sur l'impression que les tranquillisants connus en thérapeutique, et spécialement les benzodiazépines, semblaient exercer dans ce test une activité antagoniste particulièrement nette et, de ce fait, peut-être caractéristique. Ce choix qui, à l'époque, pouvait relever du pari, paraît rétrospectivement très judicieux; en effet, dans une revue récente sur les benzodiazépines parue en 1981, Haefely de chez Hoffmann-La-Roche a écrit : « *The antagonistic action on pentetrazole-induced seizures predicts surprisingly well the overall psychotropic potency of these drugs (benzodiazepines) in man* ».

Choix d'un test pharmacologique simple, permettant de déceler une potentialité tranquilisante

→ Antagonisme vis-à-vis des convulsions induites par le pentétraazol



Piste des cyclopyrrolones

Figure 4.

Activités	Tests	Produits (DE ₅₀ mg/kg p.o.)	
		24 361 RP	Chlordiazépoxide
Anticonvulsivantes	Pentétrazol	60	3,5
Myorelaxantes	Traction-accrochage	50	14,7
Anti-agressives	Bataille par choc électrique	25	11
Sédatives-hypnotiques	Réflexe redressement (chlorpromazine)	40	10,3
Anxiolytiques	Test de conflit (doses actives)	NT	++ (2,5 à 20)
Marge de sécurité	$\frac{DL_{50}}{DE_{50} \text{ pentétrazol}}$	5	305

Figure 5. Le 24 361 RP présente, en partie, le spectre pharmacologique des tranquillisants.

Les cyclopyrrolones

L'utilisation systématique de ce test, après avoir permis de déceler successivement une demi-douzaine de pistes qui durent rapidement être abandonnées en raison de l'impossibilité d'aboutir à des produits d'intérêt potentiel convaincant, devait enfin permettre de découvrir le 24 361 R.P., premier représentant de la famille des cyclopyrrolones (figure 4).

L'étude pharmacologique approfondie du 24 361 R.P. montra que ce produit possédait, non seulement l'activité vis-à-vis des convulsions induites par le pentétrazol, mais également les autres propriétés myorelaxantes, anti-agressives et sédatives-hypnotiques qui servent à caractériser les tranquillisants. Il s'agissait donc bien d'une piste valable pour l'objectif fixé.

On remarque cependant, sur la figure 5, que la marge de sécurité du 24 361 R.P. restait très faible par rapport à celle du chlordiazépoxide, chef de file des tranquillisants de la famille des benzodiazépines. Il était donc nécessaire, en poursuivant les synthèses, d'établir progressivement les relations structure-activité permettant d'améliorer les propriétés du 24 361 R.P. pour aboutir à des produits plus efficaces et présentant une bien meilleure marge de sécurité.

Analyse des relations structure-activité

Les pharmaciens ayant ajouté, au test des convulsions au pentétrazol, la toxicité aiguë par voie orale chez la souris comme critère d'orientation, les chimistes poursuivirent leurs travaux de synthèse en définissant trois zones de variations dans la molécule du 24 361 R.P. (figure 6). Nous allons examiner maintenant, de façon succincte, et à titre d'exemple, l'influence des diverses modifications de la structure de base du 24 361 R.P. sur les activités biologiques.

Les résultats présentés sur la figure 7 soulignent l'importance du groupement méthyl-4 pipérazinyl carbonyle pour qu'une activité biologique intéressante se manifeste. Il a donc été décidé de maintenir ce groupement fixe et d'étudier les autres variations possibles de la molécule du 24 361 R.P.

Après avoir montré que la liaison en 2 de la pyridine à l'azote du cycle isoindole était la seule biologiquement valable, la deuxième variable étudiée a été l'influence d'une substitution chlorée et sa position sur la pyridine. Une amélioration sensible de l'activité (augmentation de près de 10 fois) associée à une diminution de la toxicité (de près de 5 fois) est observée pour le dérivé chloro pyridine en 5.

Le remplacement du chlore par d'autres substituants n'entraîne pas, par ailleurs, d'amélioration d'activité (figures 8 et 9).

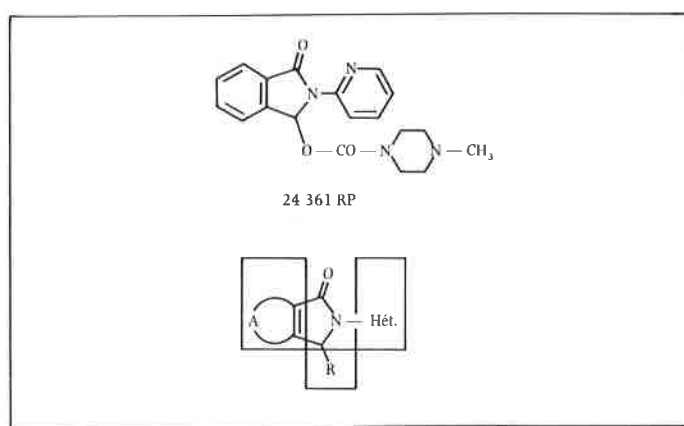
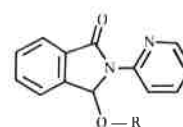


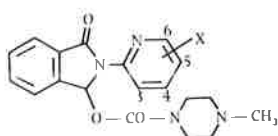
Figure 6.



N° RP	— R	Convulsions Pentétrazol DA ₅₀ souris (mg/kg p.o.)	Toxicité aiguë DL ₅₀ souris (mg/kg p.o.)
24 361	$-\text{CO}-\text{N}(\text{CH}_2)_4-\text{CH}_3$	60	env. 300
26 469	$-\text{CO}-\text{N}(\text{CH}_2)_5-\text{O}$	sup. à 200	sup. à 900
27 093	$-\text{CO}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{N}(\text{CH}_3)$	sup. à 100	300 à 900
24 131	$-\text{CONH}_2$	sup. à 200	sup. à 900
Valium®		0,5	670

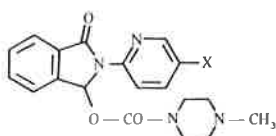
Figure 7.

Le substituant chloro-5 pyridine-2 et le groupement méthyl-4 pipérazinyl carbonyle étant choisis, nous avons étudié l'influence de la nature du cycle A des cyclopyrrolones sur leurs activités



N° RP	— X (position)	Convulsions Pentétrazol DA ₅₀ souris (mg/kg p.o.)	Toxicité aiguë DL ₅₀ souris (mg/kg p.o.)
24 361	— H	60	env. 300
25 617	— Cl (3)	sup. à 200	300 à 900
25 664	— Cl (4)	sup. à 200	sup. à 900
25 519	— Cl (5)	7	1 500
25 700	— Cl (6)	sup. à 200	300 à 900

Figure 8.



N° RP	— X	Convulsions Pentétrazol DA ₅₀ souris (mg/kg p.o.)	Toxicité aiguë DL ₅₀ souris (mg/kg p.o.)
25 519	— Cl	7	1 500
26 137	— CN	47	env. 900
26 066	— OCH ₃	60	inf. à 300
25 857	— NO ₂	100	sup. à 900

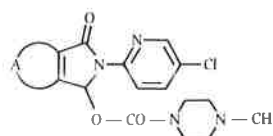
Figure 9.

biologiques. Les résultats présentés sur la figure 10 montrent l'effet de l'introduction d'hétérocycles sur l'activité. Les dérivés où le cycle A est la pyridine possèdent une activité relativement modeste. Les dérivés du dithiinne et de l'oxathiinne conservent une assez bonne activité.

En revanche, le dérivé de la pyrazine conserve l'activité et la bonne marge de sécurité du dérivé de l'isoindolinone. Des études pharmacologiques et toxicologiques élargies permirent, en définitive, de retenir le 27 267 R.P. ou zopiclone, dont nous reparlerons plus loin, comme candidat pour une étude clinique.

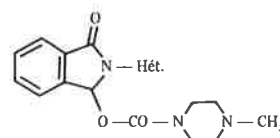
Nous n'avons envisagé, jusqu'à présent, dans la famille des cyclopyrrolones que des dérivés dont le cycle lié à l'azote de la molécule était le noyau pyridine. En partant du 25 519 R.P. à cycle isoindolinone, nous voyons sur la figure 11 que, selon la nature de l'hétérocycle choisi, l'activité pharmacologique et la toxicité peuvent être nettement modifiées. Un groupement bicyclique tel que la quinoléine ou la naphtyridine entraîne une augmentation d'activité; le gain le plus important est obtenu dans le cas du 30 639 R.P. avec le substituant chloro-7 naphtyridine-1,8 yl-2.

La chloro-7 naphtyridine-1,8 ayant l'influence que nous venons de montrer, l'augmentation d'activité persiste-t-elle lorsque l'on modifie la nature du cycle A de la structure de base des cyclopyrrolones. La figure 12 montre que, dans ce cas, la structure isoindole reste la structure qui conduit à la plus forte activité. Néanmoins, un autre dérivé, le dérivé dithiinne possède encore une activité très puissante avec l'intérêt majeur d'une toxicité à peu près nulle. A la suite d'études pharmacologiques et toxicologiques approfondies, ce produit, la suriclone, a été, à son tour, retenu pour une étude clinique. En effet, le spectre très complet des activités biologiques et les données cinétiques concernant la suriclone en



N° RP		Convulsions Pentétrazol DA ₅₀ souris (mg/kg p.o.)	Toxicité aiguë DL ₅₀ souris (mg/kg p.o.)
25 519		7	1 500
26 226		29	sup. à 900
26 594		150	sup. à 900
27 267 Zopiclone		5	1 150
29 504		14	sup. à 900
33 074		15	sup. à 900

Figure 10.

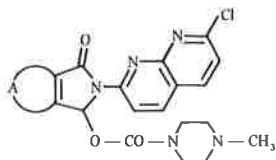


N° RP	— Hét.	Convulsions Pentétrazol DA ₅₀ souris (mg/kg p.o.)	Toxicité aiguë DL ₅₀ souris (mg/kg p.o.)
25 519		7	1 500
25 354		116	sup. à 900
26 651		11	160
27 829		2,5	sup. à 900
30 639		0,1	sup. à 900

Figure 11.

faisaient un produit intéressant dans le cadre de la nouvelle stratégie de sélection qui avait été choisie dès qu'il avait été constaté que, en clinique, l'intérêt de la zopiclone, produit à cinétique courte, résidait essentiellement dans la thérapie des insomnies, le produit étant, par ailleurs, difficilement utilisable comme anxiolytique de jour.

L'étude pharmacologique élargie de la zopiclone et de la suriclone a montré que ces produits possédaient bien les cinq propriétés caractéristiques des tranquillisants : anticonvulsivantes, myorelaxantes, anti-agressives, sédatives-hypnotiques et anxiolytiques (figure 13).



N° RP		Convulsions Pentétrazol DA ₅₀ souris (mg/kg p.o.)	Toxicité aiguë DL ₅₀ souris (mg/kg p.o.)
30 639		0,1	sup. à 900
36 029		0,2	300 à 900
31 305		3	sup. à 900
31 367		3	sup. à 900
31 264 Suriclone		3	sup. à 10 000
33 712		13	sup. à 900

Figure 12.

Du point de vue quantitatif, le niveau d'activité de la zopiclone et de la suriclone, en général plus puissante, exprimé par la valeur de la dose efficace 50 % (DE₅₀) dans les différents tests présentés, est voisin de celui d'une benzodiazépine, le chlordiazépoxyde, et il est supérieur à celui d'un barbiturique : le phénobarbital. Mais, surtout la marge de sécurité des cyclopyrrolones, évaluée par le rapport de la dose létale 50 % à celle de la dose efficace 50 % dans le test du pentétrazol, est exceptionnellement élevée puisqu'elle est supérieure à celle du chlordiazépoxyde dont la marge de sécurité était déjà très supérieure à celle du phénobarbital.

Les essais cliniques ont confirmé que la suriclone, dont la durée d'action est plus prolongée que celle de la zopiclone, est très intéressante comme anxiolytique, contrairement à la zopiclone utilisable comme hypnogène.

Vers l'élucidation du mode d'action des psychotropes

Après la découverte de la famille chimique des cyclopyrrolones et l'étude élargie de la zopiclone et de la suriclone, nous nous sommes attachés à l'étude de leur mécanisme d'action qui constitue un maillon important dans la connaissance de nouveaux médicaments. C'est cet aspect que nous allons envisager maintenant.

En ce qui concerne les benzodiazépines, il est assez curieux de constater que, sur le plan mécanisme d'action de ces médicaments très largement utilisés en clinique, peu d'informations étaient réellement disponibles jusqu'à une époque relativement récente. Néanmoins, ainsi que nous le rappelons sur la figure 14, un certain nombre de neurotransmetteurs ont été impliqués comme pouvant jouer un rôle dans le mécanisme des benzodiazépines; mais, en dehors du GABA dont le rôle, démontré par des expériences électrophysiologiques et biochimiques, semble bien établi, l'intervention spécifique des autres neurotransmetteurs est loin d'être prouvée.

Cette situation devait toutefois se modifier de façon assez radicale avec la mise en évidence, en 1977, de façon presque simultanée par deux équipes, celle de Squires et Braestrup au Danemark et

- Catécholamines
- Acétylcholine
- Sérotonine
- Glycine
- Acide gamma-aminobutyrique (GABA)

Figure 14. Neurotransmetteurs impliqués dans le mécanisme d'action des benzodiazépines.

Activités	Tests	Produits (DE ₅₀ mg/kg p.o.)			
		Zopiclone	Suriclone	Chlordiazépoxyde	Phénobarbital
Anticonvulsivantes	Pentétrazol	5,4	2,7	3,5	16
Myorelaxantes	Traction-accrochage	14,5	7,0	14,7	59,6
Anti-agressives	Bataille choc électrique	11,9	12,5	11	19,3
Sédatives-hypnotiques	Réflexe redressement (chlorpromazine)	32,5	6,0	10,3	50,2
Anxiolytiques	Test dit de conflit (doses actives)	+++ (2,5 à 20)	+++ (2,5 à 20)	+++ (2,5 à 20)	
Marge de sécurité	$\frac{DL_{50}}{DE_{50} \text{ pentétrazol}}$	1925	> 2 250	305	28

Figure 13. La zopiclone et la suriclone présentent le spectre pharmacologique des tranquillisants.

celle de Möhler et Okada en Suisse, de l'existence de sites de liaison spécifique pour les benzodiazépines.

Il est très vite apparu que ces sites de reconnaissance des benzodiazépines, mis en évidence tout d'abord en utilisant le diazépam comme ligand, possédaient vraiment les caractéristiques des sites récepteurs, à savoir (figure 15) :

- la saturabilité, qui indique un nombre défini et limité de sites;
- la haute affinité : en effet les K_i des différentes benzodiazépines étudiées étaient de l'ordre d'une dizaine de nanomoles, concentrations tout à fait compatibles avec les concentrations atteintes lors de l'administration de ces produits;
- la spécificité tissulaire, c'est-à-dire, pour certaines benzodiazépines à action centrale, la reconnaissance spécifique des sites de liaison situés au niveau cérébral;
- l'affinité limitée alors aux seules benzodiazépines ayant une activité pharmacologique, à l'exclusion des autres substances examinées, notamment des neurotransmetteurs et des produits tels le phénobarbital et le méprobamate;
- l'existence d'une bonne corrélation entre l'affinité (mesurée par les techniques de compétition) de diverses benzodiazépines et leur activité dans certains tests pharmacologiques tels que le test d'activité antagoniste vis-à-vis des convulsions induites par le pentétilazol chez la souris (cette corrélation a même pu être étendue à la puissance d'activité en clinique);
- la démonstration de la présence de ces sites de reconnaissance non seulement chez le rat mais également chez l'homme.

Le fait que seules les benzodiazépines et non les autres produits tranquillisants, tels que le méprobamate, soient capables de reconnaître ces sites récepteurs, pouvait, à l'époque, laisser ouverte l'hypothèse selon laquelle ces sites n'étaient que des sites de reconnaissance chimique et non des sites de reconnaissance biologique.

Comme nous l'avons vu précédemment, nous disposions, en 1977, de produits chimiquement différents des benzodiazépines mais qui en possédaient les propriétés biologiques tant sur le plan expérimental que clinique; ce sont la zopiclone et la suriclone dont nous rappelons les formules sur la figure 16.

- Saturabilité
- Haute affinité
- Spécificité tissulaire (cerveau)
- Spécificité de reconnaissance par les benzodiazépines
- Corrélation entre affinité et activité } pharmacologique
thérapeutique
- Présence dans le cerveau humain

Figure 15. Les sites de reconnaissance des benzodiazépines possèdent les caractéristiques de récepteurs.

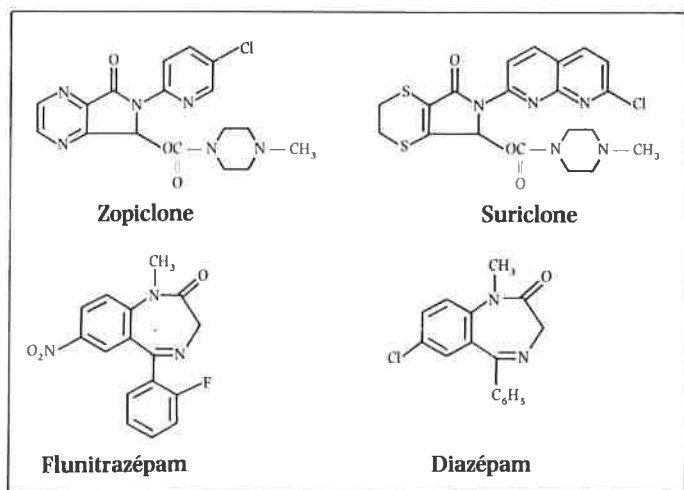


Figure 16.

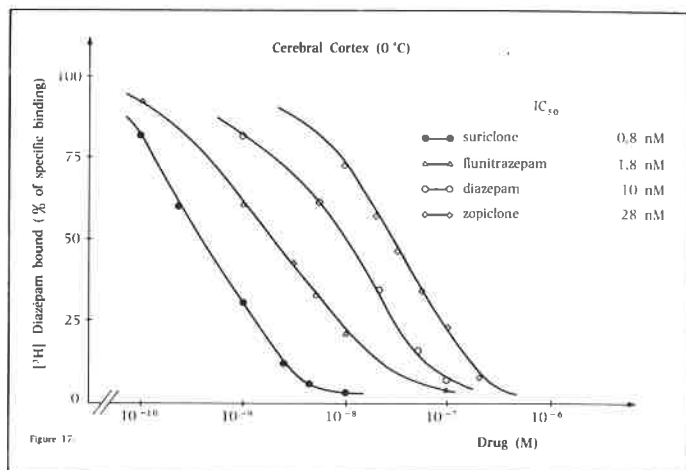


Figure 17.

Comme on peut le voir sur la figure 17, ces produits reconnaissent les sites récepteurs marqués par les benzodiazépines. L'affinité de la zopiclone, exprimée par la valeur de sa IC_{50} est voisine de celle du diazépam, celle de la suriclone était légèrement supérieure à celle du flunitrazépam.

Le fait que ces dérivés non benzodiazépiniques, qui possèdent à la fois les propriétés pharmacologiques des tranquillisants et l'activité thérapeutique de ces substances, reconnaissent également les sites récepteurs des benzodiazépines, souligne l'importance biologique et pharmacologique de ces récepteurs.

Par la suite, d'autres substances, qui appartiennent à des familles chimiques différentes, telles que les triazolopyridazines de chez Lederle, les dérivés quinoléines de chez Pharmuka et de chez Ciba-Geigy ou les dérivés β -carbolines, se sont révélées posséder également une forte affinité pour les récepteurs des benzodiazépines avec des spectres pharmacologiques variés; mais l'activité clinique de celles qui possèdent des potentialités tranquillisantes est encore mal connue.

Ayant à notre disposition des dérivés de la cyclopyrrolone, actifs au laboratoire comme en clinique, qui reconnaissent le récepteur des benzodiazépines, il nous a paru intéressant, en utilisant de la suriclone tritiée comme ligand, de comparer leurs propriétés de liaison à celle des benzodiazépines.

Comme le montre la figure 18, les études de liaison à l'équilibre ont confirmé l'existence de sites à haute affinité pour la suriclone (K_D voisin de 0,5 nM); de plus, la transformation mathématique selon Scatchard indique, du fait de la linéarité de la droite obtenue, l'existence d'un seul type de sites ou tout au moins l'existence d'une population homogène de sites.

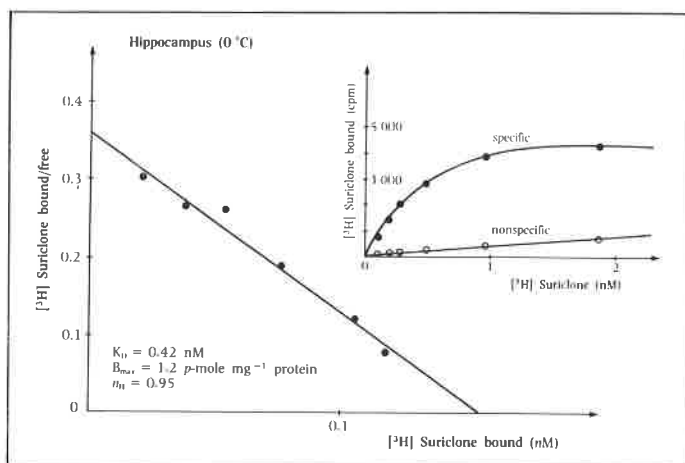


Figure 18.

Ces sites marqués par la suriclone sont, ainsi que le montre la figure 19, reconnus au niveau de deux structures cérébrales, l'hippocampe et le cervelet, par les benzodiazépines. De plus l'affinité relative de différentes benzodiazépines pour ces sites marqués par la suriclone est tout à fait comparable à leur affinité vis-à-vis d'une benzodiazépine telle que le flunitrazépam.

Comme l'indique la figure 20, il est important de souligner que, comme dans le cas des benzodiazépines, aucun neurotransmetteur et aucune autre drogue, y compris les produits tels que le méprobamate et le phénobarbital, ne reconnaissent les sites marqués par les cyclopyrrolones.

La nature des sites marqués par la suriclone semble donc identique à celle de ceux marqués par le flunitrazépam et les résultats présentés dans la figure 21 constituent un argument supplémentaire en faveur de cette notion.

En effet, ainsi qu'il est montré sur la partie droite de la figure 21, au niveau de l'hippocampe, la cinétique d'inactivation thermique de la suriclone est tout à fait comparable à celle du flunitrazépam.

	Hippocampe		Cervelet	
	Ki (nM)	Hill coef.	Ki (nM)	Hill coef.
Zopiclone	29	0.92	30	0.89
Suriclone	1.0	1.13	1.3	1.08
Diazépam	19	1.13	27	1.03
Nitrazépam	14	0.97	20	0.87
Flunitrazépam	4	0.99	7.4	1.04
Chlordiazépoxide	561	1.00	766	0.88

Figure 19. Inhibition des sites marqués par la suriclone [³H] (0 °C).

	[³ H] Suriclone (% of specific binding)	[³ H] Flunitrazépam (% of specific binding)
Phénobarbital	86	95
Méprobamate	90	89
Acide γ-aminobutyrique	80	115
Sérotonine	100	79
Noradrénaline	93	78
Dopamine	99	98
Pentylènetétrazole	90	94
Bicuculline	95	78

Figure 20. Inactivité de différents composés (à 100 μM).

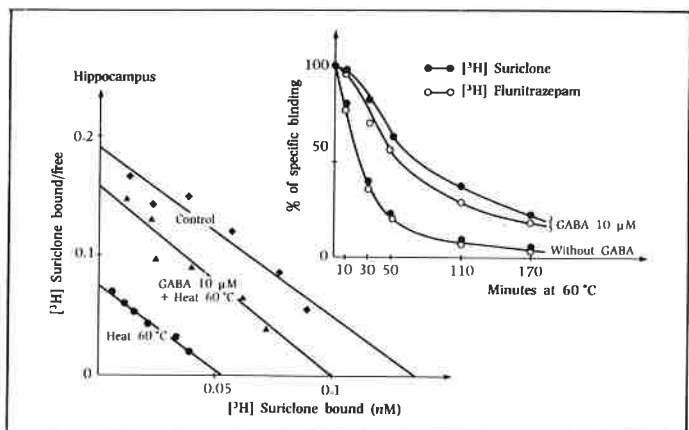


Figure 21.

plus, l'adjonction de GABA (10 μM) durant la période d'incubation à 60 °C entraîne dans le cas des deux radioligands une diminution de cette cinétique. Cet effet de la température et sa protection par adjonction du GABA résulte bien, ainsi qu'il est montré sur la partie gauche de la figure, d'une action sur le nombre de sites sans modification d'affinité.

L'étude de certaines substances qui réagissent avec certains amino-acides permet également de mieux caractériser les sites récepteurs. C'est ainsi que l'on sait que le diéthyl pyrocarbonate réagit à pH légèrement acide avec le noyau imidazole de la molécule d'histidine pour former la N-carbéthoxy histidine. Ainsi qu'il est montré sur la figure 22, au niveau de l'hippocampe de rat, on observe à la suite de cette réaction une diminution de 54 % de la fixation du flunitrazépam; au contraire, dans les mêmes conditions, la fixation spécifique de la suriclone n'est modifiée que de 25 %.

L'étude de différentes concentrations de diéthyl pyrocarbonate confirme que les effets sont beaucoup plus importants dans le cas du flunitrazépam que dans le cas de la suriclone. On peut faire l'hypothèse que le groupement histidine qui existe probablement au niveau du site récepteur est un élément beaucoup plus important dans la reconnaissance du flunitrazépam que dans celle de la suriclone (figure 23).

La liaison covalente de certaines molécules au niveau de sites récepteurs est également une autre approche pour mieux connaître les sites de liaison d'une substance.

Après irradiation à la lumière ultraviolette, les benzodiazépines qui possèdent un groupement NO₂ telles que le flunitrazépam forment par réaction photochimique une liaison covalente irréversible avec les sites récepteurs qu'elles reconnaissent. Ainsi qu'on peut le voir sur la droite de la figure 24, il apparaît sur de telles préparations, après lavage bien entendu, une diminution très importante de la fixation du flunitrazépam tritié (cette diminution est ici voisine de 90 %). Dans le cas de la suriclone tritié au contraire, on remarque

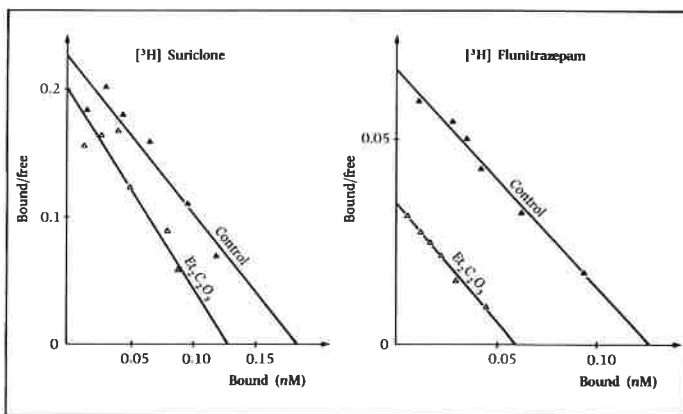


Figure 22.

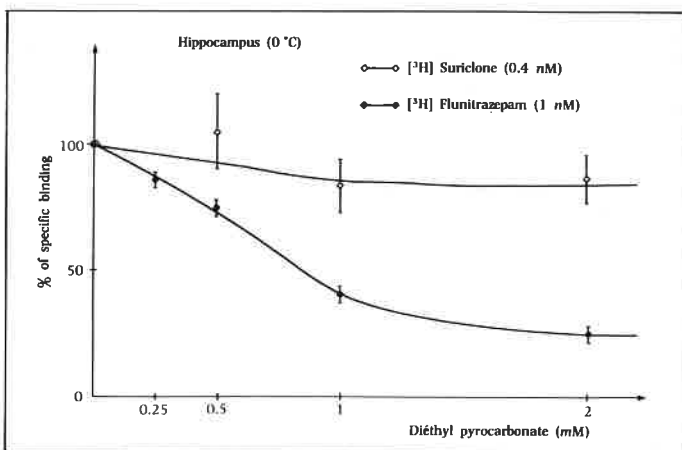


Figure 23.

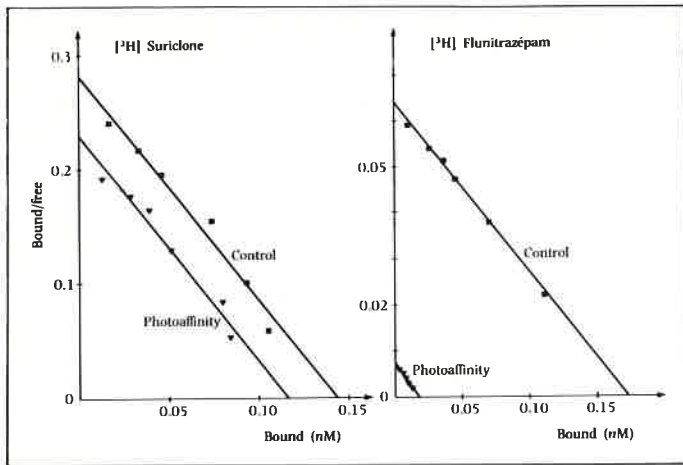


Figure 24.

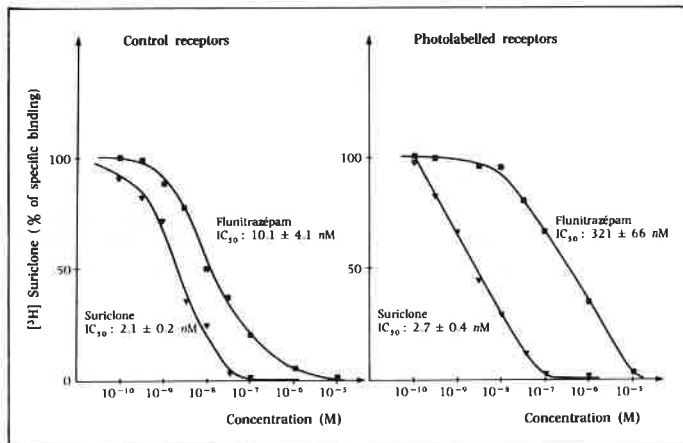


Figure 25.

que la fixation n'est que très peu modifiée par la liaison covalente du flunitrazépam. Ce résultat pourrait laisser penser que les sites de fixation de la suriclone encore détectés après liaison covalente du flunitrazépam seraient de nature *tout à fait différente* de celle des sites de fixation des benzodiazépines. S'il en était ainsi, ils ne devraient pas alors être reconnus par les benzodiazépines.

C'est pourquoi nous avons comparé, par expérience de déplacement de la suriclone tritiée, l'affinité de différents produits, de structure benzodiazépinique ou non, pour les sites marqués par la suriclone au niveau des membranes d'hippocampe témoins ou de membranes ayant lié le flunitrazépam de façon covalente.

Nous présentons ici, à titre d'exemple, les résultats obtenus avec le flunitrazépam et la suriclone. Comme on peut le voir sur la figure 25, le flunitrazépam est encore capable, comme la suriclone, de reconnaître les sites détectés par la suriclone tritiée après photomarquage : en effet, le flunitrazépam déplace la suriclone de ses sites de fixation aussi bien dans le cas des membranes témoins que dans le cas des membranes ayant lié, de façon covalente, le flunitrazépam. Cependant, contrairement à la suriclone, l'affinité du flunitrazépam pour les sites photomarqués est beaucoup plus faible que pour les sites témoins : le rapport des CI_{50} est voisin de 30 pour le flunitrazépam et il est voisin de 1 pour la suriclone.

Ces résultats, associés à ceux parus dans la littérature en utilisant différents radioligands et différents agents de déplacement de structure benzodiazépinique ou non, sont généralement interprétés comme étant la conséquence d'une modification de conformation des sites récepteurs à la suite de la liaison covalente du flunitrazépam.

L'ensemble de ces résultats, effets différents du diéthylpyrocarbonate et du photomarquage, indiquent que la liaison de cyclo-

pyrrolones n'est pas, contrairement à ce que l'on croyait au début, tout à fait identique à celle des benzodiazépines.

Pour expliquer ces différences entre benzodiazépines et cyclopyrrolones, on pourrait imaginer l'existence de sites spécifiques de cyclopyrrolones distincts de ceux des benzodiazépines.

En fait, l'hypothèse qu'il s'agisse plus vraisemblablement des mêmes sites, mais avec quelques différences, et non pas de sites distincts paraît être confortée lorsque l'on prend en considération le modèle du récepteur des benzodiazépines qui a été imaginé par Crippen.

Comme le montre la figure 26, cet auteur a, en prenant en considération des données structurales et énergétiques concernant 29 drogues appartenant aux benzodiazépines, aux carbolines et aux cyclopyrrolones, proposé un modèle de récepteur caractérisé par 15 points dont 9 sont des « points de liaison » et 6 (sites 10 à 15) sont des « points de répulsion ».

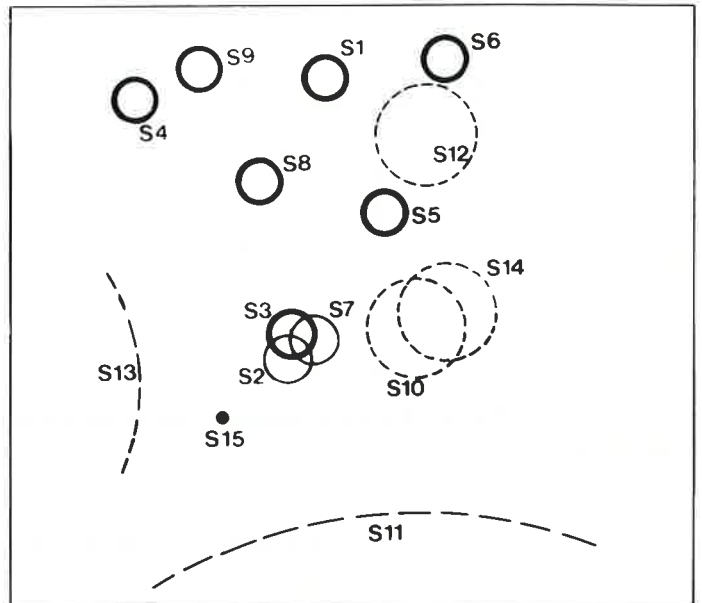
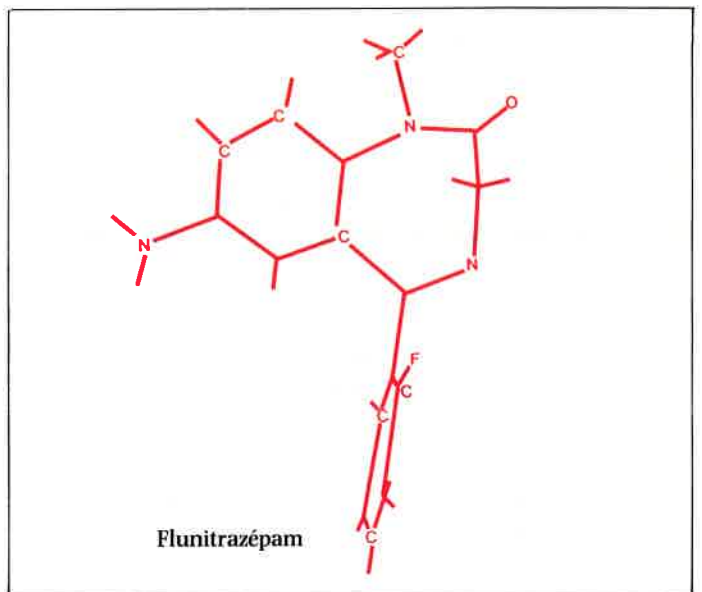


Figure 26.



Dans ce modèle, une molécule de benzodiazépinique telle que le flunitrazépam, présentée sur la figure 27 (obtenue par superposition de la figure 26 et de cette molécule) possède 9 « points de liaison » dont la somme des énergies de liaison calculée est voisine de celle qui est observée expérimentalement.

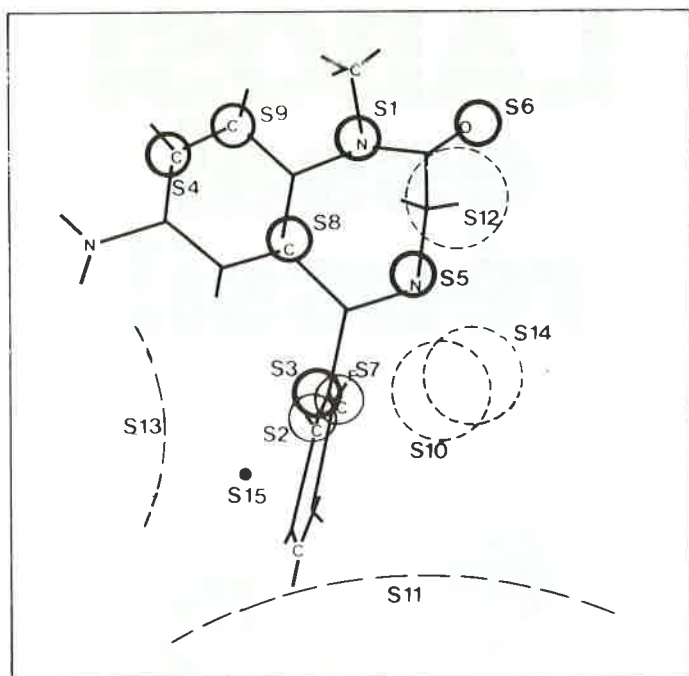


Figure 27.

La figure 28 est obtenue par superposition de la figure 27 et de la molécule de zopiclone (en vert). La molécule de flunitrazépam apparaît, ici, en rouge.

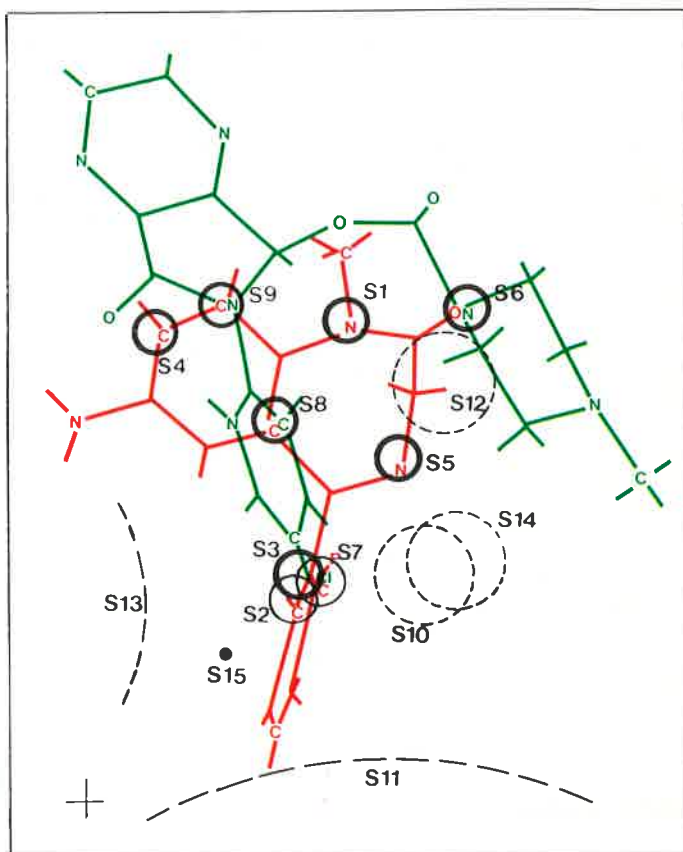


Figure 28.

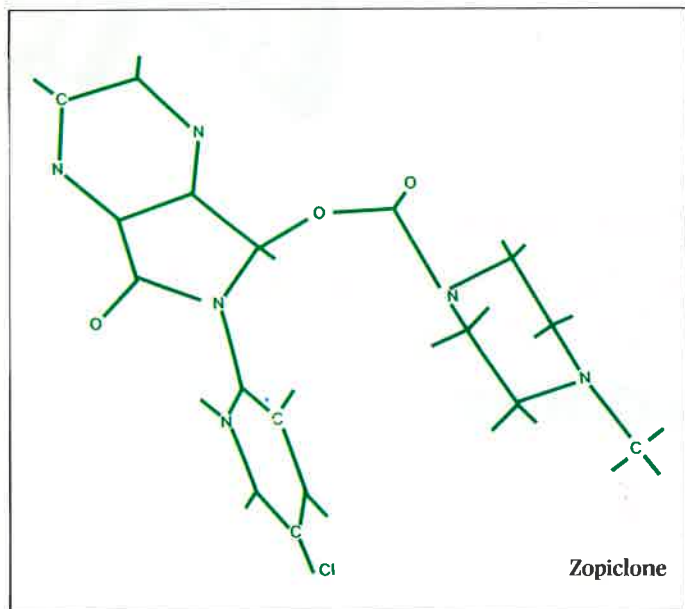
calculées par les physico-chimistes pour approfondir la connaissance des sites d'action d'un produit et pour aider les pharmaco-chimistes dans la conception de nouveaux produits.

Conclusion

Au cours de cet exposé, nous avons tenté de retracer dans ses grandes lignes le développement des recherches chimiques et biologiques qui ont été initiées, il y a une quinzaine d'années, dans les laboratoires Rhône-Poulenc avec, comme objectif, la mise à disposition du corps médical de nouveaux tranquillisants et hypnogènes ayant un profil général d'activités pharmacologiques et cliniques apparenté à celui des benzodiazépines, mais possédant une structure chimique tout à fait différente de celle de cette famille qui occupait et occupe encore une opposition largement dominante dans cette classe thérapeutique.

Faute de connaissance sur le mécanisme d'action de ce type de produits, la stratégie retenue à l'époque pour atteindre l'objectif fixé fut, dans un premier temps, de rechercher une piste chimique intéressante parmi les nombreux produits préparés dans le cadre d'un programme chimique orienté vers la synthèse de structures originales et susceptibles de nombreuses variations; le test biologique simple choisi comme outil de détection de cette piste fut le test des convulsions au pentétrazol chez la souris.

Dans un deuxième temps, après le repérage d'une activité significative d'un dérivé isoindole, le 24 361 R.P., bien confirmée dans la plupart des techniques caractérisant le spectre pharmacologique des tranquillisants benzodiazépines, chimistes et biologistes entreprirent, en liaison étroite, un travail d'optimisation de cette structure chimique: des relations de structure-activité furent progressivement établies qui permirent d'aboutir à des produits de plus en plus actifs que l'on peut regrouper dans la famille nouvelle des cyclopyrrolones. Deux



Dans ce modèle (figure 28), la molécule de zopiclone ne possède que quatre « points de liaison » en commun avec le flunitrazépam.

En prenant ce modèle en considération, on peut concevoir qu'une modification conformationnelle des sites récepteurs entraîne des modifications d'affinité beaucoup plus importantes pour une molécule possédant 9 sites de fixation que pour une molécule n'en comptant que 4.

Il va de soi, comme l'a souligné Crippen, que ce modèle reste hypothétique, qu'il peut être sujet à révision à la lumière de nouvelles données et que l'on doit donc être très prudent dans son exploitation. Néanmoins, un tel exemple montre l'intérêt de confronter les résultats des études de liaison avec les modélisations

d'entre eux, la zopiclone et la suriclone, sont à un stade avancé de développement, le premier en tant qu'hypnotique, le second en tant qu'anxiolytique.

La découverte, en 1977, de l'existence, au niveau du cerveau, de sites récepteurs des benzodiazépines, éclairait d'un jour nouveau le mécanisme d'action de ces tranquillisants et ouvrait à nos recherches de nouvelles voies. Nous allions, en effet, rapidement démontrer que les produits actifs de la nouvelle famille des cyclopyrrolones, qui possédaient à la fois un spectre pharmacologique et une activité clinique (anxiolytique ou hypnogène) analogues à celles des benzodiazépines, étaient également capables de reconnaître les sites récepteurs des benzodiazépines. Nous apportons ainsi un argument complémentaire majeur en faveur de l'importance biologique de ces sites de reconnaissance, suggérant d'un autre côté une révision possible de la terminologie consistant à remplacer « sites récepteurs des benzodiazépines » par « sites récepteurs des tranquillisants du type benzodiazépine ». Des études plus approfondies que nous menons sur la comparaison de la reconnaissance de ces sites par la suriclone tritiée et le flunitrazépam tritié nous ont permis de révéler quelques différences dans le mode de reconnaissance des 2 familles de tranquillisants. Ces données, ainsi que le modèle de récepteur imaginé par Crippen et les études entreprises par d'autres laboratoires dans la purification du récepteur, nous paraissent susceptibles de contribuer à une meilleure connaissance de la nature du récepteur et de permettre, à terme, la synthèse de nouveaux produits plus spécifiques.

Bibliographie

Des données plus détaillées et une bibliographie exhaustive peuvent être trouvées dans les publications suivantes :

J. C. Blanchard, A. Boireau, C. Garret, L. Julou : *Life Sciences*, 1979, 24, 2417.

J. C. Blanchard, L. Julou : *Journal of Neurochemistry*, 1983, 40, 601.

C. Braestrup, R. F. Squires : *British Journal Psychiatry*, 1978, 133, 249.

G. M. Crippen : *Molecular Pharmacology*, 1982, 22, 11.

D. W. Gallager, P. Mallorga, J. W. Thomas, J. F. Tallman : *Federation Proc.*, 1980, 39, 3043.

W. Haefely, L. Pieri, P. Polc, R. Schaffner : « Psychotropics agents », F. Hoffmeister, G. Stille editors, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, p. 13-257 (1981).

H. Möhler, T. Okada : *British Journal Psychiatry*, 1978, 133, 261.

R. W. Olsen : *Journal of Neurochemistry*, 1981, 37, 1.

J. F. Tallman, S. M. Paul, P. Skolnick, D. W. Gallager : *Science*, 1980, 207, 274.

M. Williams : *Journal of Medicinal Chemistry*, 1983, 26, 5, 619.

LABOSI essai réussi!



**demandez
le nouveau catalogue
PCL 83/84!**

LABOSI

**Une gamme de plus de 3200 produits
chimiques et réactifs
à la disposition des laboratoires
et de l'industrie**

OSI division Labosi
141, rue de Javel,
75739 Paris cedex 15, France
tél. (1) 554 97 31 +

Usine : 02210 Oulchy-le-Château, France

Salon du Laboratoire hall 1 - stands M 12 L et M 20 L

Bon à retourner à OSI/division Labosi, 141, rue de Javel, 75739 Paris cedex 15

Je désire recevoir un exemplaire du nouveau catalogue Labosi PCL 83/84
bilingue français/anglais, 250 pages, 3200 produits chimiques et réactifs.

Mr (Mme) :

Laboratoire ou service :

Etablissement :

Adresse :

Tél. :