

Synthèse combinatoire

Les autoroutes de la diversité

Line Bourel* pharmacien doctorant, **Xavier Williard*** pharmacien doctorant, **Iuliana Pop*** ingénieur doctorant, **Romuald Baudelle*** ingénieur, **Dragos Horvath*** ingénieur, **Benoît Déprez*** pharmacien, **Patricia Melnyk*** docteur ingénieur, **André Tartar*** et** professeur

En l'espace de quelques années, l'émergence des méthodes de synthèse combinatoire est en passe de révolutionner une étape clé dans le processus complexe de découverte d'un nouveau médicament : l'identification d'une nouvelle tête de série (lead compound) [1, 2]. Cette tête de série, après une suite d'optimisations structurales, conduira au candidat requis, tant au point de vue toxicologique que pharmacologique, pour entrer en développement clinique.

Alors que d'importants efforts étaient entrepris dans le "design" rationnel de nouvelles molécules, l'industrie pharmaceutique n'a jamais abandonné l'approche purement empirique reposant sur le criblage systématique de grands nombres de composés, méthode qui a conduit et conduit encore à la découverte de la majorité des têtes de série identifiées.

Devant les succès remportés par cette méthode, des efforts considérables ont été consacrés à l'amélioration des performances des tests de criblage : l'augmentation du nombre et de la diversité des cibles est rendue possible par les avancées de la biologie moléculaire mais surtout par l'accroissement considérable de la capacité des tests (les ensembles robotisés disponibles actuellement peuvent évaluer plusieurs centaines de milliers de composés par an).

Traditionnellement, les composés testés provenaient des échantillothèques des sociétés pharmaceutiques, alimentées au fil des années par la production des chimistes ou par les substances naturelles, qu'elles soient issues de plantes, d'animaux ou de fermentation microbienne. Depuis quelques années, le facteur limitant est devenu l'alimentation des tests de criblage en composés nouveaux. D'une part, les échantillothèques chimiques sont périssables, de réapprovisionnement problématique (les chimistes ayant réalisé les synthèses ont souvent quitté la société) et surtout de faible diversité structurale, car elles sont le reflet des grands programmes

développés antérieurement. Le nombre de composés appartenant à la famille des benzodiazépines ou des β -lactames, pour lesquels les tests de criblage ont récemment mis en évidence des activités totalement inattendues, s'explique probablement en grande partie par leur surreprésentation au sein des échantillothèques.

A l'opposé, les produits d'origine naturelle sont une source beaucoup plus importante de diversité structurale. Par contre, ils exigent des étapes longues et difficiles de purification et d'analyse structurale, pouvant conduire *in fine* à des composés que leur complexité chimique peut rendre difficilement exploitables (synthèse totale difficile, faible nombre d'analogues accessibles).

Ce problème de la diversité moléculaire est donc crucial comme en témoigne le nombre de publications s'y reportant, en croissance exponentielle (figure 1).

Pour résoudre ce problème, les chimistes ont été conduits depuis quelques années à proposer des solutions originales et rationnelles pour répondre aux exigences du criblage. Il s'agit, en fait, de synthétiser le plus rapidement possible un grand nombre de molécules, très différentes les unes des autres.

Afin d'accélérer le processus, la purification et l'identification structurale n'interviennent que si une activité intéressante a été détectée.

A la base de toutes ces solutions originales se trouve le concept de synthèse combinatoire.

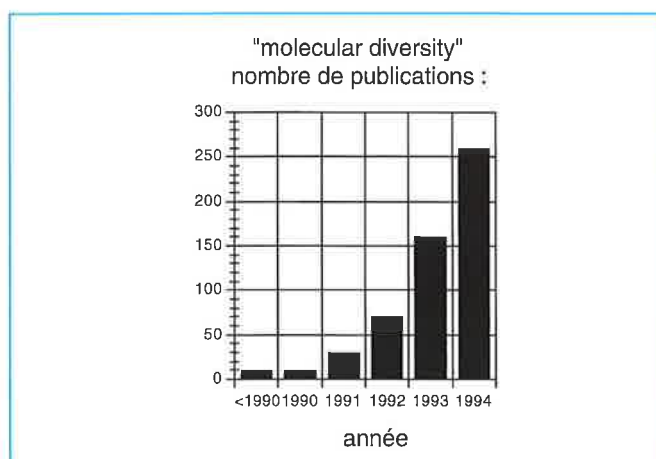


Figure 1 - Évolution annuelle du nombre de publications traitant de la diversité moléculaire.

* Institut Pasteur de Lille, Chimie des biomolécules, URA CNRS 1309, 1 rue du Pr Calmette, 59019 Lille Cedex. Tél. 20.87.71.96. Fax : 20.87.73.77.

** Faculté de pharmacie, rue du Professeur Laguesse, 59045 Lille Cedex.

Définition et principe de la synthèse combinatoire

Le principe général de la synthèse combinatoire est schématisé sur la *figure 2*. Traditionnellement, en synthèse organique, deux réactifs A et B sont mis en réaction l'un avec l'autre dans des conditions conduisant à un produit A-B sinon unique, pour le moins majoritaire.

A l'opposé, en synthèse combinatoire, les réactions mettent en jeu des ensembles de réactifs : en général, un ensemble de composés d'une réactivité A (A_1 à A_n) sera opposé à un ensemble de composés de l'autre réactivité B (B_1 à $B_{n'}$) conduisant à toutes les combinaisons possibles de A_1-B_1 à $A_n-B_{n'}$. Ainsi, par exemple, deux composés A_1, A_2 réagiront avec deux composés B_1, B_2 pour conduire à quatre produits A_1B_1, A_1B_2, A_2B_1 et A_2B_2 obtenus sous forme d'un mélange. D'une manière générale, la réaction de n composés A avec n' composés B conduira à un mélange contenant $n \times n'$ produits. Aucune purification n'est réalisée à ce stade, le mélange étant directement soumis aux tests biologiques. Si l'un d'eux s'avère positif, on procédera à l'identification du composé responsable de l'activité détectée au sein du mélange.

Une telle stratégie n'est pas sans entraîner de sévères contraintes au niveau des méthodes chimiques mises en jeu. Plus encore qu'en synthèse organique classique, il sera important que les réactions utilisées soient robustes, s'appliquant de manière générale à une grande variété de réactifs A ou B et conduisant selon un même chemin réactionnel à une structure générique A-B unique avec de bons rendements. Dans le cas inverse, on aboutira à des mélanges inextricables

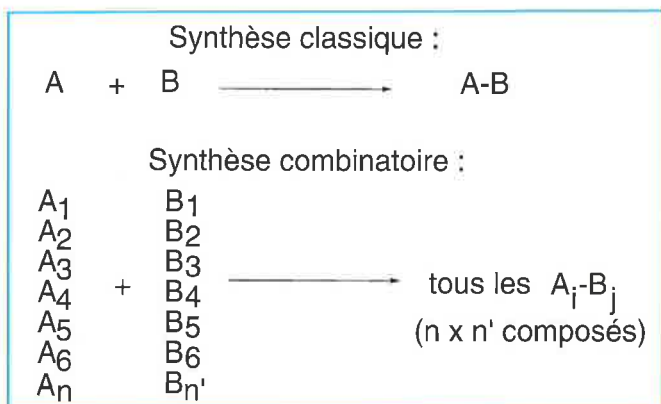


Figure 2 - Principe de la synthèse combinatoire.

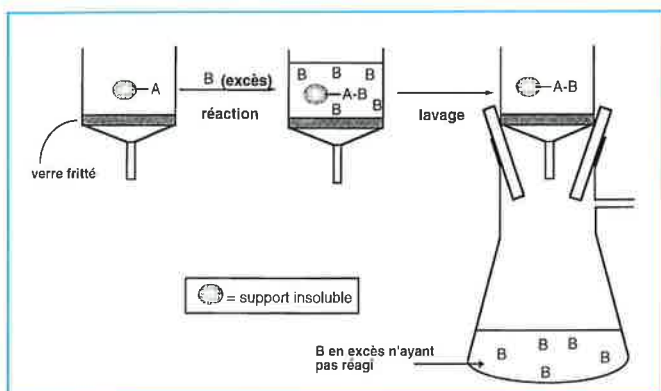


Figure 3 - Principe de la synthèse en phase solide.

rendant illusoire toute tentative d'identification structurale d'un composé actif.

Dans ce contexte, les méthodes de synthèse sur support solide apportent un avantage considérable. Le principe en est simple : au départ, l'un des réactifs (ou famille de réactifs) A est lié de manière covalente à un polymère insoluble. Le second réactif (ou famille de réactifs) B est amené en solution. A l'issue de la réaction, le produit A-B, lié de manière covalente au polymère est facilement séparé des solvants, catalyseurs... par une simple opération de filtration (*figure 3*).

L'un des avantages de la synthèse combinatoire sur support solide est d'éviter que certains des composés obtenus ne soient perdus lors d'étapes de précipitation, extraction ou autres, ce qui serait inévitablement le cas si les réactions étaient réalisées en phase homogène (méthode utilisée classiquement en synthèse organique). L'autre avantage est que de gros excès de réactifs peuvent être employés de manière à rendre les réactions rapides et totales, puisqu'il sera facile de les éliminer par la suite. Ainsi la complexité des mélanges finals sera limitée et leur prédictibilité améliorée.

Selon les cas, les produits de réactions seront testés directement, encore liés de manière covalente au polymère ou libérés de ce dernier par clivage de la liaison qui les associe au polymère et testés sous forme soluble.

C'est d'abord à ce niveau que se différencient les méthodes permettant d'identifier la structure des composés actifs.

Stratégies d'identification structurale

Elles seront directement conditionnées par la façon dont les bibliothèques ont été conçues.

Mélanges de produits en solution

Les mélanges issus du clivage de la liaison les reliant au polymère seront testés de manière classique, comme pour tout composé individuel soumis au criblage. La principale différence par rapport aux mélanges issus des produits d'origine naturelle est que le format sous lequel est présenté un mélange combinatoire sera conçu, dès le départ, de manière à permettre l'identification d'un composé actif sans avoir à recourir au schéma classique de purification et d'élucidation structurale. Le principe général consiste à jouer sur la subdivision de l'ensemble des composés (la "bibliothèque"), par la préparation d'une série de sous-ensembles (les "sous-bibliothèques") qui seront évaluées séparément. Selon les cas, cette subdivision interviendra dès la synthèse de la bibliothèque ("positional scanning", "orthogonal partition") ou après la détection d'une activité biologique (déconvolution itérative).

Plusieurs méthodes ont ainsi été proposées.

La déconvolution

La déconvolution, développée initialement par Houghten [3] est une méthode efficace, mais présente le désavantage d'exiger une nouvelle série de synthèses pour chaque activité détectée. Le principe est illustré sur la *figure 4* : l'association covalente de trois réactifs A_1, A_2 et A_3 avec trois réactifs B_1, B_2 et B_3 conduit au mélange de neuf produits. Si une activité est détectée au sein de ce mélange, l'identification du produit actif

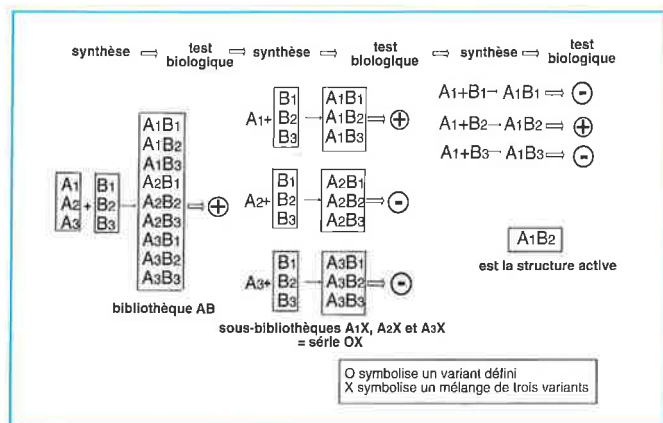


Figure 4 - Principe de la déconvolution itérative appliqué à une bibliothèque de 9 composés.

se fera en deux étapes successives : dans un premier temps, trois mélanges différents sont synthétisés : au lieu d'employer le mélange A₁, A₂ et A₃, un seul de ces réactifs sera utilisé mais il sera couplé au mélange de B₁, B₂ et B₃. Chacun des trois mélanges ainsi engendré contiendra donc trois produits ayant en commun A₁, A₂ ou A₃. L'évaluation de leur activité biologique permet de déterminer dans lequel de ces mélanges se trouve le produit actif A₁-(B₁-B₂-B₃) ici.

Dans un deuxième temps, A₁, identifié à l'étape précédente, sera couplé séparément à B₁, B₂ ou B₃ permettant, par évaluation biologique, de déterminer la nature du produit actif.

Par un processus itératif de ce type, il a été possible d'élucider la structure d'un composé actif au sein de mélanges issus d'un nombre même important d'étapes combinatoires et de réactifs en mélange [3].

Le "positional scanning"

Également proposé par Houghten [4] [5], son principe repose sur une répartition de la bibliothèque, dès sa synthèse en séries de sous-bibliothèques. Pour chaque position, on prépare autant de sous-bibliothèques qu'il y a de composants en cette position. Dans chacune de ces sous-bibliothèques, un des composants, différent à chaque fois, est incorporé seul, alors que les autres positions sont occupées par des mélanges. La bibliothèque est donc divisée en n x m sous-bibliothèques, n représentant le nombre d'étapes combinatoires et m le nombre de composants utilisés dans les mélanges. L'ensemble des

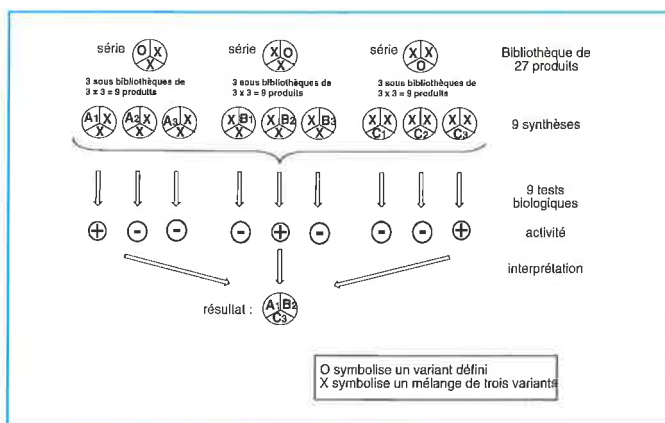


Figure 5 - Principe du "Positional scanning" appliqué à une bibliothèque de 27 composés.

sous-bibliothèques est évalué dans le test de criblage, de manière à identifier, position par position, la nature du composant unique conférant l'activité maximale (la figure 5 exemplifie ce principe dans le cas où n = m = 3).

Si cette méthode présente l'avantage par rapport à la précédente de ne pas nécessiter d'étape supplémentaire de synthèse (hormis celle du produit ainsi défini), elle présente le risque non négligeable de ne pas conduire au composé le plus actif. Cette stratégie a permis l'identification de plusieurs peptides, ligands nanomolaires des récepteurs des opiacées [4].

La partition orthogonale

Comme la précédente, elle repose sur la répartition de la bibliothèque, dès sa synthèse, en séries de sous-bibliothèques préalablement définies. Deux séries de sous-bibliothèques sont préparées, correspondant chacune à deux répartitions différentes de l'ensemble des composés de la même bibliothèque. Une propriété importante de ces sous-bibliothèques est que le nombre de composés par sous-bibliothèque est égal au nombre de sous-bibliothèques dans chaque série. La synthèse sera organisée de telle sorte que les composés présents en mélange dans une même sous-bibliothèque de la première série se voient répartis à raison d'un composé et un seul dans chacune des sous-bibliothèques de la seconde série. Ainsi, entre une sous-bibliothèque de la première série et une sous-bibliothèque de la seconde, il n'y a qu'un seul composé en commun, permettant l'identification directe d'un produit actif (figure 6). Cette stratégie a été appliquée à la préparation d'une bibliothèque de 15 625 tripeptides non naturels pouvant être évaluée à partir de deux séries de 125 sous-bibliothèques (chaque sous-bibliothèque comportant 125 composés). Testée dans un modèle d'inhibition de la liaison de la vasopressine au récepteur V2, elle a permis l'identification d'un inhibiteur nanomolaire de structure originale [6].

Produits liés à un support insoluble

Comme nous l'avons signalé précédemment, il est possible de tester les molécules encore liées de manière covalente au support solide qui a été utilisé lors de la synthèse.

Le principe du "one bead-one compound"

Il s'agit d'une conséquence inattendue du principe de synthèse sur support solide. L'utilisation classique de gros

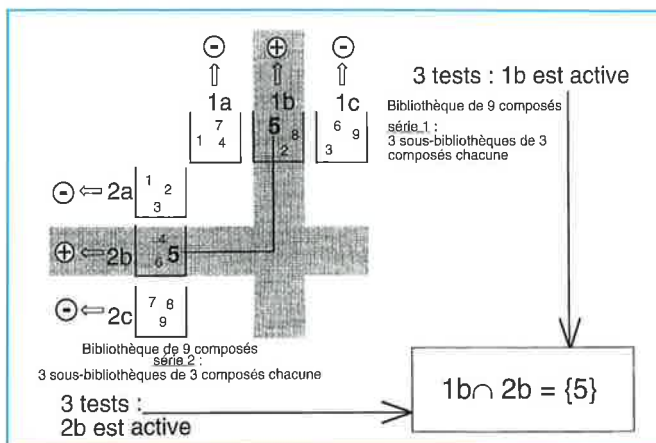


Figure 6 - Partition orthogonale d'une bibliothèque de 9 composés.

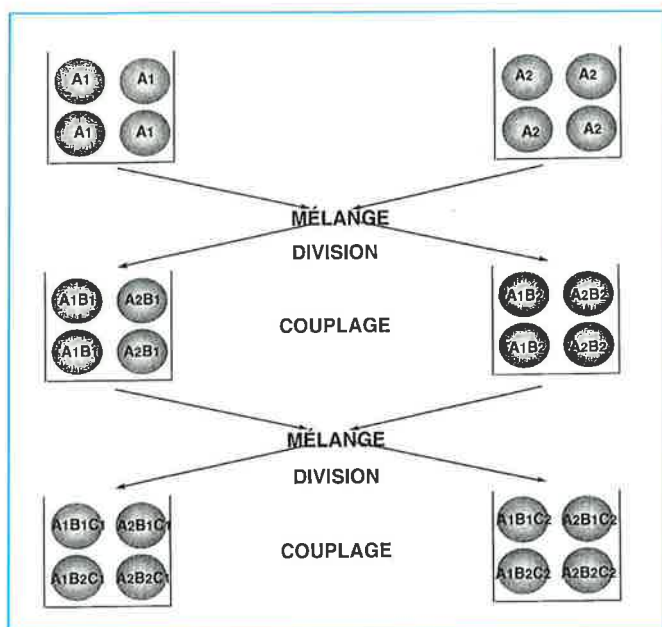


Figure 7 - Méthode "Split" ou "division-couplage-mélange".

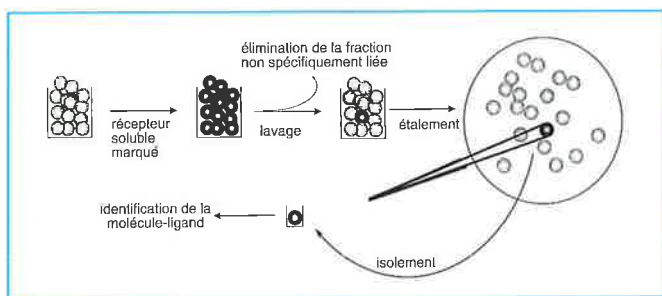


Figure 8 - Criblage de composés liés à un support insoluble.

excès de réactifs permettant d'améliorer les cinétiques et les rendements se heurte, en synthèse combinatoire, au risque de voir les composés les plus réactifs du mélange être surreprésentés par rapport aux composés les moins réactifs. La solution à ce problème, désignée sous le terme de "Split Synthesis", est simple (figure 7). Préalablement à chaque étape combinatoire, le polymère est divisé en autant de lots que de réactifs introduits au cours de cette étape. Chacun des réactifs est alors mis en réaction individuellement, dans un réacteur séparé, permettant d'en employer de gros excès. En fin de réaction, les contenus de chacun des réacteurs sont remélangés avant l'étape suivante. Si cette stratégie n'a pas d'effet majeur sur la composition macroscopique du mélange final, elle a un profond retentissement au niveau microscopique. En effet, les polymères utilisés pour la synthèse sur support solide sont constitués de petites billes de polystyrène dont le diamètre va de 50 à 100 microns et sur lesquelles les composés sont fixés de manière covalente. Lors de l'étape de division de la résine, chaque bille de résine sera dirigée vers l'un des réacteurs pour y recevoir un seul des réactifs du mélange. Ce phénomène se répétera à chaque division de la résine. En fin de synthèse, chaque bille aura donc suivi un chemin réactionnel unique et portera donc une seule espèce moléculaire [7]. A la différence d'une synthèse incorporant à chaque étape des mélanges de réactifs et fournissant des billes portant chacune à leur surface le mélange des différents composés possibles, les billes issues

d'une synthèse avec division de résine ne porteront à leur surface qu'une espèce moléculaire unique. Cette observation a permis le développement de nombreuses méthodes d'identification très ingénieuses. En effet, la quantité de composé présente sur une bille standard, de l'ordre de quelques nanomoles, est suffisante pour en permettre aussi bien l'évaluation biologique que l'identification structurale. Les premiers travaux dans ce domaine concernaient des molécules de nature purement peptidique. Ainsi, pour identifier le peptide, reconnu par un anticorps monoclonal, les billes sont étalées sous forme d'une monocouche et mises en présence de l'anticorps marqué. Les billes portant à leur surface un peptide reconnu par l'anticorps sont ainsi facilement repérées et isolées (figure 8). La séquence du peptide peut alors être déterminée par dégradation récurrente d'Edman, directement à partir d'une bille de polymère, au moyen d'un microséquenceur commercial.

Cette méthode, très élégante, a connu de nombreuses améliorations en l'espace de quelques années.

En effet, certains tests biologiques ne pouvant se faire sur des molécules liées à des supports, des stratégies faisant appel à des ancrages au polymère de stabilité différente, permettant de libérer une partie des composés présents à la surface des billes pour les tester, ont été mises au point, tout en laissant une autre partie fixée, de manière à permettre d'identification structurale.

L'étiquetage moléculaire

On a aussi reproché à cette méthode "one bead - one compound" de ne s'appliquer qu'à des molécules de nature peptidique, seules susceptibles d'être identifiées par dégradation d'Edman, ce qui est un inconvénient majeur en termes de diversité structurale. C'est pour élargir son champ d'application que se sont développées les méthodes d'étiquetage moléculaire des billes de résine ou "tagging" [8]. Le principe consiste à dissocier les fonctions de liaison aux cibles biologiques, pour lesquelles on cherchera à atteindre la plus grande diversité moléculaire, de la fonction d'identification structurale pour laquelle, au contraire, on souhaitera un système simple, robuste et aussi universel que possible. Pour cela, à chaque division du support de synthèse (voir méthode "split", figure 7), on assemblera sur les billes non pas un mais deux composés : une molécule "ligand" dont on évaluera la fonction biologique et une molécule "codante", qui permettra d'en déterminer indirectement la structure (figure 9). Les premiers

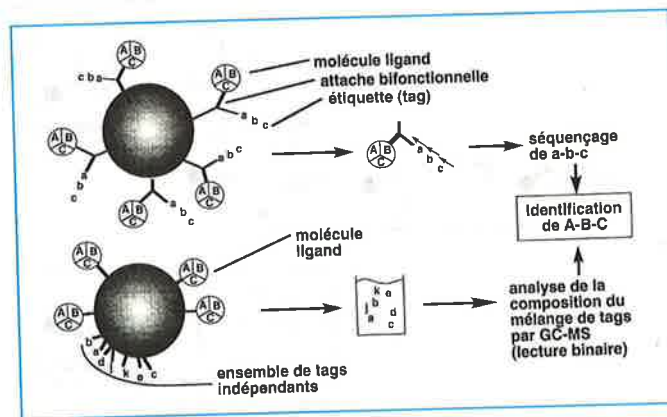


Figure 9 - Deux stratégies d'étiquetage moléculaire.

systèmes d'étiquetage moléculaire faisaient appel au séquençage peptidique : à chaque maillon correspond un amino-acide identifiable lors de la dégradation d'Edman. Quand une bille a été identifiée par sa capacité à lier une cible biologique, le séquençage du peptide qu'elle porte à la surface permet de déduire la structure du composé "ligand" qui lui est associé. La nouvelle génération d'étiquetage moléculaire repose sur le codage non séquentiel : l'historique complet de la synthèse du composé liant est enregistré sur chaque bille sous forme d'un codage chimique binaire. Selon ce principe, qui n'est pas sans rappeler celui du code-barre, N marqueurs chimiques différents permettent de coder de manière non séquentielle 2N événements (nature des composants, ordre d'incorporation). Quand une bille "ligand" a été sélectionnée, l'ensemble des marqueurs qu'elle porte est clivé simultanément (généralement par photolyse) et analysé en une seule étape de chromatographie en phase gazeuse. La sensibilité de cette méthode permet de limiter à moins de 1 % la part de la charge de la bille affectée à l'étiquetage.

La chimie combinatoire : un défi pour les organiciens

Comme on l'a vu, le principe de la synthèse sur support solide est particulièrement bien adapté aux exigences de la synthèse combinatoire. Il n'est donc pas surprenant, compte tenu de l'expérience considérable qui existait dans ce domaine, que les premiers composés synthétisés aient été de nature peptidique. Il est néanmoins très vite apparu que ces structures peptidiques ne représentaient pas des têtes de séries idéales (problèmes de biodisponibilité en particulier) et ne permettaient d'explorer qu'une partie très restreinte de la diversité moléculaire. L'accent a donc été mis sur des structures différentes du squelette peptidique permettant de développer des stratégies combinatoires et sur l'augmentation de l'éventail des réactions chimiques susceptibles d'être utilisées en phase solide. Nous développerons ici quelques exemples des évolutions récentes concernant la nature des polymères utilisés, les stratégies d'accès à la diversité et donnerons quelques exemples de réactions chimiques adaptées.

Les supports de phase solide

Par ses propriétés physico-chimiques ("gonflement" dans les solvants, stabilité vis-à-vis des réactifs) et par la nature de l'ancrage covalent qui le lie aux molécules en cours d'assemblage, le polymère joue un rôle capital dans la définition de la stratégie chimique.

Nature des polymères

Ils devront associer une bonne stabilité mécanique et chimique, une insolubilité totale dans une large gamme de solvants organiques tout en y ayant une forte capacité de "gonflement", nécessaire pour assurer une bonne diffusion des réactifs. Leur nature chimique devra également se prêter facilement à la fonctionnalisation et à l'ancrage des synthons. Utilisés initialement par Merrifield, les copolymères de styrène et de divinylbenzène, qui se présentent sous forme de billes de 50 à 100 microns de diamètre, restent l'un des polymères les plus

couramment utilisés. Très résistants chimiquement, ils se fonctionnalisent facilement et avec d'excellents rendements. Leur principal défaut est de ne "gonfler" correctement que dans les solvants les moins polaires et de manière insuffisante dans les solvants les plus polaires (eau, alcools et éthers). Pour remédier à ce problème, des résines de seconde génération, dont le cœur est constitué de polystyrène réticulé greffé par des chaînes de polyéthylène glycol, ont été utilisées. Ces nouvelles résines "gonflent" indifféremment dans tous les solvants, protiques ou aprotiques, et permettent d'élargir considérablement la gamme des réactions possibles. En plus de ces résines, des supports divers tels que du coton, des feuilles de papier, des lamelles de verre ou des baguettes de polypropylène greffé par des polyamides sont utilisés. Tous ces supports, compatibles avec des solutions aqueuses, présentent l'avantage de pouvoir être, en plus du support de synthèse, compatibles avec des essais biologiques (le plus souvent des essais de liaison directe entre les molécules-ligand fixées et le récepteur marqué en solution).

Fonctionnalisation des polymères

C'est de cette fonctionnalisation que dépendra la nature de la liaison entre le polymère et les molécules qui seront assemblées. Trop fragile, elle limitera l'éventail des réactions utilisables. Trop stable, elle exigera en fin de synthèse d'employer des conditions de clivage qui risqueront d'endommager les composés synthétisés (sauf dans le cas où ceux-ci sont criblés encore fixés sur le polymère).

Fixation par une liaison ester

L'introduction de groupements chlorométhyle donne facilement accès à des esters de type benzylique d'excellente résistance chimique, permettant de faire appel à une grande variété de protections orthogonales, mais nécessitant des conditions assez drastiques pour libérer les peptides (acide fluorhydrique anhydre). Pour éviter ce traitement, qui peut endommager des structures fragiles, des liaisons au moyen d'esters plus sensibles aux acides ont été proposées tels sont les acides qui interviennent avec la résine de Wang, clivable par action de l'acide trifluoroacétique.

Fixation par une liaison amide

Dans sa forme la plus simple, cette liaison amide, dérivée de la résine aminométhylée, est une liaison particulièrement stable qui sera généralement choisie pour fixer de manière permanente les molécules pour les tester encore liées au polymère. Par contre, si l'on souhaite pouvoir cliver le lien au polymère, on fera appel à des liaisons amides dont la stabilité a été diminuée, comme les benzhydrylamides plus ou moins modifiées.

D'autres types de fonctions peuvent être envisagées pour permettre la fixation au support polymérique (carbamate...).

Stratégies d'accès à la diversité

Oligomérisation

Cette stratégie met en jeu des composés bifonctionnels. La première génération d'oligomères synthétisés était constituée de peptides et de biopolymères linéaires. Une bibliothèque composée d'hexapeptides, utilisant 19 α -aminoacides (la cystéine n'est pas incorporée en raison des problèmes d'oxyda-

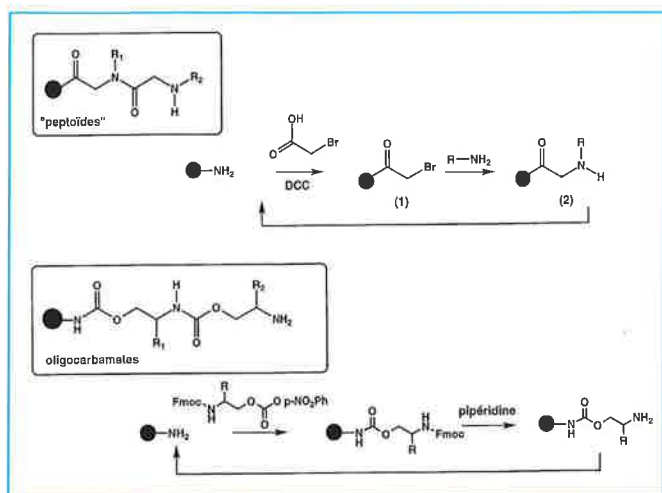


Figure 10 - Peptoides et oligocarbamates : structure et synthèse.

tion en disulfure), a été synthétisée, permettant l'identification de ligands nanomolaires des récepteurs aux opiacées [4]. Cependant, la mauvaise biodisponibilité orale et les courtes demi-vies plasmatiques des peptides ont rapidement orienté les recherches vers d'autres types de liaisons. C'est ainsi qu'une deuxième génération d'oligomères, chimiques cette fois, a été créée, parmi lesquels on peut citer les polyglycines N-substituées (peptoïdes), les carbamates, les pyrrolinones...

La synthèse des peptoïdes [9] (figure 10) met en jeu les réactions suivantes : couplage de l'acide bromoacétique au moyen d'une carbodiimide conduisant à l'amide bromé (1) puis substitution nucléophile du brome par une série d'amines primaires RNH₂ conduisant à une amine secondaire (2) liée au support, sur laquelle une nouvelle molécule d'acide bromoacétique pourra être fixée. Outre l'accès à un squelette résistant aux enzymes, cette stratégie a l'avantage de puiser sa diversité au sein d'une des familles chimiques les plus vastes, celle des amines primaires. Cette stratégie a permis de découvrir des ligands nanomolaires de différents récepteurs de grand intérêt pharmacologique [10].

Dans le cas des oligocarbamates [11], la liaison peptidique est remplacée par une liaison carbamate moins sensible à la protéolyse. Pour cela, les amino-acides N-protégés sont d'abord transformés en β-aminoalcools. Ceux-ci, traités par le chlorocarbonate de paranitrophénol conduisent à des esters activés qui sont facilement couplés à une fonction amine. Après déprotection de la fonction amine, un nouveau cycle peut être réalisé. De nombreux autres exemples d'oligomérisation non peptidique ont été décrits (figure 11).

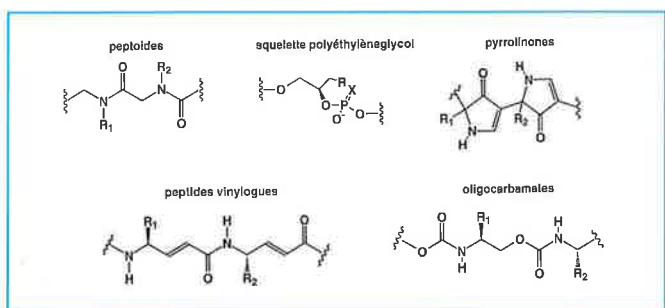


Figure 11 - Oligomères chimiques.

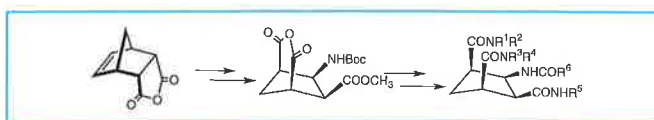


Figure 12 - Décoration d'un squelette.

Les squelettes "décorés"

Si les oligomères présentent l'avantage d'être facilement synthétisables et de permettre un accès rapide à un grand nombre de composés par simple répétition des cycles de synthèse combinatoire (le nombre de composés dans un mélange augmente à puissance du nombre d'étapes combinatoires), leurs défauts majeurs sont leur trop grande flexibilité ainsi qu'un manque de véritable diversité structurale. Pour y remédier, se sont développées des stratégies basées sur des squelettes polyfonctionnels rigides ("templates") susceptibles d'imposer des contraintes strictes en termes d'orientation spatiale des synthons. Chacune des fonctions du "template" est alors modifiée par une série de synthons diversifiés. Un excellent exemple de ce type d'approche consiste à "décorer" de manière individuelle chacune des fonctions générées à partir d'un anhydride à structure norbornène (figure 12) [12].

L'assemblage d'hétérocycles

Le domaine le plus exploré actuellement en chimie combinatoire sur support solide est celui des hétérocycles. Parmi les raisons historiques à cet engouement, on citera le fait que plus de 50 % des médicaments actuellement commercialisés comportent au moins un hétérocycle. La première synthèse d'hétérocycles sur support solide, celle d'une benzodiazépine, a été réalisée il y a plus de 20 ans, bien avant l'émergence de la chimie combinatoire. Cette synthèse est, de manière paradoxale, restée relativement méconnue. Reprise récemment [13], elle permet, au cours de l'assemblage de faire appel à une large diversité de synthons appartenant à des séries chimiques bien représentées : α-aminoacides pour R₃, dérivés halogénés pour R₄ (figure 13). Un autre exemple est la synthèse d'hydantoïnes [13], illustrée sur la figure 14. Exploitant la diversité des α-aminoacides (R₁, R₂) à celle des isocyanates (R₃), elle associe, lors de la dernière étape, le clivage de la liaison avec le polymère et la cyclisation intramoléculaire, conduisant directement aux composés solubles. D'autres hétérocycles ont été synthétisés parmi lesquels on peut citer les pipérazines diones, les benzopyranes, oxazolones, acylpipéridines...

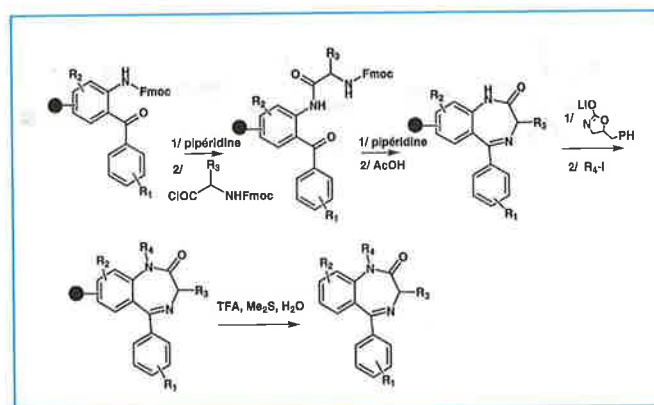


Figure 13 - Synthèse d'une bibliothèque de benzodiazépines.

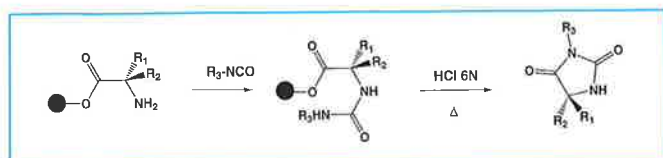


Figure 14 - Synthèse d'une bibliothèque d'hydantoïnes.

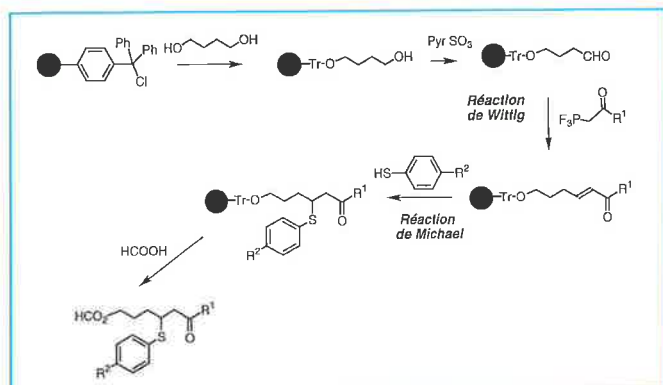
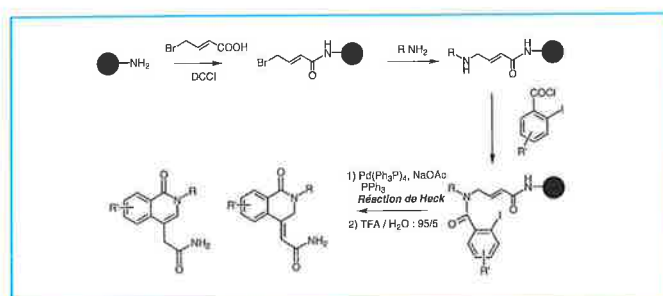
Figure 15 - Synthèse d'une bibliothèque de β -mercaptocétones.

Figure 16 - Synthèse d'une bibliothèque d'isoquinolinones.

Évaluation de la diversité

En employant l'éventail des méthodes indiquées précédemment et en faisant appel aux composés disponibles à partir de sources commerciales (plus de 60 000 molécules différentes sont actuellement accessibles dans ACD), le chimiste aura la capacité, inconnue jusqu'alors, de créer un nombre impressionnant de molécules. Il lui faudra très rapidement s'interroger sur l'intérêt réel de ces molécules. Pour cela, il convient d'être très vigilant sur la véritable diversité chimique des composés ainsi générés : six cycles combinatoires mettant en jeu les 20 acides α -aminés naturels conduisent au nombre impressionnant de 20^6 (64 millions) composés différents qu'il convient de tempérer par leur très faible diversité structurale. C'est pourquoi, des efforts considérables ont été entrepris ces dernières années pour élaborer des outils informatisés, basés sur les techniques de modélisation moléculaire pour quantifier et optimiser la diversité structurale apportée par une stratégie combinatoire nouvelle.

La chimie organique supportée

La nécessité d'augmenter sans cesse la diversité structurale des molécules accessibles à la synthèse combinatoire sur support solide a été un moteur très puissant pour l'adaptation de nombreuses grandes réactions organiques aux exigences de la synthèse en phase solide. Parmi les exemples les plus connus, on citera des réactions telles que Suzuki, Mitsunobu,

Wittig... Une petite bibliothèque de β -mercaptocétones [14] a été synthétisée en utilisant la réaction de Wittig-Horner d'ylures stabilisés sur un aldéhyde, fixé sur support solide (figure 15). L'addition de Michael de thiophénols sur les cétones α,β -insaturées, suivie d'une étape de clivage acide permet de libérer les produits du support pour les tester sous forme soluble.

Récemment, l'équipe de Zuckerman a décrit une synthèse d'isoquinolinones [15] utilisant la réaction de Heck (figure 16). Ces travaux n'en sont encore qu'à leur début et il est probable qu'avec le développement conjoint des nouveaux supports et de nouvelles fonctionnalisations, l'éventail des réactions réalisables en phase solide va augmenter exponentiellement dans les prochaines années.

Conclusion

Les méthodes de synthèse combinatoire ont fait l'objet d'efforts intenses ces dernières années. Elles offrent la possibilité d'engendrer, à relativement bas prix, de très grandes collections de composés organiques, et ce, dans de nombreuses séries chimiques. Ces bibliothèques, présentées dans des formats adaptés aux techniques de criblage rapide, sont maintenant considérées comme des éléments incontournables dans le processus de découverte de nouvelles têtes de séries, étape clé dans la recherche de nouveaux médicaments. Le foisonnement de structures, issues de l'activité combinatoire, nécessite d'ores et déjà la mise en place de nouveaux outils de traitement de l'information. On craint en effet un engorgement des procédures classiques chargées de gérer la multitude de composés synthétisés et d'engranger les données biologiques qui leur sont associées. En outre, des programmes nouveaux d'évaluation de la diversité structurale sont actuellement développés. Ces programmes, en tenant compte de paramètres importants en pharmacochimie (poids moléculaire, hydrophobie, aromaticité, liaisons hydrogène, charges...), sont capables de comparer des structures chimiques entre elles, mais aussi d'évaluer la pertinence de l'acquisition, ou de la synthèse, de telle ou telle bibliothèque. Certains de ces programmes, capables d'intégrer des notions de prédiction de toxicité ou d'instabilité métabolique, sont des aides précieuses pour le choix des meilleures matières premières d'une bibliothèque.

Si les techniques combinatoires tiennent leurs promesses, de très nombreuses têtes de séries pharmaceutiques devraient voir le jour ; le problème du choix des molécules à développer deviendrait alors crucial. Seules des molécules minimisant le risque d'échec dans les étapes cliniques seront conservées. Par contre, l'amélioration de ces têtes de séries fera toujours appel aux méthodes classiques de la chimie thérapeutique qui s'en trouveront confortées. Simultanément et grâce à l'implication croissante des biologistes moléculaires dans le domaine de la pharmacologie, un nombre sans cesse croissant et pertinent de cibles sera amené au stade du criblage systématique, conduisant à des avancées majeures dans des domaines jusqu'à présent peu explorés.

Références

- [1] Gordon E.M., Barrett R.W., Dower W.J., Fodor S.P.A.,

- Gallop M.A., *J. Med. Chem.*, **1994**, 37, p. 1385-1401.
- [2] Gallop M.A., Barrett R.W., Dower W.J., Fodor S.P.A., Gordon E.M., *J. Med. Chem.*, **1994**, 37, p. 1233-1251.
- [3] Houghten R.A., Pinilla C., Blondelle S.E., Appel J.R., Dooley C.T., Cuervo J.H., *Nature*, **1991**, 354, p. 84-86.
- [4] Pinilla C., Appel J.R., Blanc P., Houghten R.A., *Biotechniques*, **1992**, 13, p. 901-905.
- [5] Dooley C.T., Houghten R.A., *Life Sci.*, **1993**, 52, p. 1509-1517.
- [6] Déprez B., Williard X., Bourel L., Coste H., Hyafil F., Tartar A., *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, 117, p. 5405-5406.
- [7] Lam K.S., Salmon S.E., Hersh E.M., Hruby V.J., Kazmierski W.M., Knapp R.J., *Nature*, **1991**, 354, p. 82-84.
- [8] Janda K.D., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1994**, 91, p. 10779-10785.
- [9] Zuckermann R.N., Kerr J.M., Kent S.B.H., Moos W.H., *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, 114, p. 10646-10647.
- [10] Zuckerman R.N., Martin E.J., Spellmeyer D.C., Stauber G.B., Shoemaker K.R., Kerr J.M., Figliozzi G.M., Goff D.A., Siani M.A., Simon R.J., Banville S.C., Brown E.G., Wang L., Richter L.S., Moos W.H., *J. Med. Chem.*, **1994**, 37, p. 2678-2685.
- [11] Cho C.Y., Moran E.J., Cherry S.R., Stephans J.C., Fodor S.P.A., Adams C.L., Sundaram A., Jacobs J.W., Schutz P.G., *Science*, **1993**, 261, p. 1303-1305.
- [12] Patek M., Drake B., Lebl M., *Tetrahedron Lett.*, **1994**, 35, p. 9169-9172.
- [13] Hobbs de Witt S., Kiely J.S., Stankovic C.J., Schroeder M.C., Reynolds Cody D.M., Pavia M.R., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1993**, 90, p. 6909-6913.
- [14] Chen C., Ahlbergrandall L.A., Miller R.B., Jones A.D., Kurth M.J., *J. Am. Chem. Soc.*, **1994**, 116, p. 2661-2662.
- [15] Goff D.A., Kuckerman R.N., *J. Org. Chem.*, **1995**, 60, p. 5748-5749.



CENTRE NATIONAL
DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

CNRS Formation

au service de l'Entreprise

du 20 au 24 mai 1996 à MONT ST AIGNAN (76)

Microscopie et microanalyse des matériaux

du 20 au 24 mai 1996 à BONDY (93)

Spectrométrie d'absorption atomique perfectionnement

du 20 au 24 mai 1996 à ORSAY (91)

Spectrométrie de masse en chimie et biologie

du 20 au 24 mai 1996 ORSAY (91)

**Formation de la personne compétente à la radioprotection
(option IIB sources non-scellées)**

Catalogue, programmes et inscriptions :

CNRS Formation

1 place Aristide Briand- 92195 MEUDON Cedex - FRANCE

Téléphone : (33-1) 45 07 56 72 - Télécopie : (33-1) 45 07 59 00