

Nouveaux ligands des récepteurs dopaminergiques D₃

André Mann et Camille-Georges Wermuth

Summary

New ligands for the D₃ dopaminergic receptor

Dopamine is a major neurotransmitter in the brain. In combining molecular biology and medicinal chemistry it was possible to identify 5 sub-types of the dopaminergic receptor (D₁...D₅). A lead-optimisation strategy applied to the neuroleptic drug sulpiride, provided two potent and selective ligands for the D₃ receptor (nafadotride and BP 897). As the implication of the D₃ receptor in schizophrenia, Parkinson's disease and drug addiction has been postulated, BP 897 seems an ideal drug candidate to evaluate the function of the D₃ receptors in man.

Mots-clés

Dopamine, récepteur D₃, nafadotride, BP 897, addiction, schizophrénie.

Key-words

Dopamine, D₃ receptor, nafadotride, BP 897, addiction, schizophrenia.

Longtemps la dopamine a été considérée comme un précurseur de la biosynthèse de la noradrénaline. Ce n'est qu'en 1957 que fut proposé un rôle physiologique propre à la dopamine dans le système nerveux central (SNC). Arvid Carlsson notamment a démontré que la dopamine était impliquée dans le contrôle de la motricité et que sa délétion était responsable des symptômes extrapyramidaux (apparition de tremblements) dans la maladie de Parkinson. Par la suite, la découverte du mode d'action des neuroleptiques et surtout l'identification de leurs cibles, les récepteurs dopaminergiques, ont établi avec certitude que la dopamine était également le neuromédiateur impliqué dans l'étiologie de certains désordres psychiatriques. L'utilisation massive en neurologie et en psychiatrie de médicaments anti-parkinsoniens et anti-psychotiques qui agissent sur le système dopaminergique, explique l'intérêt considérable porté à la dopamine et à ses fonctions dans le SNC. Il est à noter que malgré des efforts de recherche importants, il n'existe toujours pas de bons médicaments pour soigner efficacement ni la maladie de Parkinson, ni les schizophrénies. Enfin, il est apparu récemment que l'addiction aux drogues pourrait également être traitée par des ligands dopaminergiques.

Dans les années 80, la classification des récepteurs dopaminergiques en récepteurs D₁ et D₂ a été proposée par Kebabian d'après des considérations pharmacologiques. L'occupation des récepteurs D₁ produit l'augmentation de la concentration intracellulaire d'adénylate cyclique (un second messenger) et celle des récepteurs D₂ conduit à sa diminution. Par la suite, des expériences de radio-liaison (ligands radioactifs) ont confirmé l'existence de ses deux sous-classes et leur couplage positif et négatif à l'adényl cyclase. Mais progressivement, la classification en deux sous-classes, D₁ et D₂, s'avéra insuffisante pour expliquer un certain nombre d'anomalies. Il apparaissait de plus en plus évident que ce qu'il était convenu d'appeler récepteur D₂ était une préparation non homogène.

C'est dans ce cadre que Jean-Charles Schwartz et Pierre Sokoloff nous ont proposé, au début des années 80, une collaboration en vue de trouver des molécules discriminantes entre des sous-classes (D₂, D₃, D₄...) dont ils soupçonnaient l'existence à l'intérieur des récepteurs D₂. Disons tout de suite que ces auteurs ont été clairvoyants puisque cinq sous-classes de récepteurs dopaminergiques (D₁...D₅) ont été finalement identifiés depuis, grâce à la biologie moléculaire.

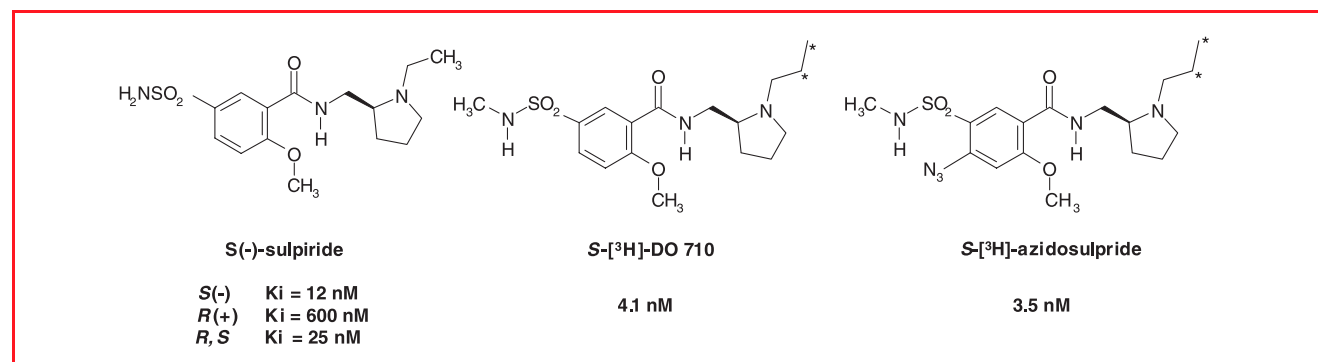


Figure 1 - Structure du sulpiride et de deux analogues.

Les valeurs de Ki représentent l'affinité des ligands pour les récepteurs D₂, le radioligand de référence a été le [¹²⁵I]-iodosulpiride.

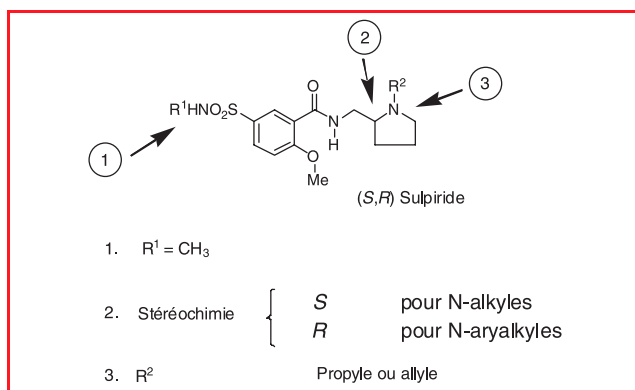


Figure 2 - Optimisation de la structure du sulpiride.

Une étude systématique de trois motifs fonctionnels nous a permis de déterminer les requis structuraux nécessaires pour une bonne affinité sur les sites D_2 : la présence sur le groupement sulfamoylé d'un reste méthyle est optimum ; éthyle ou propyle sont équivalents ainsi que cyclopropyle. Nous avons conservé le résidu méthyle pour des commodités de synthèse ; la stéréochimie du carbone de la pyrrolidine est liée à la nature du substituant sur l'azote basique ; le cycle pyrrolidinyle conduit à de meilleurs ligands que l'homologue supérieur pipéridine...

La molécule de départ pour notre programme de synthèse a été le sulpiride (figure 1). Ce composé est un neuroleptique atypique, possédant une sélectivité marquée pour les récepteurs D_2 . L'activité antagoniste des récepteurs dopaminergiques est concentrée dans l'énantiomère S. Mais surtout, le sulpiride présentait l'avantage de ne pas être reconnu par des récepteurs de neurotransmetteurs autres que dopaminergiques. En tirant partie de la structure polyfonctionnelle du sulpiride, nous avons réalisé des modifications chimiques traditionnelles en chimie thérapeutique, dans l'espoir d'obtenir des ligands plus puissants, plus sélectifs pour l'une ou l'autre des sous-classes, et aussi de nouveaux outils radio-marqués et/ou photoactivables. L'un des résultats de ce travail a été l'identification de deux ligands le S-[^3H]-DO 710 et le S-[^3H]-azidosulpride [1-2] (figure 1).

Ces deux ligands ont grandement facilité le séquençage et le clonage des récepteurs D_2 et D_3 . Au cours de nos recherches, nous avons observé que, pour les analogues du DO 710 portant des restes aliphatiques sur l'azote de l'hétérocycle, c'est l'énantiomère S qui produit l'activité biologique ; par contre, si l'azote porte un reste alkylaryle, c'est l'énantiomère R qui porte l'activité [3]. Ce résultat suggère la présence au niveau du récepteur D_2 de deux poches hydrophobes de taille et de localisation différente. La construction d'une molécule possédant à la fois deux restes, l'un alkyle l'autre aryle, nous a permis en partie de valider cette hypothèse (figure 2).

C'est à ce moment, au début des années 90, que Pierre Sokoloff et son équipe ont réalisé le séquençage et le clonage du récepteur D_3 . L'étude des relations structure-activité devenait alors beaucoup plus simple, puisque chaque molécule synthétisée par nous pouvait être étudiée sur un sous-type unique D_2 ou D_3 . Nous pouvions alors comparer les scores de puissance et de sélectivité pour chacune de nos molécules. C'est ainsi que les premières synthèses nous ont montré que la région « sud-ouest » du sulpiride pouvait être occupée par un reste lipophile (iode ou phényle) et que le substituant sulfonamide pouvait être remplacé par d'autres substituants électro-attracteurs. Nous sommes ainsi passés de la série benzamide à la série

naphtamide. Ces variations nous ont amenés au nafadotride [4] qui présente une excellente affinité ($K_i = 0,11 \text{ nM}$) et une sélectivité D_2/D_3 égale à 10 (figure 3).

Le nafadotride, antagoniste puissant, est devenu le ligand de référence des sites D_3 . Il a permis aux biologistes de valider l'existence du récepteur D_3 , de le localiser dans le système nerveux central et d'en étudier le rôle physiologique. Rappelons que pour les benzamides, la liaison hydrogène intramoléculaire entre l'oxygène du groupement méthoxyle et le proton de la fonction amide a été postulée et considérée comme indispensable à l'activité biologique. Dans le nafadotride, le groupement cyano en para du méthoxyle agit sans doute également comme un modulateur de cette liaison hydrogène.

Le nafadotride avait été choisi pour un développement clinique, mais sa trop faible biodisponibilité n'a pas permis d'aller au bout de l'étude. Nous avons poursuivi notre programme chimique en conservant la structure naphtamide et en variant fortement la nature des chaînes latérales basiques. Ces dernières ont été progressivement allongées, puis le cycle pyrrolidine a été remplacé par un cycle pipérazine, puis N-aryl-pipérazine. En examinant le rôle des substituants sur le noyau naphthalénique pour ces dernières molécules, nous avons observé que, d'une manière surprenante, ceux-ci n'étaient plus du tout nécessaires. Cela est notamment le cas pour le composé le BP 897 (figure 4) qui a été identifié comme un agoniste partiel nanomolaire sur le récepteur D_3 avec une sélectivité D_2/D_3 de 50 environ. Ajoutons que malgré la présence du groupe N-aryl-pipérazine, le composé BP 897 ne présente qu'une faible affinité pour les autres récepteurs comme 5-HT, α ...

Il est remarquable de noter que si l'on trouve les mêmes éléments structuraux dans le nafadotride et dans le BP 897 – un noyau naphtyle, un hétérocycle azoté et un reste méthoxyle –, ces deux molécules ne s'ajustent certainement pas de la même façon dans le site de liaison du récepteur D_3 et les résidus similaires jouent des rôles différents. Dans le sulpiride et dans le nafadotride, l'ensemble arylcarboxamide lié à la pyrrolidine mime la dopamine. Au contraire, dans le

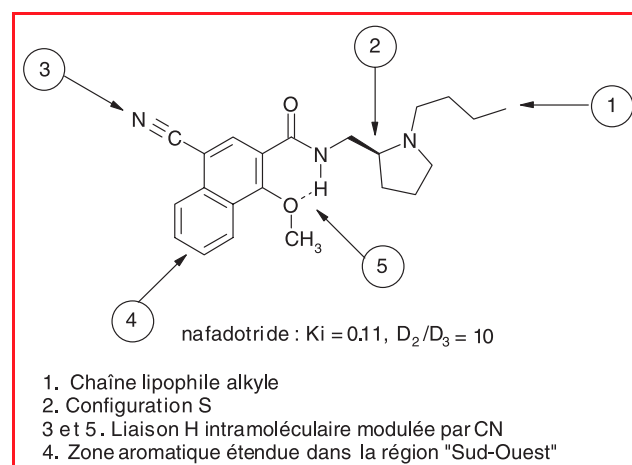


Figure 3 - Le nafadotride.

Premier ligand sélectif des récepteurs D_3 , il a été identifié parmi une centaine d'analogues que nous avons préparés. Ses principales caractéristiques structurales sont : une plage aromatique étendue, la présence d'un substituant cyano (qui module la liaison hydrogène intramoléculaire entre l'oxygène du reste méthoxyle et l'hydrogène de la fonction amide secondaire) ; l'azote hétérocyclique porte un reste optimal butyle, la configuration du carbone asymétrique est S. Le nafadotride présente une constante d'affinité subnanomolaire (le radioligand référence étant le [^{125}I]-sulpride) et une sélectivité D_2/D_3 égale à 10.

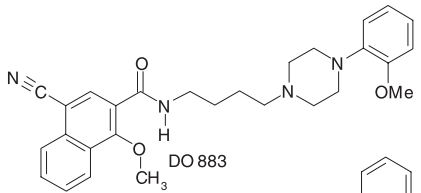
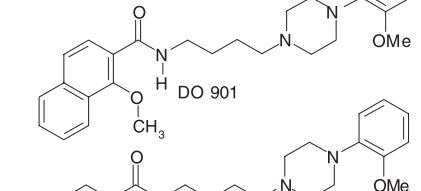
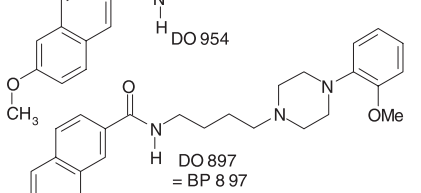

| | K _i (nM) | | Ratio D ₂ /D ₃ |
|---|---------------------|----------------|--------------------------------------|
| | D ₂ | D ₃ | |
|  | 17.5 | 8.2 | 2.1 |
|  | 54 | 5.3 | 10.2 |
|  | 33 | 1.2 | 27 |
|  | 70 | 1.2 | 56 |

Figure 4.

Par un travail d'optimisation sur le noyau naphthoïque, nous avons identifié le BP 897, une molécule extrêmement simple, accessible en peu d'étapes. Sa caractéristique principale est de posséder une conformation étendue, comme le montre sa structure cristalline (RX). En comparant les quatre molécules DO 883, 901, 954 et 897, il en ressort que la puissance et aussi la sélectivité pour les sites D₃ n'est plus liée à l'existence d'une liaison hydrogène intramoléculaire (passage de DO 883 à DO 901 puis DO 954).

BP 897, c'est la partie *o*-méthoxy-phénylpipérazine qui se fixerait dans la cavité réceptrice de la dopamine. Le reste naphtamide engagerait des liaisons accessoires (hydrogènes, hydrophobes...), avec des résidus d'acides aminés à l'extérieur de la cavité. Une modélisation qualitative montre que dans cette zone d'interaction les deux récepteurs D₂ et D₃ avaient en commun une thréonine et que le site D₃ possédait une thréonine supplémentaire (figure 5).

La question qui se pose maintenant est d'imaginer une application thérapeutique au BP 897 en tant qu'agoniste partiel D₃. Chez le rat, les récepteurs D₃ sont localisés dans une zone très limitée du cerveau, le *noyau accumbens*, qui est impliqué dans la mise en mémoire des plaisirs (renforcement positif). Une première indication du BP 897 serait son utilisation dans les syndromes d'addiction (à la cocaïne, à l'alcool, au tabac etc.) [5]. Chez le rat, l'administration de la cocaïne inhibe la recapture de la dopamine au niveau des synapses du *noyau accumbens* et réalise ainsi une augmentation de sa concentration dans la fente synaptique. Celle-ci est associée à l'activation du faisceau de la récompense, donc à un renforcement positif, autrement dit au désir de renouveler l'expérience. Le mode d'action du composé BP 897 pourrait alors

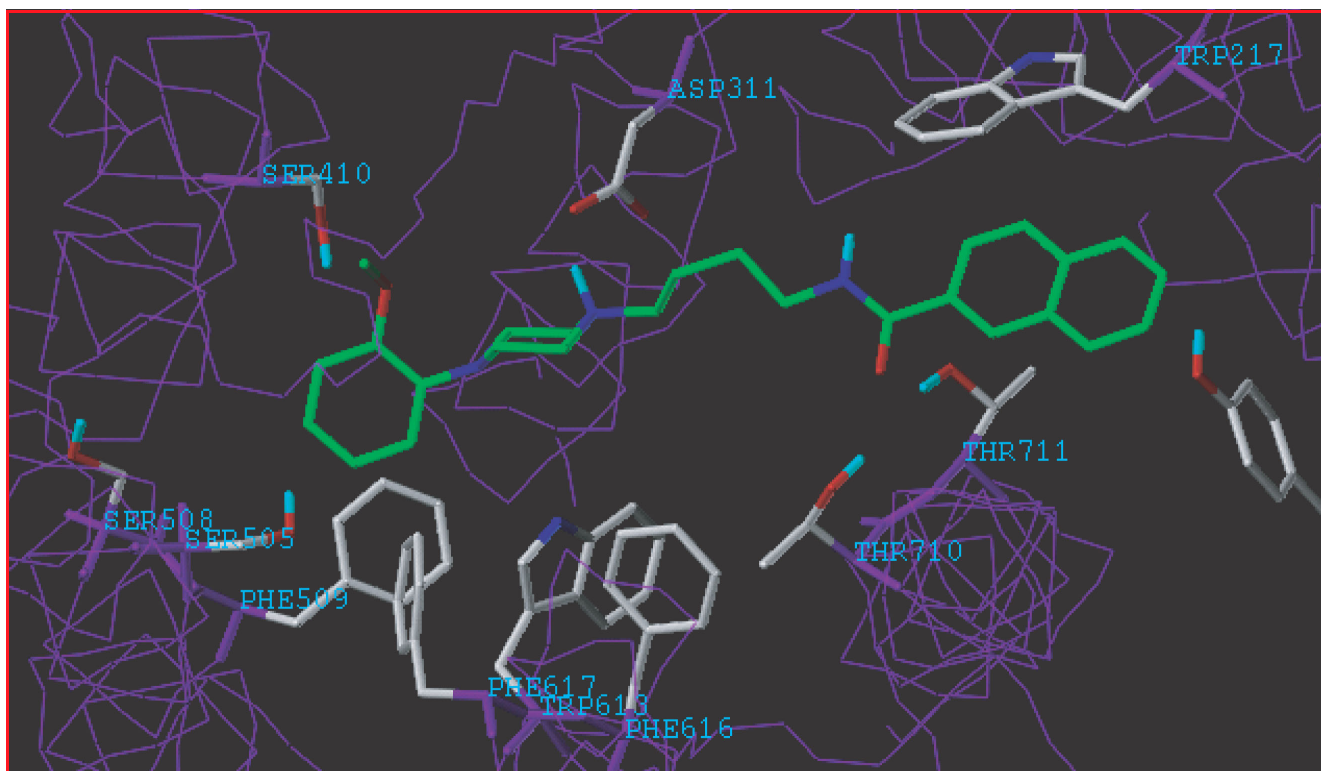


Figure 5.

Le positionnement du BP 897 dans la cavité du site D₃, montre qu'il présente les caractéristiques idéales pour un ligand D₃ et que chacun des éléments structuraux trouve son complémentaire sur la protéine. En partant de gauche à droite : la Ser 410 engage une liaison hydrogène avec l'oxygène du groupe méthoxyle, le noyau aromatique est situé dans une cavité où se réalisent des transferts de charge avec les Phe 509, 616, 617 et Trp 613 ; l'azote protonable est positionné en face de l'Asp 311 ; la fonction amide engage des liaisons hydrogène avec deux Thr 710 et 711, et pour finir le noyau naphthalénique est situé en face d'un Trp 217. La quasi perfection !

s'expliquer par une sorte « d'effet tampon ». Chez le rat drogué en situation de manque, le niveau insuffisant de dopamine serait partiellement compensé par l'effet *agoniste* du BP 897, rendant ainsi le sevrage plus supportable. Au contraire, chez le rat drogué saturé en cocaïne, Barry Everitt a montré qu'un traitement préalable au BP 897 facilite le sevrage de la drogue. Dans ce cas, le composé BP 897 réalise l'occupation des récepteurs D₃ du *noyau accumbens* et y exerce son effet propre qui est très faible puisque la molécule n'est qu'un *agoniste partiel*. L'excès de dopamine présente dans les fentes synaptiques ne peut alors plus interagir avec les récepteurs D₃ puisqu'ils sont bloqués. Divers essais récents ont montré que le composé BP 897 lui-même ne créait ni accoutumance, ni dépendance.

Chez l'Homme, on peut également envisager l'utilisation du composé BP 897 pour faciliter le sevrage à la nicotine ou à la cocaïne. Après une évaluation de la non-toxicité chez l'animal, puis auprès de volontaires sains (phase I), des études cliniques en phase II sont actuellement en cours pour valider cette hypothèse pharmacologique.

La grande surprise dans cette recherche aura été la découverte suivante : chez l'Homme, les récepteurs dopaminergiques D₃ sont présents dans un nombre bien plus important de structures du SNC que chez le rat, où ils n'étaient localisés que dans le *noyau accumbens*. Cela ouvre d'autres champs d'investigations cliniques. Dans la maladie de Parkinson, l'association L-DOPA et BP 897 pourrait éviter les dyskinésies. Dans la schizophrénie, le BP 897, par son caractère antagoniste, pourrait produire un effet bénéfique en empêchant l'excès de dopamine de stimuler les récepteurs dopaminergiques.

Finalement, le composé BP 897 devrait être un outil pharmacologique de choix pour étudier les récepteurs D₃. Cependant, dans l'arsenal des ligands D₃, il manque l'antagoniste sélectif et puissant que nos collègues Pierre Sokoloff et Jean-Charles Schwartz appellent de leurs vœux pour comprendre vraiment l'implication physiologique des sites D₃ dans le système nerveux central.

Références

- [1] Sokoloff P., Brann M., Redouane K., Martres M.-P., Schwartz J.-C., Bouthenet M.-L., Sales N., Mann A., Hamdi P., Wermuth C.-G., Roy J., Morgat J.-L., *Eur. J. Pharmacol.*, **1985**, *107*, p. 243.
- [2] Rognan D., Mann A., Hamdi P., Wermuth C.-G., Sokoloff P., Schwartz J.-C., Roy J., Morgat J.-L., *J. Lab. Comp.*, **1986**, *24*, p. 1362.
- [3] Rognan D., Sokoloff P., Mann A., Martres M.-P., Schwartz J.-C., Costentin J., Wermuth C.-G., *Eur. J. Pharmacol. (Mol. Pharmacol. Section)*, **1990**, *189*, p. 59.
- [4] Sautel F., Griffon N., Sokoloff P., Schwartz J.-C., Lauray C., Simon P., Costentin J., Schoenfelder A., Garrido F., Mann A., Wermuth C.-G., *J. Pharm. Exp. Ther.*, **1995**, *275*, p. 1239.
- [5] Pila M., Perachon S., Garrido F., Mann A., Wermuth C.-G., Schwartz J.-C., Everitt B.J., Sokoloff P., *Nature*, **1999**, *400*, p. 371.



A. Mann

André Mann

Docteur es science et ingénieur chimiste, il est directeur de recherche au Laboratoire de pharmacochimie de la communication cellulaire à la Faculté de pharmacie de Strasbourg*.



C.-G. Wermuth

Camille-Georges Wermuth

est pharmacien et docteur es sciences, professeur de chimie organique à la Faculté de pharmacie de Strasbourg. Il a pris sa retraite en 2002. Actuellement, il est président et directeur scientifique de la « start-up » Prestwick Chemical**.

* Laboratoire de pharmacochimie de la communication cellulaire, UMR 7081 du CNRS, Faculté de pharmacie, 74 route du Rhin, BP 24, 67401 Illkirch Cedex.

Tél. : 03 90 24 42 27. Fax : 03 90 24 43 10.

E-mail : Andre.mann@pharma.u-strasbg.fr

<http://med-chem.u-strasbg.fr/Faculté de Pharmacie>

** Prestwick Chemical, Inc., rue Tobias Stimmer, bât. Tycho Brahe, 67400 Illkirch.

Tél. : 03 88 55 07 01. Fax : 03 88 67 00 06.

E-mail : wermuth_cg@prestwickchemical.fr