

La chimie combinatoire dans la découverte de nouveaux médicaments

10 ans d'apprentissage

Jean-Yves Ortholand

Summary	Combinatorial chemistry in the discovery of new medicines: 10 years of progress Combinatorial chemistry entered the field of pharmaceutical research 10 years ago. Different strategies have been gradually integrated for high throughput synthesis, markedly modifying the features of medicinal chemistry laboratories. Looking back on this past decade gives us the opportunity to illustrate the impact of this technique on the development of new clinical candidates.
Mots-clés	Nouveaux médicaments, chimie combinatoire, synthèse organique supportée, développement clinique.
Key-words	New medicines, combinatorial chemistry, solid-supported organic synthesis, clinical development.

La chimie combinatoire est née de l'avènement à la fin des années 80 des tests biologiques miniaturisés à haut débit (HTS). Grâce notamment aux avancées de la biologie moléculaire durant cette période, les cibles utilisées dans ces tests (enzymes ou protéines fonctionnelles) sont devenues accessibles facilement en quantité plus importante, permettant ainsi de tester des collections de composés de taille, d'origine et de diversité croissantes.

La synthèse classique itérative ou la collecte d'échantillons d'origine naturelle ne permettant pas d'obtenir rapidement de grandes chimiothèques, les chimistes ont élaboré des technologies de synthèse de masse, communément regroupées maintenant sous l'appellation de chimie combinatoire.

La chimie combinatoire est en fait entrée dans le domaine de la recherche de nouveaux médicaments il y a 11 ans cette année. En effet, Ellman démontrait de façon très innovante

en 1992, la possibilité de préparer rapidement, au moyen de la synthèse sur support solide (schéma 1), un grand nombre d'analogues de benzodiazépines [1].

Cette première marche franchie ouvrait de nouveaux horizons, et l'on se mit à espérer la découverte rapide et facilitée de nouveaux médicaments, satisfaisant à la fois patients et compagnies pharmaceutiques.

Avant de proposer une analyse du phénomène « combinatoire », il convient de revenir sur les principales avancées réalisées au cours des 10 dernières années dans ce domaine.

Chronologie de la chimie combinatoire

Le concept de la synthèse à haut débit d'un grand nombre de molécules organiques différentes remonte aux années 80. Furka énonce en 1982 le principe théorique de la préparation

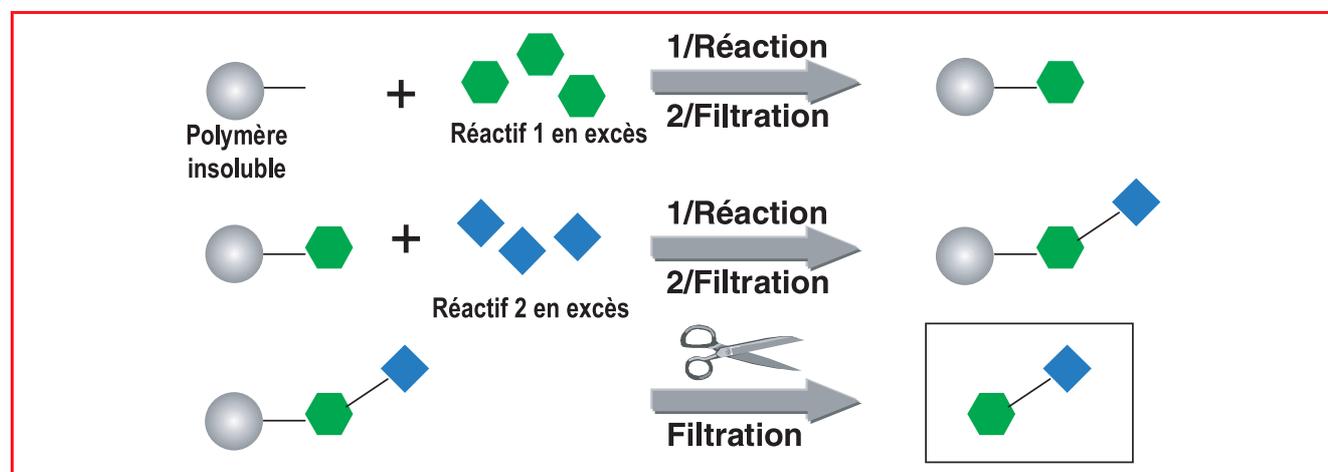


Schéma 1 - Principe de la synthèse sur support.

Les réactifs 1 et 2 sont utilisés en excès, pour déplacer l'équilibre réactionnel dans le sens favorable, et le polymère insoluble permet une purification aisée par simple filtration.

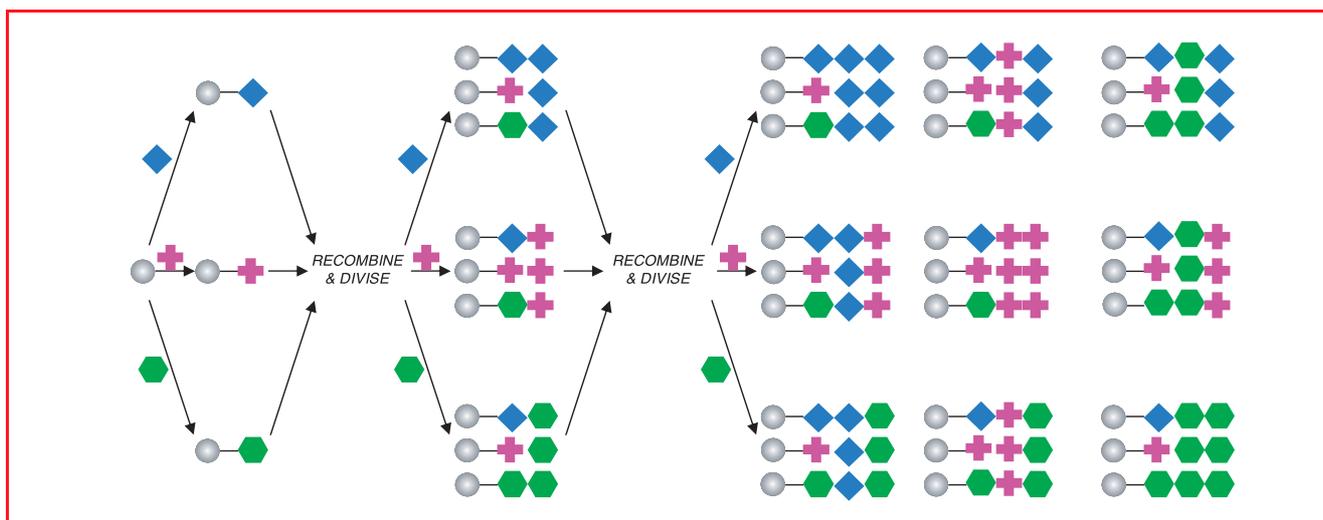


Schéma 2 - Principe du « divide-recombine » (« split-mix »).

27 (3^3) composés sont formés en 9 (3×3) étapes. Une bille donnée ne porte qu'un seul type de composé. Les composés sont obtenus en mélange après clivage (\gg), ce qui nécessite après test biologique une déconvolution du mélange trouvé actif.

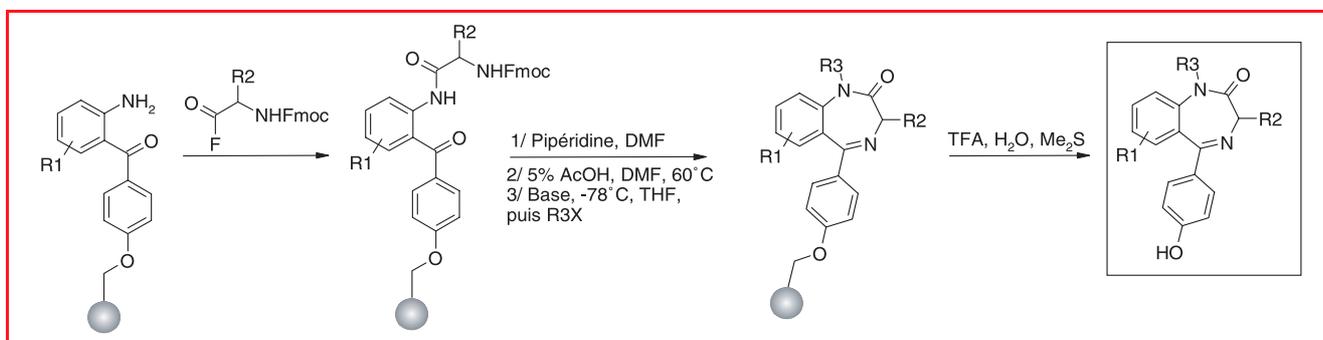


Figure 1 - Synthèse supportée de benzodiazépines par Ellman.

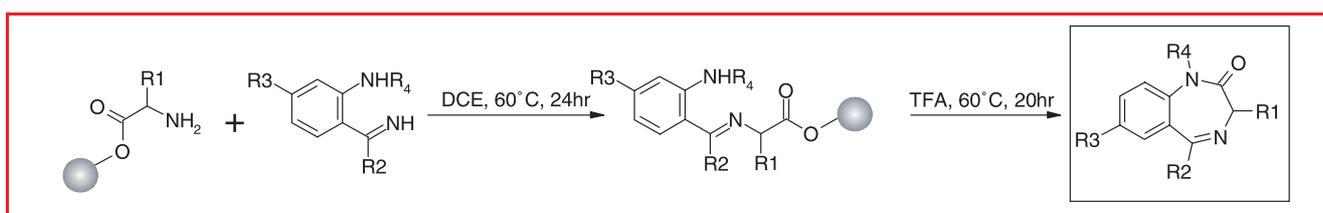


Figure 2 - Synthèse supportée de benzodiazépines par DeWitt.

de collections d'oligomères en phase supportée (peptides, oligonucléotides, oligosaccharides) par un nombre restreint d'étapes chimiques [2]. Les composés seraient obtenus en mélange selon une stratégie particulière, appelée « divide-recombine » [3] (schéma 2).

Geysen [4] et Houghten [5] démontrent ensuite la réalité expérimentale de synthèses sur support en parallèle en utilisant d'astucieuses techniques opératoires, permettant ainsi l'accès à quelques centaines de peptides de façon simultanée [6]. L'avenir des peptides en tant que futurs médicaments étant cependant limité (stabilité et biodisponibilité faibles), la chimie combinatoire franchit un nouveau cap avec la préparation simultanée par synthèse en phase solide de molécules « médicinales » reconnues, les benzodiazépines. Ellman [1] et DeWitt [7] (figures 1 et 2) étendent ainsi le

champ d'application de l'invention de Merrifield à la chimie médicinale et démontrent l'intérêt pharmaceutique de la synthèse supportée pour la préparation de petites molécules organiques non oligomériques. Ce potentiel est rapidement confirmé avec la synthèse en phase solide d'analogues de l'antihypertenseur captopril [8], de l'antifongique miconazole [9] et de l'anticancéreux tamoxifen [10].

Ainsi, la possibilité d'accéder rapidement à de multiples analogues d'un composé actif par synthèse supportée, conjuguée au potentiel du « split-mix », accélère le développement de ces techniques et leur introduction dans les laboratoires de recherche.

Pour pallier à un processus fastidieux d'identification du composé responsable de l'activité au sein d'un mélange actif (déconvolution), des techniques très élaborées de codage

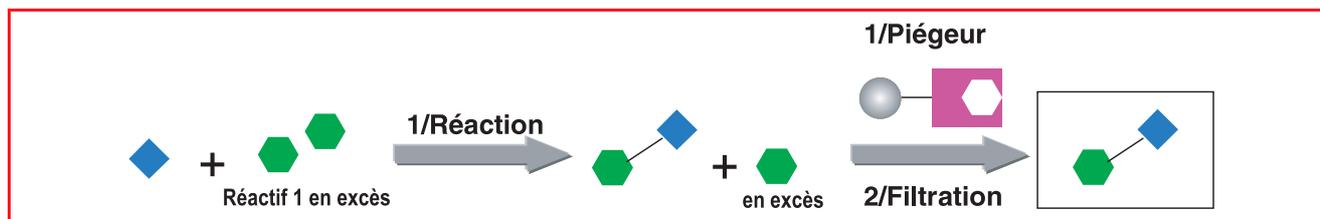


Schéma 3 - Utilisation de « piègeurs » supportés.

Le réactif 1 est utilisé en léger excès, qui est éliminé à la fin de la réaction par ajout d'un piègeur « complémentaire ».

sont mises en place [11]. Elles permettent, après avoir effectué le test biologique sur les billes prises séparément, de remonter plus facilement à l'identité structurale du composé actif. Néanmoins, la synthèse supportée qui est nécessairement associée à ces différentes méthodes est souvent perçue comme un inconvénient car elle exige en général un investissement important en temps de mise au point.

Plusieurs stratégies de synthèse à haut débit, alternatives et complémentaires de la synthèse en phase solide, ont alors été proposées :

- Utilisation de réactifs supportés, ou de « scavengers » permettant d'effectuer la synthèse de façon classique en phase homogène, et d'obtenir après simple filtration la molécule pure (schéma 3) [12]. Cette technique, plus accessible et facilement utilisable pour de petites séries de molécules, a été rapidement adoptée dans les laboratoires de recherche pharmaceutique, et son potentiel pour la préparation de composés d'activité pharmacologique reconnue a notamment été validé par Ley pour la synthèse du sildenafil [13] (ViagraTM), de la nicotine et de l'épipatidine [14].
- Utilisation par Janda d'un support polymérique soluble (linéaire) [15], permettant de combiner les avantages du support insoluble (précipitation du polymère linéaire dans l'éther diéthylique en fin de réaction, et purification par simple filtration) avec les avantages de la synthèse homogène classique. Cette technique a été appliquée avec succès pour la synthèse de plusieurs prostaglandines [16], illustrant ainsi le potentiel d'accès à des analogues de ces composés pharmacologiques reconnus.
- Synthèse « fluorée », décrite par Curran [17], utilisant les propriétés d'immiscibilité de chaînes carbonées perfluorées en remplacement du support insoluble, pour faciliter le traitement et l'isolement du composé final.

Les différentes stratégies décrites ci-dessus ne représentent qu'une sélection de l'arsenal aujourd'hui à la disposition des chercheurs des laboratoires de chimie. L'ensemble est vaste et peut sembler très hétérogène sous la seule désignation de « chimie combinatoire » [18]. Cependant, et quelle que soit l'appellation choisie : synthèse combinatoire, synthèse parallèle ou à haut débit, il est incontestable que 10 ans à peine ont suffi à implanter l'une ou l'autre de ces stratégies dans un très grand nombre de laboratoires publics et privés, en recherche pharmaceutique, mais également cosmétique, agrochimique ou en chimie de spécialités (catalyse, matériaux...) [19]. L'impact est d'ailleurs visible et important au niveau de l'outil et des techniques de travail en chimie organique : le laboratoire de chimie de ce début de XXI^e siècle, grâce à l'implantation de systèmes robotisés haut débit et miniaturisés, tant en synthèse qu'en analyse (utilisation en routine de techniques de pointe, comme les couplages HPLC/MS ou HPLC/RMN par exemple), est très différent de l'environnement classique des années 80 [20].

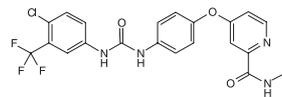
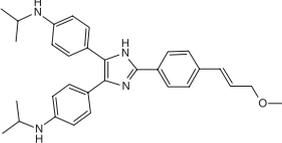
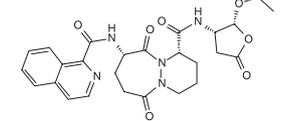
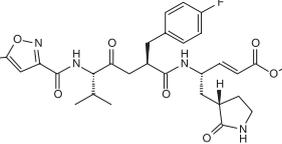
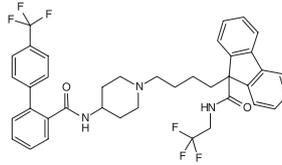
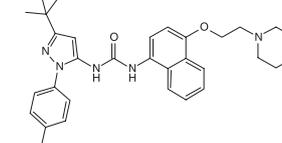
Quelle réussite pour de nouveaux médicaments ?

En intégrant dès le début des années 90 la chimie combinatoire dans de nombreux programmes de recherche, les laboratoires pharmaceutiques souhaitaient freiner la baisse régulière du nombre de molécules candidates à l'autorisation de mise sur le marché (AMM), tout en réduisant le temps mis pour les découvrir. Qu'en est-il après 10 ans ? L'objectif est partiellement rempli : un certain nombre de composés découverts en partie à l'aide de la chimie combinatoire ont atteint des phases d'études cliniques avancées, démontrant ainsi très rapidement la validité du concept de la synthèse à haut débit (tableau I). A cette liste non exhaustive s'ajoute vraisemblablement un plus grand nombre de composés actuellement en phase clinique I ou en développement préclinique, et pour lesquels la structure exacte et les informations issues de la recherche ne sont pas encore divulguées [21]. De plus, la probabilité pour que les familles chimiques actuellement en cours d'optimisation dans les groupes pharmaceutiques soient explorées par des techniques de synthèse à haut débit augmente. En effet, les échantillothèques propriétaires de chaque société, desquelles sont majoritairement issues ces nouvelles familles, ont massivement augmenté au cours des cinq dernières années grâce à l'apport de molécules produites par chimie combinatoire [22]. La probabilité d'y trouver des hits après criblage HTS, puis de les optimiser, au moins en partie, par chimie parallèle est forte.

La réduction effective du temps de découverte est plus difficile à démontrer. Néanmoins, selon une étude récente [23], la perception de responsables de grandes entreprises pharmaceutiques mondiales montre que les phases de découverte où est fortement impliquée la chimie (découverte et optimisation de séries actives) demandent moins de temps en 2000 qu'en 1997. La chimie combinatoire, de façon directe par l'implantation de techniques de synthèse à haut débit, ou indirecte par le changement culturel associé (miniaturisation, utilisation d'automates de synthèse et de purification) a contribué à cette amélioration.

Ce premier bilan peut néanmoins apparaître insuffisant au regard des investissements très importants réalisés par les laboratoires dans le domaine de la chimie combinatoire. Il faut cependant se souvenir que le temps passé entre la découverte d'un nouveau composé et son AMM est évalué en moyenne à 11 ans, ce qui permet d'envisager un nombre croissant de composés découverts à l'aide de la chimie combinatoire dans la seconde moitié des années 90, approchant de leur commercialisation dans les années futures. D'autre part, et même si la synthèse à haut débit a largement participé à l'augmentation de la productivité en chimie, les exigences se sont également accrues (notamment au niveau des études de biodisponibilité et de

Tableau I - Exemples de composés découverts en partie à l'aide de la chimie combinatoire et ayant atteint des phases d'études cliniques avancées.

Composé	Cible et indication	Compagnie	Stade clinique	Réf.
	Inhibiteur de la RAF Kinase (oncologie)	Bayer/Onyx	I/II	27
	Inhibiteur de la P-glycoprotéine (oncologie)	Ontogen	II	28
	Inhibiteur de l'ICE (arthrose)	Vertex	II	29
	Inhibiteur de la protéase du rhinovirus 3C (traitement du rhume)	Agouron-Pfizer	II	30
	Inhibiteur de la MTP (hypolipémiant)	Bristol-Myers Squibb	II	31
	Inhibiteur de la p38 MAP Kinase (arthrose)	Boehringer Ingelheim	II	32

toxicité des composés candidats au développement), augmentant ainsi de façon proportionnelle les échecs en phase préclinique, afin d'éviter le risque beaucoup plus conséquent d'échec lors des phases cliniques.

Conclusion

La chimie combinatoire, à l'instar d'autres technologies précédemment intégrées en « drug discovery » (la modélisation moléculaire dans les années 80 par exemple), a parfois été mal interprétée lors de son arrivée en recherche pharmaceutique. Voie royale pour les uns, « garantissant » l'accès à de nombreuses molécules actives *via* la synthèse rapide et systématique de millions de composés, technique réductrice et peu rationnelle pour les autres, elle a souvent divisé les chimistes à son sujet.

Elle a aujourd'hui gagné en maturité [24], et s'affirme comme un outil de choix lors des phases d'identification et d'optimisation de familles actives. Décrite au départ aux antipodes du « rational drug design », elle en est finalement un complément approprié [25] : les calculs de prédiction permettent de réduire de façon pertinente la taille des bibliothèques visées en sélectionnant les synthons selon des critères de diversité ou de similarité, et les résultats obtenus après les tests biologiques sont utilisés en retour pour

obtenir des corrélations structure-activité sur des échantillons plus représentatifs.

De même, les limitations initiales, dues aux réactions organiques simples utilisées au départ, et provenant logiquement de celles utilisées en chimie peptidique, ne sont plus d'actualité : des chimiothèques d'analogues de molécules naturelles complexes commencent à être accessibles par synthèse parallèle sur support solide [26].

Finalement, et avec le recul de quelques années (d'ailleurs nécessaire à toute technique nouvelle !), gageons que ce nouvel outil de la panoplie des chimistes médicaux sera, comme le HTS en biologie, l'une des clés du succès pour l'exploitation des nombreuses cibles issues de la génomique, sur le chemin de la découverte des médicaments de demain.

Remerciements

Je remercie mes collègues pour leurs conseils, en particulier D. Roche pour ses commentaires, R. Dolle (Adolor) et D. Marteaux (Current Drugs Ltd.) pour leur aide sur les composés en études cliniques.

Notes et références

- [1] Bunin B.A., Ellman J.A., *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, *114*, p. 10997.
- [2] Furka A., *Drug Discovery Today*, **2002**, *7*, p. 1.

- [3] Ce principe sera finalement démontré presque 10 ans plus tard, avec la synthèse d'une bibliothèque de ~2,5 millions de peptides : Lam K.S., Salmon S.E., Hersh E.M., Hruby V.J., Kazmierski W.M., Knapp R.J., *Nature*, **1991**, 354, p. 82.
- [4] Geysen H.M., Meloen R.H., Barteling S.J., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1984**, 81, p. 3998.
- [5] Houghten R.A., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1985**, 82, p. 5131.
- [6] Les technologies récentes de type « Irori » et de « Chiron Mimotopes » (pins) sont directement inspirées de ces avancées initiales.
- [7] Hobbs DeWitt *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1993**, 90, p. 6909.
- [8] Murphy M.M., Schullek J.R., Gordon E.M., Gallop M.A., *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, 117, p. 7029.
- [9] Tortolani D.R., Biller S.A., *Tetrahedron Lett.*, **1996**, 37, p. 5687.
- [10] Brown S.D., Armstrong R.W., *J. Org. Chem.*, **1997**, 62, p. 7076.
- [11] Nestler H.P., Bartlett P.A., Still W.C., *J. Org. Chem.*, **1994**, 59, p. 4723 ; Nielsen J., Brenner S., Janda K.D., *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, 115, p. 9812.
- [12] Kaldor S.W., Siegel M.G., Fritz J.E., Dressmann B.A., Hahn P.J., *Tetrahedron Lett.*, **1996**, 37, p. 7193 ; Flynn D.L., Crich J.Z., Devraj R.V., Hockerman S.L., Parlow J.J., South M.S., Woodard S.S., *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**, 119, p. 4874 ; Booth R.J., Hodges J.C., *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**, 119, p. 4882.
- [13] Baxendale I.R., Ley S.V., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2000**, 10, p. 1983.
- [14] Baxendale I.R., Brusotti G., Matsuoka M., Ley S.V., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **2002**, p. 143.
- [15] Han H., Wolfe M.M., Brenner S., Janda K.D., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1995**, 92, p. 6419.
- [16] Chen S., Janda K.D., *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**, 119, p. 8724 ; *ibid.*, *Tetrahedron Lett.*, **1998**, 39, p. 3943.
- [17] Curran D.P., Hoshino M., *J. Org. Chem.*, **1996**, 61, p. 6480 ; Studer A., Hadida S., Ferritto R., Kim S.-Y., Jeger P., Wipf P., Curran D.P., *Science*, **1997**, 275, p. 823.
- [18] Plusieurs tentatives ont été faites pour préciser le terme de « chimie combinatoire ». Voir en particulier : *Chemical & Engineering News*, **1997**, Feb'10, 4 ; *ibid.*, **1997**, Mar'17, 6 ; *ibid.*, **1997**, Apr'14, 4.
- [19] Différents périodiques ont d'ailleurs été créés avec pour thématique principale la chimie combinatoire : *Molecular Diversity* (Kluwer Academic Publishers) ; *Combinatorial Chemistry* (Elsevier Science) ; *Journal of Combinatorial Chemistry* (American Chemical Society Publication).
- [20] Coates W.J., Hunter D.J., MacLachlan W.S., *Drug Discovery Today*, **2000**, 5, p. 521.
- [21] Un aperçu représentatif peut cependant être obtenu dans la littérature : Dolle R., *J. Comb. Chem.*, **2001**, 3, p. 1.
- [22] Ces apports sont majoritairement réalisés par achat de molécules auprès de sociétés à façon, dont l'offre cumulée peut être estimée à 5 millions de molécules différentes environ, soit au moins un ordre de grandeur plus important que la taille des chimiothèques des compagnies pharmaceutiques au début des années 90 ! La plupart de ces molécules sont issues de chimie combinatoire.
- [23] HPDD2 Study, *Accenture*, **2000**.
- [24] Bellamy F., *L'Actualité Chimique*, **2000**, 9, p. 4.
- [25] Leach A.R., Bryce R.A., Robinson A.J., *J. Mol. Graphics*, **2000**, 18, p. 358.
- [26] Wessjohann L.A., *Current Opinion in Chemical Biology*, **2000**, 4, p. 303.
- [27] Smith R.A. *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2001**, 11, p. 2775.
- [28] Sarshar S. *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2000**, 10, p. 2599.
- [29] Harbeson S., *Combinatorial Chemistry: Conventional Tools from Revolutionary Technologies*, September 22-25, **2002**, Leesburg, VA.
- [30] Matthews D.A. *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1999**, 96, p. 11000.
- [31] Wettereau J.R. *et al.*, *Science*, **1998**, 282, p. 751.
- [32] Regan J. *et al.*, *J. Med. Chem.*, **2002**, 45, p. 2994 ; Dumas J. *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2000**, 10, p. 2047.

Jean-Yves Ortholand

travaille actuellement aux États-Unis pour Merck Santé*.

* Merck Santé, Centre de Recherche et Développement, 115 avenue Lacassagne, 69003 Lyon.
E-mail : ortholand@sbcglobal.net

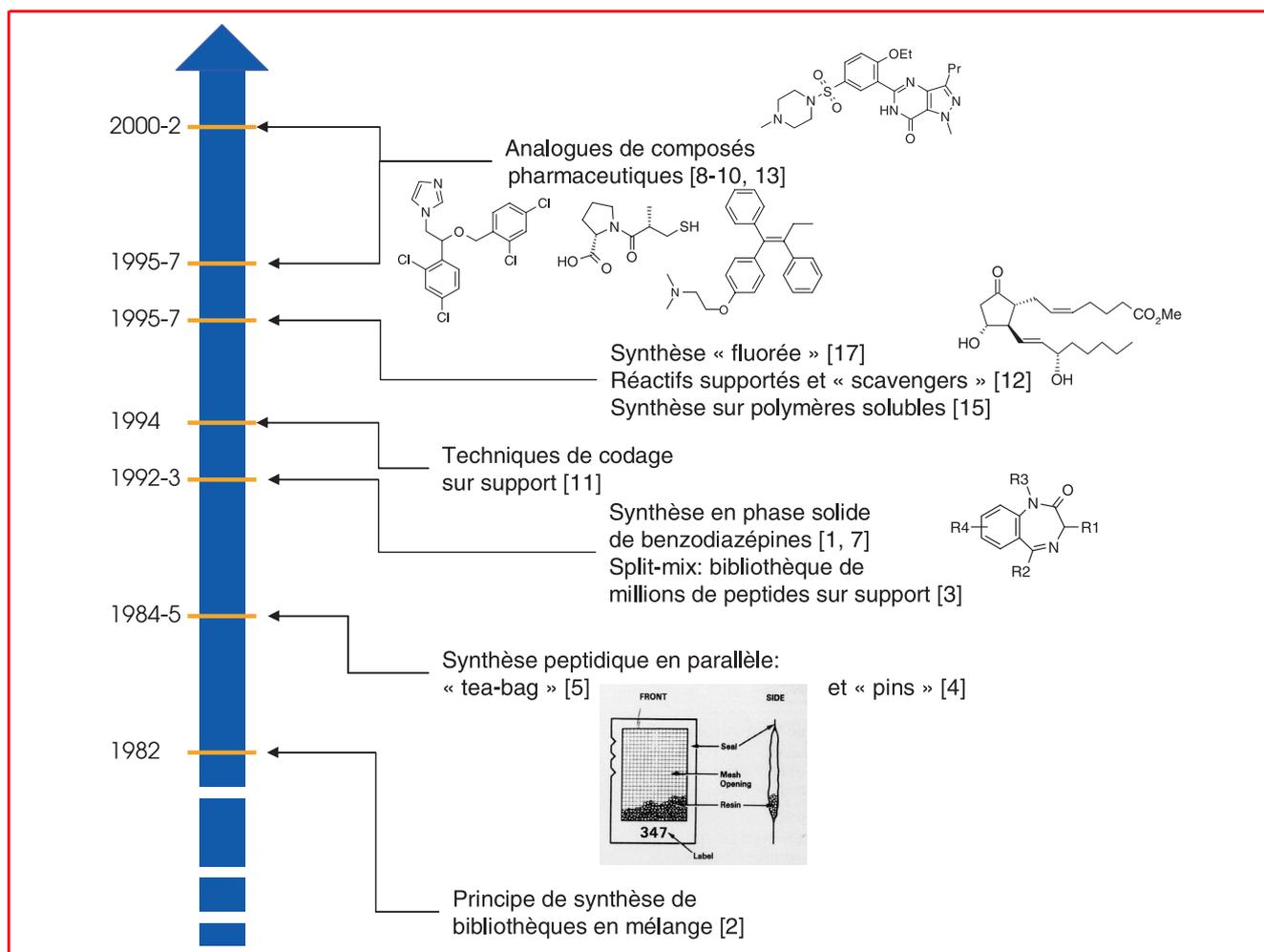


Figure 3 - Les grandes étapes de la chimie combinatoire.