

Chapitre 1

Identification de molécules synthétiques à visée thérapeutique

Marc Le Borgne¹

I. Principes généraux sur l'identification de molécules à visée thérapeutique

L'identification de molécules à visée thérapeutique est un long processus, faisant intervenir de très nombreuses connaissances scientifiques dans les domaines de la chimie (bio)organique, de la pharmacognosie, de la pharmacologie, de la pharmacocinétique, de la pharmacie galénique, de la pharmacie clinique. Ce chapitre se focalisera majoritairement sur la recherche de molécules synthétiques à visée thérapeutique.

1. Le processus multi-étapes de la mise au point d'une nouvelle substance active

Le terme anglo-saxon « **Drug Discovery** » est classiquement utilisé pour définir le processus multi-étapes qui permettra la mise au point d'un tout nouveau médicament. La découverte d'un nouveau médicament nécessite avant tout la mise au point d'une nouvelle substance active. Le travail à entreprendre est long, sinueux, difficile, fastidieux mais tellement exaltant. Le XIX^e siècle a été marqué par l'essor de la chimie organique qui a permis de poser les bases pour le développement d'une nouvelle chimie appliquée aux substances actives, la **chimie thérapeutique** (également appelée chimie médicinale, pharmacochimie). Cette dernière a pour objectif de découvrir et de mettre au point de nouvelles molécules bioactives qui seront progressivement optimisées vers l'obtention de candidats médicaments (1²).

Le lancement d'un programme de recherche ayant pour objectif la mise au point d'une nouvelle molécule à visée thérapeutique va dépendre d'un grand nombre de paramètres et de connaissances scientifiques. Pour les pharmaco-chimistes, il sera primordial de prendre en compte certains d'entre eux pour élaborer leur projet de recherche. Par exemple, ils seront amenés à :

- choisir une maladie (e.g. cancer du sein, diabète de type 2, hépatite virale B) ;

1. Professeur de chimie thérapeutique, université Claude Bernard Lyon 1, Institut des sciences pharmaceutiques et biologiques de Lyon.
2. Ces notes (mises entre parenthèses) sont en références en fin de chapitre, voir Bibliographie, dans ce cas-ci p. 27.

- choisir une cible (e.g. ADN-gyrase bactérienne, transcriptase inverse, protéasome 26S, tyrosine kinase Bcr-Abl) ;
- identifier un ligand naturel d'un récepteur (e.g. sérotonine, adrénaline, acétylcholine) ;
- bénéficier de la mise au point d'un test biologique (e.g. inhibition de la caséine kinase 2, cytotoxicité sur lignées tumorales) ;
- identifier un « hit » suite à un criblage à haut débit d'une librairie de molécules (chimiothèque) ;
- isoler et purifier une substance active d'un extrait végétal ou marin.

Cette liste n'est pas limitative et intègre d'autres données importantes comme (i) la possibilité de breveter la découverte de molécules à visée thérapeutique, (ii) la connaissance de la structure tridimensionnelle de la cible et (iii) l'identification des **relations structure-activité (RSA)**. De toute manière, le point de départ d'un projet de recherche n'est pas standardisé et dans tous les cas une extrême flexibilité est requise pour analyser l'ensemble des données préliminaires obtenues et ainsi définir la meilleure stratégie pour rechercher la molécule « hit », la molécule chef de file, le candidat médicament (cf. ne pas confondre médicament et substance active).

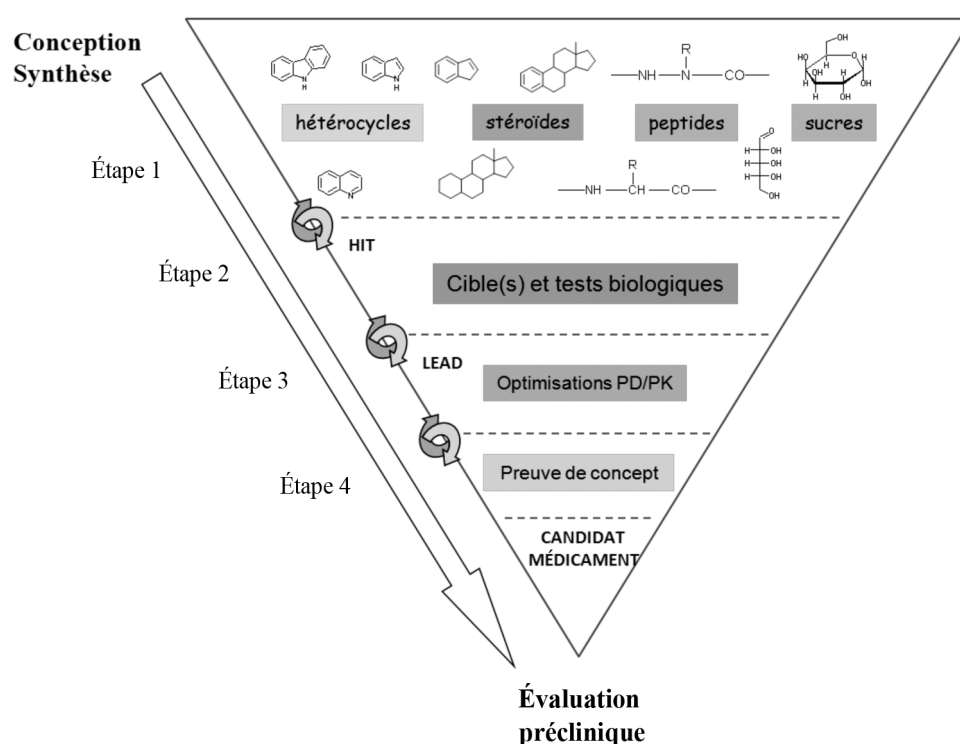


Figure 1 : Représentation simplifiée des principales étapes de la mise au point d'un candidat médicament

De manière synthétique, les principales étapes de la mise au point d'un candidat médicament sont listées sur la figure 1. Dans un premier temps (étape 1), il s'agit de découvrir un « hit ». Par exemple, il est possible d'identifier un « hit » soit après la mise en place d'une évaluation à haut débit soit à partir d'une molécule isolée d'une plante. La modulation structurale du « hit » peut être réalisée pas à pas (e.g.

introduction de groupements électro-attracteurs puis électro-donneurs, étude de l'importance du facteur encombrement stérique) ou en s'appuyant sur des données tridimensionnelles de la cible (e.g. groupements donneurs ou accepteurs de liaison H). L'étape 2 consistera à évaluer la librairie de molécules synthétisées (également appelée chimiothèque) et ainsi établir les premières RSA. La diversité structurale générée par ces travaux de pharmacomodulation est essentielle pour découvrir une molécule chef de file. L'étape 3 se focalisera sur l'optimisation structurale du « lead », sur le plan pharmacodynamique (PD – optimisation du potentiel d'activité) mais également sur le plan pharmacocinétique (PK – optimisation des paramètres ADMET). L'étape 4, dite « preuve de concept » est une étape clé qui doit permettre de démontrer l'efficacité du « lead optimisé » sur différents modèles biologiques (*in vitro*, mais également *in vivo*). Les frontières entre ces différentes étapes ne sont pas étanches et de nombreux allers et retours sont nécessaires pour mettre au point le « lead » à partir du « hit », puis de disposer d'un candidat médicament issu de l'optimisation progressive du « lead ».

Les pharmaco-chimistes connaissent précisément les caractéristiques principales d'un bon candidat médicament. Il doit être :

- brevetable ;
- stable dans des conditions variées (température, lumière, humidité) ;
- atoxique, non mutagène ;
- bien absorbé par voie orale ;
- facilement synthétisable au niveau industriel ;
- actif sur différents modèles animaux.

Rappel : ne pas confondre médicament et substance active

Dans ce chapitre, le terme médicament regroupe la substance active et les excipients utilisés lors de la phase de formulation galénique. Par exemple, le médicament dont le nom de spécialité est le Doliprane® 1 000 mg (comprimé) contient du paracétamol et les excipients povidone, amidon prégélatinisé, carboxyméthylamidon sodique (type A), talc et stéarate de magnésium. Le paracétamol est considéré comme la substance active. Après administration et désintégration du comprimé au niveau gastrique, il y aura libération du paracétamol, sa dissolution dans le liquide gastrique puis son absorption au niveau intestinal. La substance active est responsable de l'activité biologique.

Divers synonymes existent pour remplacer le terme « substance active » contenu dans un médicament. Il est possible d'utiliser également les termes substance bioactive, principe actif (PA) ou ingrédient pharmaceutique actif (IPA). Ces termes sont plutôt utilisés lors des phases de développement et de commercialisation du médicament. Lors de la phase recherche, les termes substance active et molécule à visée thérapeutique sont utilisés mais également d'autres termes indiquant les avancées en termes de mise au point, comme les termes anglo-saxons « hit » et « lead » :

- un « hit » peut être défini comme une première molécule présentant une activité biologique suffisamment intéressante pour être étudiée,
- un « lead » est une molécule chef de file issue de l'optimisation structurale effectuée à partir du « hit ».

Un autre terme peut être retenu à la place de substance active lors du processus de Recherche & Développement, à savoir « candidat médicament » pour indiquer la molécule choisie pour le développement.

Lorsque la molécule possède un ou plusieurs centres chiraux, il faudra également sélectionner l'isomère le plus actif pour le développement préclinique.

Une classe thérapeutique, celle des anti-inflammatoires, a été choisie comme fil rouge de ce chapitre afin d'aborder certains aspects de la découverte, de la conception et de la mise au point des substances bioactives.

2. Les anti-inflammatoires

Les anti-inflammatoires constituent un groupe de médicaments majeurs et très largement utilisés pour traiter un très grand nombre de pathologies (arthroses, entorses, lombalgies, otites, arthrites microcristallines, crises de coliques néphrétiques...). Leur mise au point s'est déroulée tout au long du XX^e siècle, à partir d'observations, d'intuitions, de recherches systématiques, de la découverte des hormones stéroïdiennes...

a. Les anti-inflammatoires stéroïdiens

Le point de départ de ce premier groupe de médicaments a émergé à partir des connaissances scientifiques acquises autour des hormones stéroïdiennes et plus particulièrement les glucocorticoïdes (cf. rappel la stéroïdogénèse).

Le principal représentant des glucocorticoïdes naturels est le cortisol, également appelé hydrocortisone. Il possède de nombreuses propriétés biologiques. Par exemple, au niveau de la régulation de l'eau et des électrolytes, cette hormone a un effet minéralocorticoïde (hypokalémiant et hypernatrémiant). Parallèlement il peut exercer un effet anti-inflammatoire par inhibition de la phospholipase A2 (PLA2) faisant suite à l'augmentation de la lipocortine. Le cortisol a été le point de départ d'une recherche intensive de nouvelles molécules à visée anti-inflammatoire dénuée de propriétés minéralocorticoïdes. À partir de son squelette prégnane (4 cycles A, B, C et D, 21 carbones), un très grand nombre de modifications structurales ont été engagées par les pharmaco-chimistes pour amplifier son potentiel anti-inflammatoire.

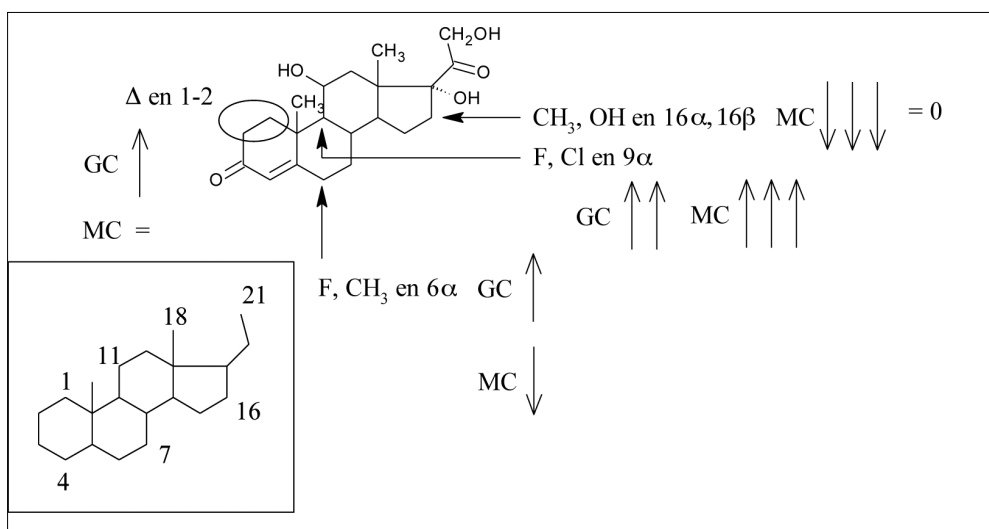


Figure 2 : Squelette prégnane C₂₁ et principales RSA établies à partir des modifications réalisées sur le cortisol

Le travail de pharmacomodulation autour du cortisol (fig. 2) a notamment consisté (i) à introduire une double liaison (Δ) entre les carbones 1 et 2 (on parle alors de delta-corticoides), (ii) à introduire en position 6, 7 ou 9 un méthyle ou un halogène (Cl, F), (iii) et à introduire en position 16 un méthyle ou un hydroxyle (triamcinolone) (fig. 3). D'autres modifications ont été réalisées comme l'ajout d'un cycle supplémentaire accolé au cycle A (cortivazol) et le remplacement de la fonction hydroxyle en position 21 par une fonction thiol (tixocortol). Ce travail titanesque a nécessité également de mettre au point de nombreuses réactions chimiques et microbiologiques pour pouvoir fixer de façon régiosélective et régiospécifique les groupements désirés (alkyle, halogènes, hydroxyle, alkoyle).

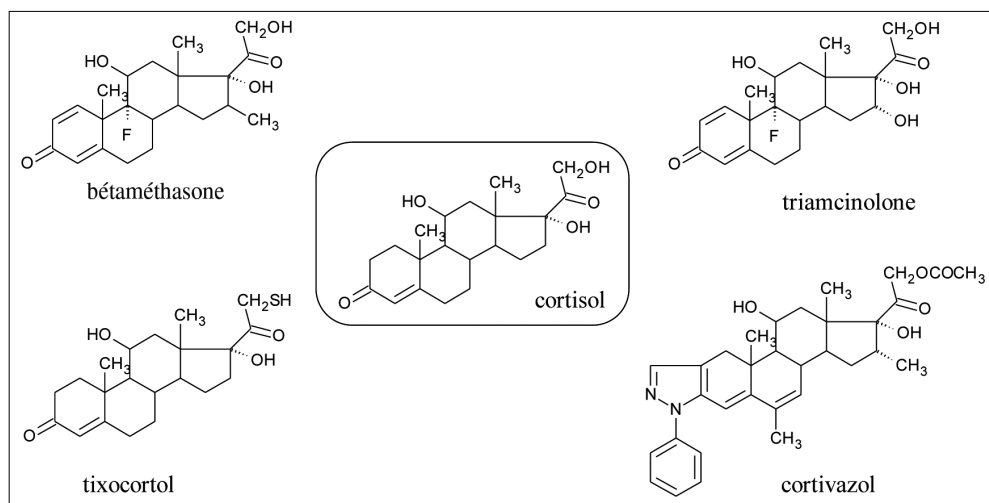


Figure 3 : Structures de quelques AIS

Cette recherche de nouvelles molécules anti-inflammatoires, qui a eu pour point de départ une hormone naturelle, a permis de générer une nouvelle classe de médi-

caments, les glucocorticoïdes, également appelés anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS). Parmi les AIS les plus utilisés, on peut citer la bétaméthasone : elle possède une activité anti-inflammatoire 25 à 30 fois supérieures à celle du cortisol, pour un effet minéralocorticoïde quasi nul. La combinaison astucieuse de groupements sur différentes positions a permis d'optimiser le cortisol, molécule pouvant être considérée comme la molécule chef de file des AIS (fig. 3).

Les AIS sont ainsi devenus au fil des décennies des médicaments de tout premier ordre pour traiter certaines maladies inflammatoires sévères (e.g. œdème cérébral, laryngite suffocante, épiglottite aiguë) mais également indiqués pour traiter d'autres pathologies (e.g. œdème de Quincke, asthme, sclérose en plaques, lupus érythémateux, transplantation d'organes) car elles possèdent également des effets antiallergique et immunodépresseur à forte dose. (Voir le rappel de la stéroïdogénèse, ci-contre).

b. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens

Avec les AIS, les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) constituent le second groupe principal des anti-inflammatoires. Parmi les AINS les plus couramment utilisés, on peut citer bien entendu l'acide acétylsalicylique, mais également l'acide niflumique, le diclofénac, l'indométacine, le nimésulide, l'ibuprofène, l'acide tiaprofénique, le naproxène, la phénylbutazone, le piroxicam et le célébrex (fig. 4).

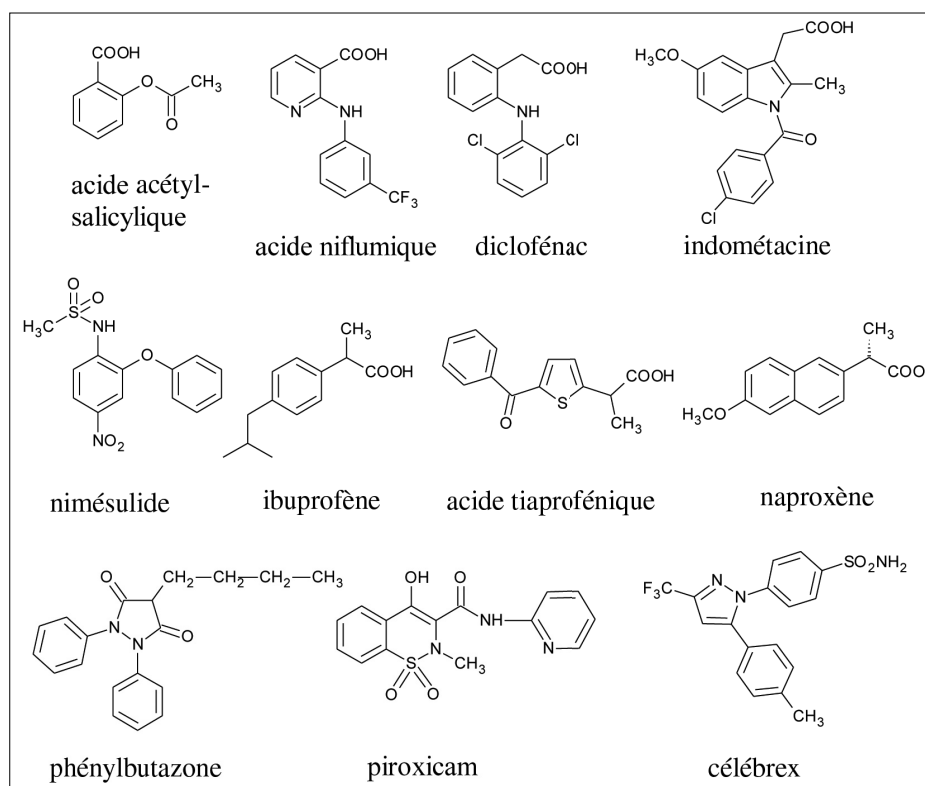
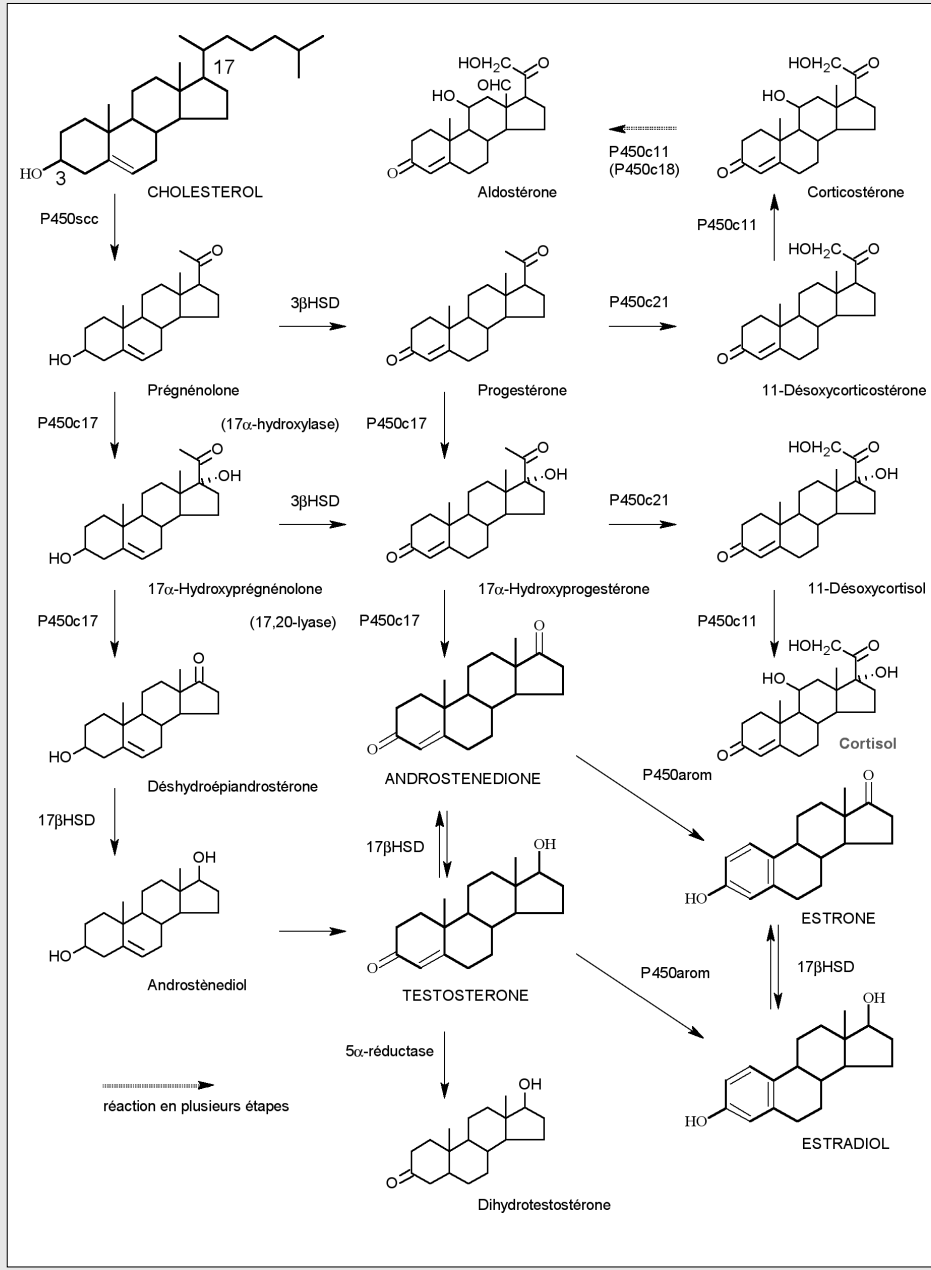


Figure 4 : Quelques structures d'AINS

Rappel : la stéroïdogénèse

La stéroïdogénèse est l'ensemble des réactions qui sont nécessaires à la synthèse des hormones stéroïdiennes à partir de la molécule de cholestérol. Parmi toutes ces hormones naturelles, les glucocorticoïdes (cortisol, cortisone) constituent celles présentant entre autre des propriétés anti-inflammatoires.



Pour simplifier les discussions entre scientifiques, diverses **classifications** sont utilisées pour ordonner cet ensemble de molécules. Il est possible de classer ces molécules bioactives en fonction (i) de leurs effets pharmacologiques (e.g. anti-ulcéreux, antifongiques, anti-inflammatoires), (ii) de leurs structures chimiques (e.g. benzimidazoles, conazoles, acides arylcarboxyliques), (iii) de leurs cibles moléculaires (e.g. H⁺/K⁺-ATPase, lanostérol 14a-déméthylase, cyclooxygénase-2).

Dans le cas présent, à savoir les molécules anti-inflammatoires non stéroïdiennes, deux classifications sont usuellement utilisées. La première est basée sur leur structure chimique. La majorité des AINS actuellement utilisés en thérapeutique possèdent soit une fonction carboxylique soit une fonction énole expliquant leurs propriétés acides. On peut ainsi les classer selon quatre séries :

- Les acides arylcarboxyliques :
 - L'acide salicylique et apparentés (acide acétylsalicylique),
 - Les dérivés anthraniliques (acide niflumique).
- Les acides (hétéro)arylalcanoïques :
 - Les acides phénylacétiques (diclofénac),
 - L'acide 3-indolylacétique et apparentés (indométacine),
 - Les acides 2-phénylpropioniques (ibuprofène),
 - L'acide 2-thiophènepropionique (acide tiaprofénique),
 - Les acides naphtylalcanoïques (naproxène).
- Les acides énoles :
 - La pyrazolidinedione (phénylbutazone),
 - Les oxicams (piroxicam).
- Les coxibs et apparentés :
 - Le N-phénylsulfonamide (nimésulide),
 - Les coxibs (célebrex).

Parallèlement, il existe une autre classification autour des AINS qui prend en compte cette fois-ci leurs cibles moléculaires. Les AINS agissent principalement au niveau de la cascade de l'acide arachidonique (cf approfondissement : la cascade de l'acide arachidonique) et plus précisément par blocage d'enzymes appelées cyclooxygénases (Cox). On peut ainsi distinguer quatre classes d'AINS selon leur sélectivité d'action :

- Les AINS inhibiteurs sélectifs de Cox-1 :
 - L'acide acétylsalicylique à faible posologie (de 75 à 325 mg/jour en une prise quotidienne).
- Les AINS « classiques » inhibiteurs de Cox-1 et de Cox-2 :
 - L'acide acétylsalicylique, l'acide niflumique,
 - Le diclofénac, l'indométacine, l'ibuprofène, l'acide tiaprofénique, le naproxène,
 - La phénylbutazone, le piroxicam.
- Les AINS inhibiteurs préférentiels de Cox-2 :
 - Le nimésulide, le méloxicam, la nabumétone.
- Les AINS inhibiteurs sélectifs de Cox-2 :
 - Le célébrex, le parécoxib, l'étoricoxib.