

CHIMIE THERAPEUTIQUE : Partie 3

Il s'agit de la dernière fiche sur la chimie thérapeutique, on a vu la 1^{ère} étape avec l'identification et la validation de la cible, maintenant on verra la 2^{ème} étape qui correspond à la découverte de la molécule active puis la dernière étape qui est l'optimisation.

Je sais que c'est un cours difficile et long à la 1^{ère} lecture mais vous allez y arriver.

Etape n° 2 : Découverte d'une molécule active

I. Molécule tête de série ou HIT

On part d'une molécule qui n'est pas optimale (manque de spécificité, toxique... vous allez tout voir dans le tableau ci-contre, il faut donc l'optimiser pour corriger tout ça..

La molécule HIT :

- La molécule de départ est appelée **tête de série** ou **Hit** car elle est la première d'une série d'autres molécules avec qui elle va partager certaines propriétés et différer par d'autres après optimisation (étape 3 de la conception du médicament)
- Cette molécule possède l'**activité pharmacologique recherchée** mais va devoir être optimisée pour être qualifiée de candidat médicament.

Cependant, elle peut avoir quelques défauts qu'il faudra corriger.

Les principales caractéristiques d'une molécule HIT à améliorer lors de l'optimisation :

Le manque de sélectivité ou de spécificité	On recherche une action sur une cible bien déterminée, si ce n'est pas le cas, cela ouvre la porte à de potentiels effets secondaires indésirables , qu'ils soient acceptables ou non
L'activité pharmacologique insuffisante	Qui ne peut pas être insuffisante à la dose thérapeutique qui doit être administrée au patient, si on augmente la dose on risque d'avoir une toxicité
L'instabilité métabolique	Cela empêchera d'atteindre sa cible dans son <u>intégrité structural</u>
L'instabilité chimique	Cela peut lui faire perdre aussi sa structure moléculaire nécessaire à son interaction avec la cible thérapeutique <i>Ex : elle peut être instable en milieu acide, comme l'estomac</i>
La Haute toxicité	Diminue l'intervalle de concentration (index thérapeutique) auquel la molécule est efficace
La faible biodisponibilité	Cela ne permettra pas à la molécule d'atteindre sa cible dans les meilleures conditions (ADME)
La solubilité insatisfaisante	On aura un impact sur le choix de la voie d'administration , elle peut influencer la biodisponibilité (hydrophilie / hydrophobie)
Le manque d'originalité	Du point de vue de sa structure chimique, et ou de ses propriétés thérapeutiques aura un impact sur la protection et la valorisation du candidat médicament par un brevet

II. Les différentes sources de découverte

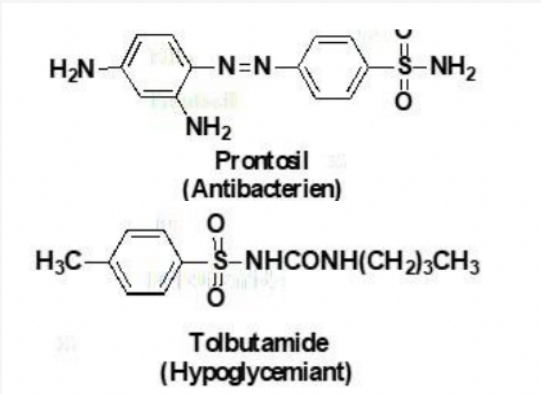
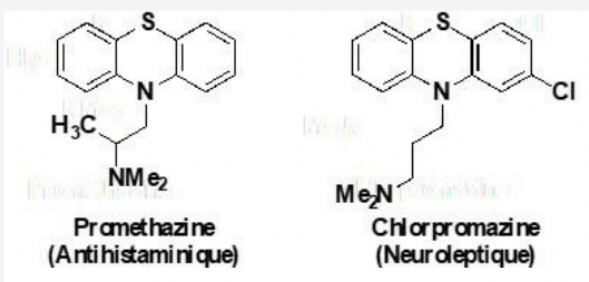
Le Hasard	« Dans les champs de l'expérience, la hasard ne favorise que les esprits préparés » L. Pasteur
	Les résultats inattendus, œuvre du hasard, peuvent contribuer de manière favorable à une belle découverte s'ils ne sont <u>pas négligés</u> .
	Ex : la découverte de la <u>pénicilline</u> par Fleming

1. Le Criblage (ou screening)		
Définition	<p>On part d'un grand nombre de substances chimiques de milieux différents (<i>industrie des peintures, des colorants...</i>) dont on ne connaît aucune de leurs propriétés, et on les teste pour voir s'il n'y en a pas une qui aurait une activité intéressante sur la cible</p> <p>⇒ Cela permet d'effectuer un tri parmi ces molécules en fonction de l'intérêt thérapeutique qu'elles apportent.</p> <p>(Pour résumer on les place un peu dans des cases en fonction de leur similitude (ici l'intérêt thérapeutique))</p>	
Criblage haut débit	<p>Aujourd'hui ces molécules de criblage sont <u>automatisées</u> : on parle de <u>criblage à haut débit</u> ou « <i>High Throughput Screening</i> » (HTS)</p> <p>Ces criblages peuvent ainsi être réalisés sur de grandes bibliothèques de molécules (chimiothèques) afin d'évaluer l'activité pharmacologique d'un grand nombre de molécules sur une ou plusieurs cibles et d'obtenir le maximum d'informations pour sélectionner la molécule Hit.</p>	
Criblage de substances d'origine naturelle	<u>Monde végétal</u>	<p><u>Ex (déjà vu)</u> : Le Taxol (paclitaxel) est un extrait de l'écorce d'If du Pacifique, ayant des propriétés antitumorales</p> <p>On a pu ensuite exploiter cette molécule par hémisynthèse</p>
	<u>Monde microbiologique</u>	<p><u>Ex</u> : La pénicilline à partir du <i>pénicillium notatum</i></p>
	<u>Monde marin</u>	Les organismes produisent des substances pour se défendre pouvant être intéressantes
	<u>Règne animal</u>	Notamment à partir de toxines
	<ul style="list-style-type: none"> • Avantages : structure très originale, très complète, très complexe ++ • Inconvénients : difficulté de synthèse ou d'extraction (onéreuse - laborieuse - faible rendement, car quantités de PA très faible) 	

Criblage virtuel «insillico»	<p>Il permet de voir les interactions que pourraient avoir certaines molécules avec la cible, d'orienter le criblage.</p> <p>On utilise des modèles moléculaires de cibles générés par un logiciel sur lequel sont étudiées les interactions avec des composés issus de banques de données de molécules virtuelles ou existantes.</p> <p><i>Ex : concernant la structure du récepteur Béta adrénergique, on observe l'interaction du ligand endogène avec diverses chaînes latérales des domaines transmembranaires de ce récepteur.</i></p>
Criblage de substances synthétiques	<p>Ces molécules sont souvent trouvées dans des chimiothèques et peuvent provenir d'autres domaines que la pharmacologie.</p> <p><i>Ex : intermédiaire de synthèse, ce qui donne accès au produit chimique final.</i></p> <p>Ils ne sont donc pas forcément intéressants dans le premier domaine dans lequel on les a trouvés, mais l'objectif est d'évaluer pharmacologiquement le plus grand nombre de molécules.</p>
Les objectifs	<ul style="list-style-type: none"> • Produire un maximum de molécules dans un minimum de temps • Trouver des structures très différentes • Identifier une molécule qui a un intérêt thérapeutique

Dans nos différentes sources de découvertes, on retrouve également :

2. A partir de médicaments déjà existants	
<u>Les médicaments «Me Too»</u>	
Définition	<p>Une molécule ayant été mise sur le marché, servira de composé pilote. Elle est protégée par le brevet, les industriels ne peuvent pas copier la molécule mais peuvent utiliser toutes les recherches qui ont été faites dessus pour créer une molécule analogue au composé pilote dont on connaît toutes les propriétés chimiques et pharmacologiques.</p> <p>Cela représente actuellement plus de la moitié des médicaments sur le marché.</p>
Certaines conditions sont à noter	<ul style="list-style-type: none"> • L'activité pharmacologique doit être maintenue • Elle doit être améliorée afin de justifier le caractère innovant de cette nouvelle molécule (<i>minoration d'effets indésirables, meilleure biodisponibilité, baisse de la toxicité...</i>)
Exemples : <u>Le Captopril</u>	<p>Médicament anti-hypertenseur = <i>contre l'hypertension</i></p> <p>Qui, au départ, avait le monopole des antihypertenseurs. Mais d'autres industriels ont repris cette molécule, et l'ont modifiée ce qui leur a permis de breveter leur nouvelle molécule antihypertensive inspirée du Captopril.</p>
Les avantages du « Me Too »	<ul style="list-style-type: none"> • Cela permet d'échapper à la restriction des brevets • Permet d'économiser beaucoup d'argent et de temps en recherche et en développement
Amplification d'effet secondaire	<p>C'est l'exploitation de l'effet indésirable dans un autre contexte.</p> <p>On supprime l'effet biologique principale passant sur un plan secondaire</p>

<u>Le Prontosil</u>	<u>La Prométhazine</u>
<p>Anti-bactérien dû à une fonction sulfamide</p> <p>On s'aperçoit que la molécule a un effet indésirable hypoglycémiant</p> <p><i>Si on change le contexte d'utilisation de la molécule, l'effet indésirable devient intéressant à utiliser chez undiabétique</i></p> <p>Le Tolbutamide, c'est un sulfamide hypoglycémiant qui est un <u>dérivé du Prontosil</u>. Utilisé en tant qu'agent anti-diabétique de première génération et a permis le traitement du diabète de type II, non insulino-indépendant</p>	<p>Antihistaminique H₁, utilisé contre les allergies</p> <p>Comme effet indésirable on retrouve : un effet sédatif.</p> <p>Cette molécule, passant la barrière hémato-encéphalographique, et agit sur le système nerveux central.</p> <p>Développement alors de la <u>chlorpromazine</u> (neuroleptique) à partir de la prométhazine amplifiant l'effet sédatif et diminuant l'effet antihistaminique.</p>
 <p>Prontosil (Antibactérien)</p> <p>Tolbutamide (Hypoglycémiant)</p>	 <p>Prométhazine (Antihistaminique)</p> <p>Chlorpromazine (Neuroleptique)</p>

3. A partir de connaissances médicales anciennes	
Définition	<p>Les études des pratiques médicales et l'ethnopharmacologie permettent l'accès à la connaissance à l'ensemble des matières d'origine végétale, animal, et minérale utilisées à des fins thérapeutique, préventive, curative ou diagnostique.</p> <p>Parmi elles, les usages empiriques des plantes ont apporté une grande partie des médicaments quotidiens inscrit dans nos pharmacopées.</p> <p>Ces études permettent de créer <u>un lien direct entre les connaissances thérapeutiques traditionnels et l'évaluation pharmacologique</u>, ou on vérifie l'effet chez l'animal ou en culture cellulaire.</p> <p>Ensuite, on cherche à connaître la composition chimique de la plante donnant l'effet attendu.</p>
Exemple de l'étude des archives de Médecine Chinoise (déjà vu)	<p>Dans les archives, 200 substances naturelles étaient déjà utilisées pour traiter la malaria (paludisme).</p> <p>Dans les années 2000, il eut une recrudescence de malaria due au développement d'une résistance aux anti-paludiques du parasite.</p> <p>Il y a donc eu la mise au point d'un programme de recherche : la découverte de l'Artémisinine qui est extraite de l'artémisia (déjà vu) permet de traiter la Plasmodium falciparum résistant.</p>

4. A partir du ligand ou du modulateur naturel de la cible	
Objectif	<ul style="list-style-type: none"> Utiliser les connaissances qu'on a du ligand pour développer un médicament, on va prendre le ligand endogène, et le modifier La structure de base du ligand est conservée et optimisée
! Attention !	<p>L'utilisation directe du ligand naturel est impossible car les effets secondaires seraient beaucoup trop importants.</p> <p><i>Exemple : L'adrénaline ; dans l'organisme elle est biosynthétisée à l'endroit où elle en a besoin pour n'atteindre qu'un type de récepteur contrairement au médicament qui en atteindra plusieurs.</i></p>
Fabrication d'agoniste	<p>Structure chimique différente du ligand mais qui va donner la même réponse pharmacologique sur la cible.</p> <p><i>Exemple : Dobutamine et Salbutamol = agoniste de l'adrénaline et de la noradrénaline</i></p>
Fabrication d'antagoniste	<p>Composé qui bloque l'activité du ligand naturel.</p> <p><i>Exemple : Pronethalol = antagoniste de l'adrénaline et la noradrénaline.</i></p>

Big récap :

Les différentes sources de découverte des molécules :

- Le hasard ;
- Le criblage (screening) :
 - Criblage haut débit ;
 - Criblage de substances d'origine naturelle ;
 - Criblage virtuel ou « in silico » ;
 - Criblage de substances synthétiques ;
- A partir de médicaments existants ;
- A partir de connaissances médicales anciennes ;
- A partir du ligand ou du modulateur naturel de la cible.

La Conception assistée par un ordinateur

Définition	<p>Cela permet la création de <u>modèles moléculaires</u> de cibles et de ligands pour faire une étude théorique de la <u>nature</u> et la <u>forme</u> du site de fixation afin de sélectionner un ligand après un <u>criblage virtuel</u>.</p> <p>Cette étude théorique sera ensuite <u>vérifiée</u> expérimentalement.</p> <p>Un logiciel va transformer les <u>données cristallographiques</u> obtenues par <u>diffraction des rayons X</u> en image 3D, puis il faudra analyser comment peuvent se faire les <u>interactions</u> avec la petite molécule.</p>
Le Docking	<p><u>Simulation virtuelle d'une interaction entre une cible et son ligand.</u></p> <ul style="list-style-type: none"> On étudie l'orientation des interactions, la force des liaisons etc. <p>Attention : cela nécessite de connaître les données tridimensionnelles de la cible, la structure de la protéine doit être connue.</p>
Le Docking sur une protéine analogue	<p>Donc, <u>si la structure tridimensionnelle de la cible n'est pas connue</u>, pas disponible.</p> <p>La protéine analogue c'est une homologie d'une partie de séquences d'acides aminés mais pas pour toute la protéine.</p> <p>⇒ Besoin d'une analogie (homologue de séquences d'AA) >90%</p> <p>⇒ Ensuite, le logiciel ré-optimisera la structure avec les bons acides aminés afin d'obtenir un modèle représentatif de la cible étudiée.</p>
Le Matching	<p>Le cas où la <u>structure de la cible ou d'une protéine analogue sont inconnues</u>.</p> <p>On va superposer les structures des molécules qui ont un effet pharmacologique identique sur la cible, et en comparant leurs structures on pourra savoir ce qu'elles ont en commun.</p> <p>La structure commune entre ces molécules est ce qui interagit avec la cible.</p>

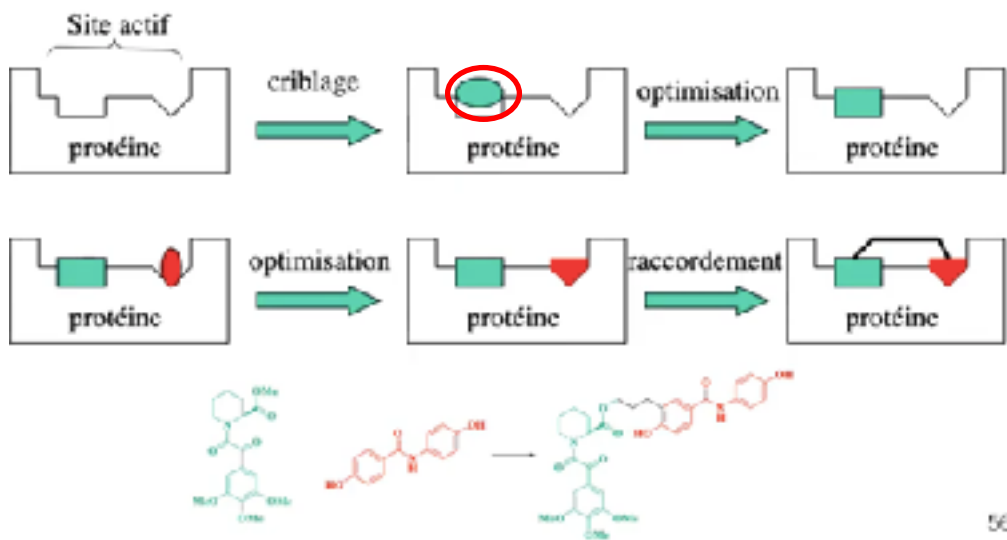
Si la structure 3D de la protéine est connue :

- Création d'un cristal	: cristallographie
- Analyse par diffraction des rayons X pour obtenir les coordonnées de chaque atome	: cristallographie
- Modélisation moléculaire de la forme et de la nature du site de fixation	
- Etude Docking	: simulation du ligand dans le site actif


Structure tridimensionnelle est connue	Structure tridimensionnelle n'est pas connue MAIS on a une protéine avec une analogie >90%	Le cas où la structure de la cible ou d'une protéine analogue est inconnue
DOCKING	DOCKING sur une PROTÉINE ANALOGUE	MATCHING



Après la conception assistée par un ordinateur, on retrouve :

La Conception par RMN	
Définition	<p>Méthode d'analyse de la structure chimique des molécules par spectroscopie.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Très <u>répandue</u> et <u>facile</u> à mettre en œuvre et à lire, si c'est une <u>petite molécule</u>. • Il est, cependant, <u>plus difficile d'analyser les spectres de grosses molécules</u>.
Méthode	<ul style="list-style-type: none"> – Au départ on fera un radio-marquage au ^{15}N de la liaison peptique étudiée. – On fait, ensuite, un spectre 2D : on étudie la résonance magnétique de l'azote et la résonance magnétique de l'hydrogène, puis on croise les deux spectres. – Si cette cible est mise en présence d'un ligand, les spectres RMN seront modifiés, et il sera donc possible d'identifier la zone d'interaction ligand-cible, c'est à dire le site-actif. – On va regarder comment les différents pics des deux spectres interagissent les uns aux autres.
Exemple	 <p>Le site actif a été identifié au préalable grâce à l'analyse spectroscopique RMN 2D de la protéine.</p> <p>Par criblage, un petit fragment moléculaire (= épitope) est mis en présence de la protéine afin d'analyser la zone spectrale qui a été modifiée par son interaction avec la cible et donc d'identifier les AA qui interagissent avec lui ou qui sont dans son environnement proche.</p> <p>Il est possible d'optimiser la structure du fragment moléculaire en fonction des données spectroscopiques précédentes afin d'améliorer ses interactions avec la cible.</p> <p>Ensuite, un nouveau criblage est effectué, l'épitope est optimisé en fonction des données spectroscopiques obtenues et ainsi de suite jusqu'à ce que l'ensemble du site actif de la cible ait été analysé.</p> <p>❖ Remarque sur les épitopes : ils n'interagissent qu'avec une toute petite partie du site actif et ne peuvent donc pas avoir d'activité pharmacologique par eux seuls.</p> <p>Les fragments moléculaires identifiés (les molécules rectangulaires et triangulaires) sont alors raccordés chimiquement de telle manière que leurs interactions avec la cible ne soient pas modifiées. L'activité pharmacologique de la molécule obtenue est alors évaluée expérimentalement.</p>

III. L'isolement et la purification d'une molécule tête de série :

Par technique de chromatographie	
Définition	C'est une étape <u>indispensable</u> lorsque la molécule est présente dans un <u>mélange</u> de divers composés provenant d'une source naturelle ou d'une synthèse combinatoire.
En quoi cela dépend ?	<p>Donc, la facilité d'isolement et de purification dépend :</p> <ul style="list-style-type: none"> • de la structure ++ • de la stabilité ++ • de la qualité du composé ++ • Technique de choix utilisée est la chromatographie ++ 

Allez maintenant on va parler de la structure d'un composé, plus précisément **: CA TOMBE TRES SOUVENT +++**

L'établissement de la structure d'un composé	
Différentes techniques analytiques :	Tout comme il faut identifier et valider la cible, il faut également caractériser structurellement la molécule tête de série.
La cristallographie par (diffraction) à rayons X	<ul style="list-style-type: none"> • Posséder la molécule sous forme crystalline • La posséder en grande quantité • Technique très performante, et très précise, aussi rare
La spectroscopie par RMN	<ul style="list-style-type: none"> • Besoin de quantités faibles de produits, donc il est plus facile à mettre en œuvre • Possibilité de travailler sur tous types d'échantillons (<i>solide, liquide, huile</i>)
Spectrométrie de masse	<ul style="list-style-type: none"> • Utilisée lorsque les quantités sont très faibles • Analyse par fragmentation (<i>en gros, cette molécule sera découpée en petits morceaux, on aura une analyse moléculaire pour remonter à sa structure</i>) • On aura une séparation par chromatographie en phase gazeuses des fragments chargés obtenus en fonction de leur rapport masse / charge
Synthèse totale	<ul style="list-style-type: none"> • Ici c'est plutôt une comparaison de propriétés physico-chimique avec la molécule originale • <i>Si une seule de leur propriété physico-chimique est différente, alors les molécules ont une structure chimique différente</i> • <i>Sinon, toutes ces caractéristiques communes permettent de valider la structure préalablement identifiée</i>

Étape n° 3 : Optimisation de la molécule active

I. Modifications chimiques de la molécule active « Hit to lead » /=/ Objectifs

Augmenter l'activité pharmacologique sur la cible = Affinité
Augmenter la sélectivité et/ou la spécificité
—> Diminuer les interactions avec d'autres cibles de l'organisme
Diminuer la toxicité et les effets secondaires indésirables
Améliorer la biodisponibilité
—> Améliorer les propriétés pharmacocinétique (ADME)
Améliorer la solubilité (hydrophilie/hydrophobie)

A. La méthodologie :

« Hit to Lead »

1. **Simplification et synthèse des dérivés proches** de la molécule active naturelle ou synthétique (HIT).
On enlève ou on remplace tous les fragments moléculaires inintéressants, tout en conservant ceux responsables des propriétés
2. **Évaluation de l'activité pharmacologique** ou des **propriétés pharmacocinétique**
Cette évaluation se fait à chaque fois qu'une modification de la molécule est réalisée, aussi petite soit-elle et elle permet de quantifier leur impact
3. **Étude des relations structure-activité (RSA)**
Cette étude relie l'activité ou les propriétés pharmacocinétique à la structure de la molécule

B. Les objectifs

Les pharmacophores sont des fonctions chimiques de la molécules responsables :

- de l'**activité pharmacologique**
- des **propriétés pharmacocinétique**

Remarque : certains pharmacophores sont spécifiques de l'activité pharmacologique, d'autres spécifiques de l'activité pharmacocinétique, et d'autres qui sont les deux à la fois.
Ils doivent être alors définis séparément

On parle aussi du pharmacophore pour désigner l'ensemble des groupements fonctionnels contribuant à l'optimisation de ses propriétés.

C. Les conditions :

<u>Au niveau de l'organisme entier</u>	<u>Au niveau d'un organe</u>	<u>Au niveau de la cible (in vitro)</u>
<ul style="list-style-type: none">• très significatifs du point de vue pharmacocinétique• peu d'informations sur l'activité intrinsèque/pharmacologique	<ul style="list-style-type: none">• plus spécifique d'un point de vue pharmacologique• abstraction de l'accès de la molécule à ce niveau	<ul style="list-style-type: none">• très significatif pour l'activité intrinsèque/pharmacologique• peu d'informations sur l'activité pharmacocinétique

D. Les outils :

On va établir les Relations Structures-Activités (RSA). Pour cela on va définir les pharmacophores :

- A partir de la structure 3D de la cible, si elle est connue
- En comparant des molécules criblées (par Matching, comme vu précédemment)

II. Définitions des groupements pharmacophoriques vis-à-vis de l'activité intrinsèque

++On s'intéresse à ++	<ul style="list-style-type: none"> • Nature des fonctions chimiques • Chaînes et/ou cycles • Géométrie / position (configuration R ou S) • Répartition électronique
Les caractéristiques	<ul style="list-style-type: none"> – Tous ces caractères sont liés par liaisons faibles à la cible – Toutes modifications des pharmacophores modifient l'activité pharmacologique – Toutes modifications externes modulent l'activité
Cas particulier	<p>Il peut y avoir plusieurs groupements pharmacophoriques sur la même molécule.</p> <ul style="list-style-type: none"> – Il est donc nécessaire de les hiérarchiser – En effet, un pharmacophore peut avoir un impact plus ou moins prépondérant par rapport aux autres présents sur la molécule ce qui affecte les propriétés globales de celle-ci. <p>Un groupe pharmacophorique peut avoir des effets différents sur un même type de récepteur mais appartenant à des systèmes physiologiques différents.</p> <p><i>Exemple : la <u>Clonidine</u> est un agoniste des récepteurs α-adrénergiques : propriétés hypotensives au niveau du SNC / hypertensives en périphérie</i></p>

III. Définitions des groupements pharmacophoriques vis-à-vis des propriétés pharmacocinétiques

On s'intéresse :	<ul style="list-style-type: none"> – L'aptitude de la molécule à atteindre sa cible – L'aptitude à traverser les membranes cellulaires – Propriétés pharmacocinétique ADME : <ul style="list-style-type: none"> • Absorber • Distribuer • Métaboliser • Éliminer
Les propriétés chimiques étudiées :	<ul style="list-style-type: none"> • La balance hydrophilie / hydrophobie • L'acido-basicité <p><u>Ces caractères sont définis pour la globalité de la molécule.</u></p> <p><i>Exemple : les groupements CF_3 -F -Cl -CH₃, qui ont un caractère hydrophobe vont augmenter globalement l'hydrophobicité d'une molécule</i></p> <p><i>Alors que les groupements OH -CO₂ augmentent l'hydrophilie de la molécule</i></p>

IV. Les modulations chimiques

La méthodologie	<ul style="list-style-type: none"> • Synthèse de dérivés proches de la molécule active naturelle ou synthétique • Évaluation de l'activité pharmacologique et/ou de la toxicité chaque fois qu'on modifie la molécule • Étude des R.S.A
La modulation chimique	<ul style="list-style-type: none"> – Doit être limité pour conserver l'essentiel de la structure moléculaire d'origine – La simplification de la molécule active (suppression de certaines fonctions chimiques inutiles, toxiques, un-e ex...) – Association à des éléments divers (ajout de fragment, fonction chimique..)
Exemple de pharmacomodulation	<p><i>La morphine</i></p> <p>C'est une molécule d'origine naturelle très complexe.</p> <p>Synthèse de la <u>Buprenorphine</u> : très faible risque de toxicomanie</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Association de différents groupements fonctionnels au pharmacophore qui <u>rigidifient la structure</u>, et <u>augmentent son encombrement stérique</u> ▪ Permet une liaison lentement réversible aux récepteurs μ qui minimise les besoins des toxicomanes en stupéfiants <p>Activité dans le traitement de substitution aux opioïdes. La molécule reste efficace pour l'aspect analgésique, et on réduit la problématique de dépendance.</p>

La recherche et le développement des médicaments consistent à tester :

L'affinité avec la cible

La sélectivité

La biodisponibilité

La toxicité du produit et ses métabolites

Mettre au point la synthèse industrielle

Temps de développement : **10-15 ans**

Dédis à Arina, votre incroyable tutrice d'Anat G !

Dédis à Aurélie, votre super tutrice de Maïeutique !

Dédis à mon co-tut Félix !

Dédis à la BUV de P1 qui me manque

Dédis à cette superbe fiche qui vous fera aimer ce cours (je l'espère en tout cas)

Dédis à vous, **ne lâchez rien**, vous êtes des warriors, n'oubliez jamais **votre** objectif !

