

La chimie thérapeutique : KESAKO ?

La chimie thérapeutique (ou pharmacochimie) est une discipline qui étudie la conception et la synthèse de molécules à visées thérapeutiques. C'est un domaine pluridisciplinaire qui nécessite des connaissances en ;

Chimie organique	mettre en œuvre leurs synthèses
Pharmacologie	Etude de leurs propriétés thérapeutiques
Biochimie	Comprendre leur mode d'action chez les organismes vivants
Physicochimie	Caractériser les molécules et leur comportement vis-à-vis du vivant
Modélisation moléculaire	Simuler le comportement des molécules
Biophysique	Etudier les systèmes biologiques par des méthodes physiques
Biologie moléculaire	Comprendre les mécanismes de fonctionnement de la cellule au niveau moléculaire également

PLAN

1. Etape 1 : identification et validation de la cible

- A. Objectif de l'étude
- B. les enzymes
- C. Les récepteurs
- D. Les ligands
- E. La forme de la cible biologique
- F. Les différents types d'interactions ligand-cible protéique

2. Etape 2 : découverte d'une molécule active

- A. Tête de série
- B. Les sources de cette découverte
- C. Isolement et purification d'une molécule tête de série
- D. Établissement de la structure d'un composé

3. Etape 3 : optimisation

- A. Modifications chimiques de la molécule active
- B. Méthodologie
- C. Objectifs
- D. Conditions
- E. Outils
- F. Pharmacophores
- G. Modulation chimique

Commençons par quelques définitions

La maladie

Altération de l'équilibre biologique interne d'un être vivant. Un médicament va donc permettre de rétablir cet équilibre en agissant soit sur des facteurs génétiques soit sur des facteurs externes à l'organisme impliqués dans cette altération.



Le médicament

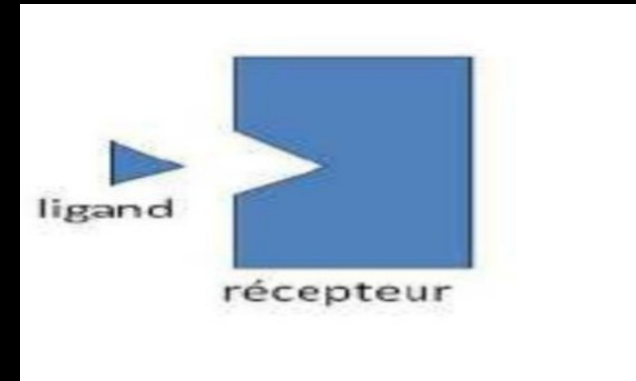
Toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales ainsi que tout produit pouvant être administré à l'homme ou à l'animal, en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions organiques.

ETAPE 1 : IDENTIFICATION ET VALIDATION D'UNE CIBLE

Une cible thérapeutique peut être une structure cellulaire ou moléculaire impliquée dans la pathologie sur laquelle le médicament agit.

Pour l'identification et la validation il faut :

- ➡ Quantification et modulation de l'activité de la cible
- ➡ Que la cible ait la capacité de se lier à une petite molécule
- ➡ Que la petite molécule ait la capacité de se moduler l'activité de la cible
- ➡ Clonage et expression de la cible

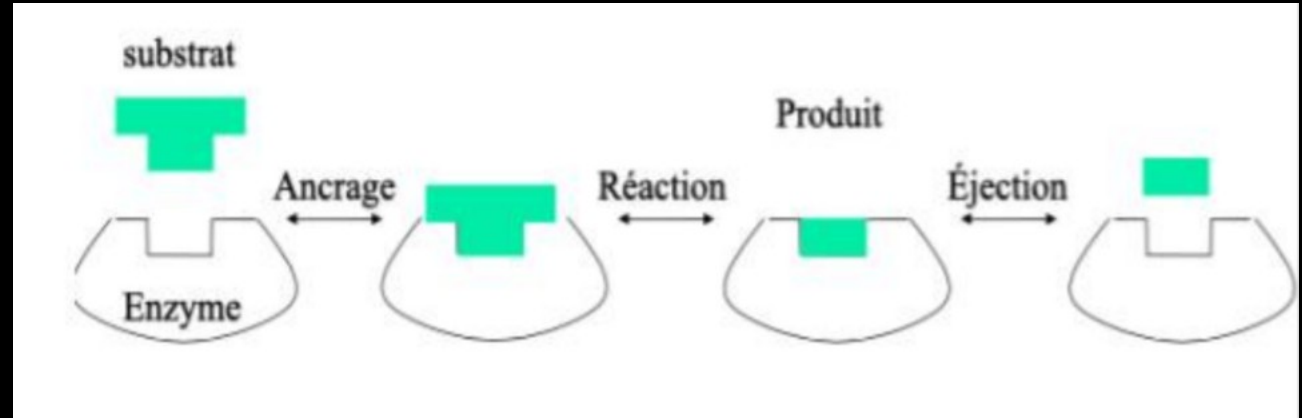


ETAPE 1 : IDENTIFICATION ET VALIDATION D'UNE CIBLE

A. Objectif de l'étude :

Créer des interactions + sélectives entre la molécule et sa cible pour avoir ;

- augmentation de l'activité pharmacologique
- Baisse des effets secondaires indésirables



B. Les enzymes

Ce sont des catalyseurs de la vie.
En leur absence les réactions chimiques qui se produisent au sein de l'organisme seraient trop lentes pour être exploitable. Elles ;

- Augmentent la vitesse de réaction
- se trouvent intact à la fin de la réaction
- Obligent les réactifs à se positionner correctement pour atteindre des configurations exigées
- affaiblit les liaisons à rompre

ETAPE 1 : IDENTIFICATION ET VALIDATION D'UNE CIBLE

C. Les récepteurs :

Ce sont des macromolécules protéiques localisées dans une petite région de la cellule. Ils interagissent avec la partie chimique du médicament (ligand) responsable de l'activité pharmacologique. Ils permettent aux différents systèmes de l'organisme de communiquer entre eux. L'interaction ligand-cible se fait en trois étapes ;

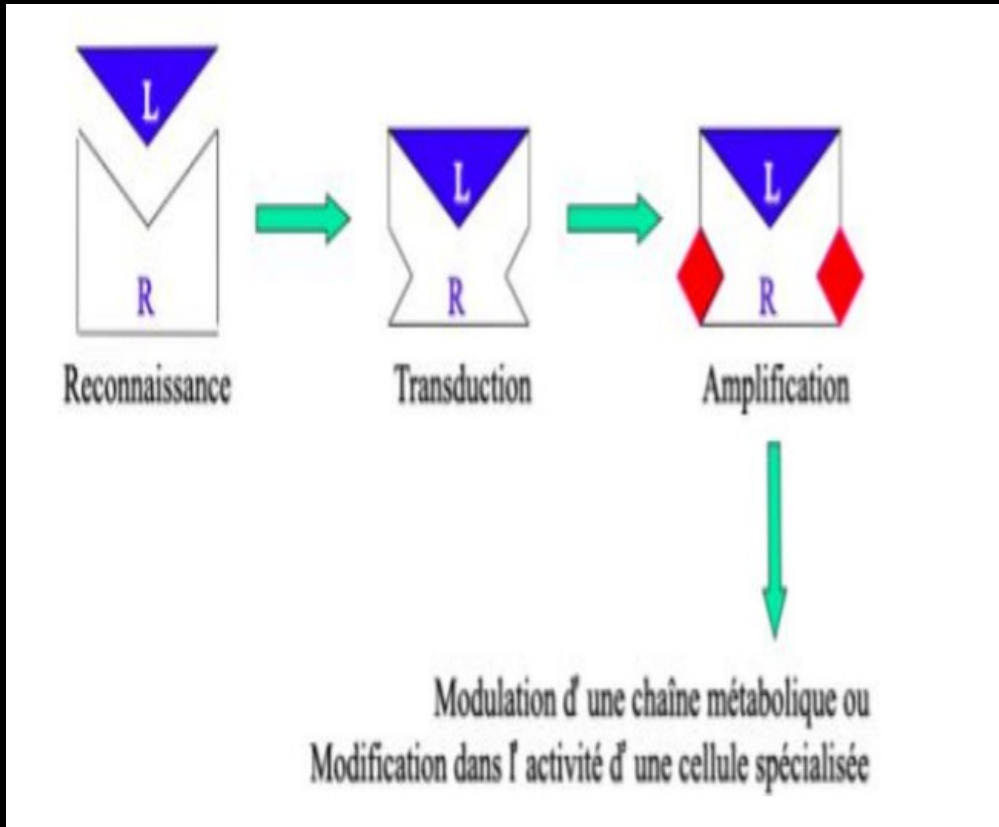


Quelles sont les caractéristiques d'un récepteur ?

- Ils peuvent être membranaire (zones hydrophobes) ou endoplasmique (zones hydrophiles)
- Leur structure spatiale dépend de l'environnement cellulaire
- L'isolement d'un récepteur est difficile
- Leur caractérisation repose sur une étude in vivo, ex vivo, in vitro avec des substances endogènes ou exogènes radio marquées

ETAPE 1 : IDENTIFICATION ET VALIDATION D'UNE CIBLE

D. Les ligands



Ces caractéristiques sont à retenir ;

- L'affinité c'est l'aptitude du ligand à se fixer à la cible. Elle dépend des propriétés géométriques et électroniques du ligand
- L'activité intrinsèque dépend des propriétés physico-chimiques. C'est l'activité pharmacologique au niveau de la cible.
- L'activité thérapeutique est la résultante de toutes les interactions avec les différentes cibles de l'organisme.

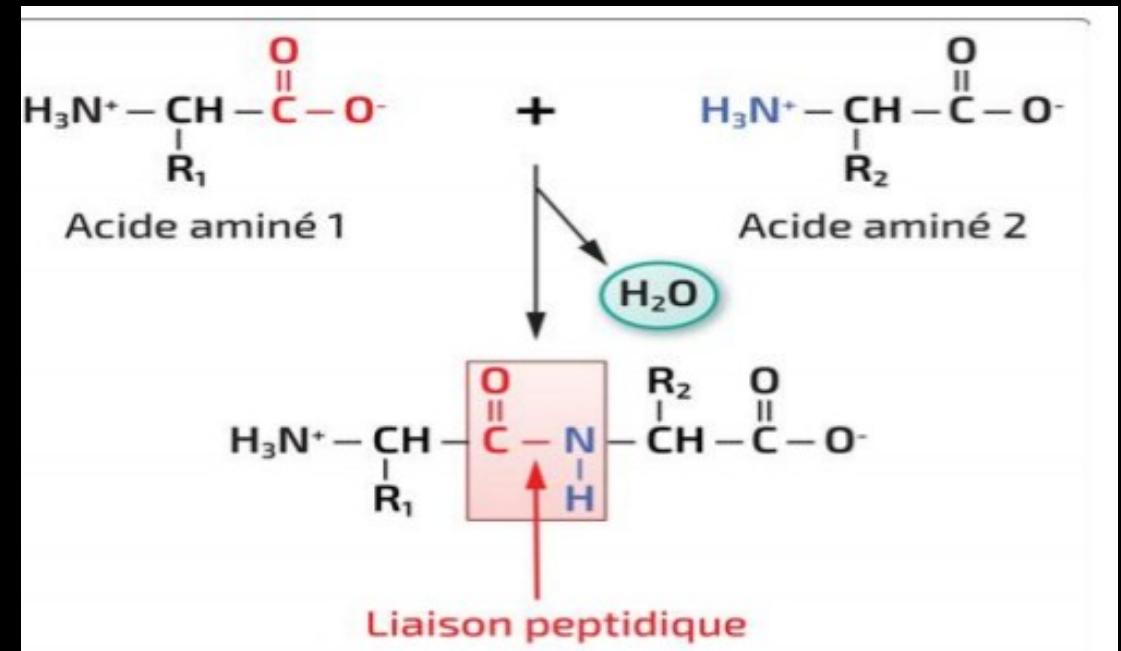
ETAPE 1 : IDENTIFICATION ET VALIDATION D'UNE CIBLE

E. la forme des cibles biologiques

Les cibles biologiques sont des édifices polyatomiques complexes qui prennent leur forme grâce à des liaisons de deux types : les liaisons covalentes interatomiques et les liaisons faibles.

La liaisons covalente = peptidique = fonction amiDe

Permet l'enchaînement des AA.
Ces liaisons permettent de former la structure primaire de la cible biologique (ou protéine). La structure primaire est donc un enchaînement d'AA.



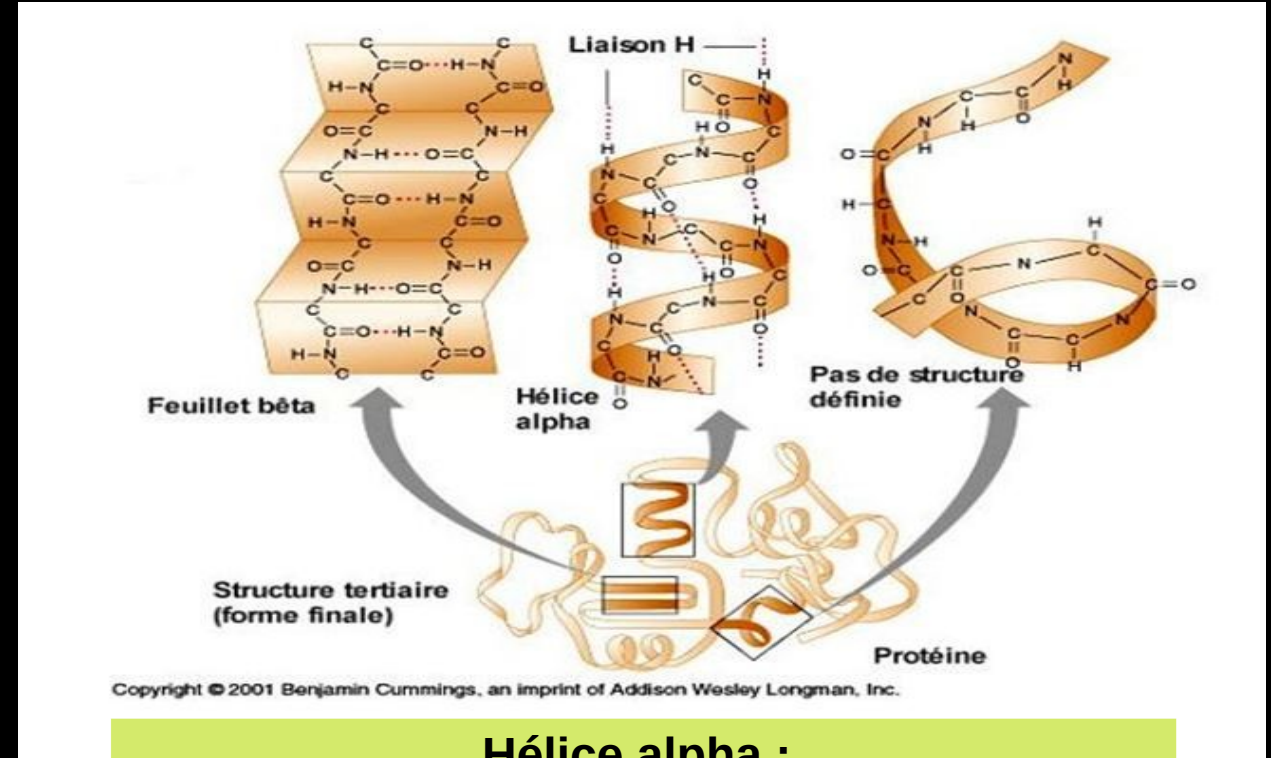
ETAPE 1 : IDENTIFICATION ET VALIDATION D'UNE CIBLE

Liaisons faibles

Elles permettent aux protéines d'acquérir leur structure secondaire, ce sont des liaisons hydrogènes entre les fonctions peptidiques

Feuillet bêta :

- Superposition de 2 chaînes protéiques antiparallèles
- les chaînes latérales sont perpendiculaires au plan du feuillet
- Les 2 fonctions peptidiques sont complémentaires



Hélice alpha :

- liaisons H orientées selon l'axe de l'hélice
- les chaînes latérales pointent en dehors
- CO est accepteur de liaisons H alors que NH est donneuse de liaison H

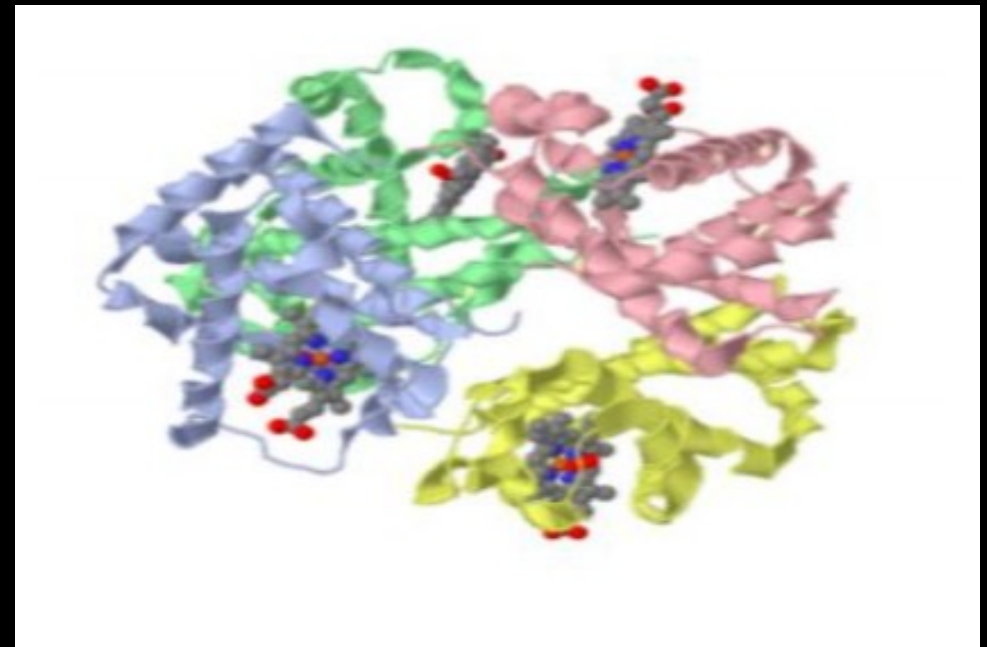
ETAPE 1 : IDENTIFICATION ET VALIDATION D'UNE CIBLE

La structure tertiaire :

Elle résulte de l'interaction par liaisons hydrogènes entre les chaînes latérales des acides aminés en différents points de la structure secondaire. Cette structure tertiaire est la structure finale de la protéine, avec laquelle le ligand va entrer en interaction. Il faut donc connaître cette structure tertiaire pour agir le plus efficacement possible sur la cible

La structure quaternaire :

Les liaisons faibles électrostatiques permettent également l'association de deux ou plusieurs structures tertiaires pour former la structure quaternaire de la cible protéique.



ETAPE 1 : IDENTIFICATION ET VALIDATION D'UNE CIBLE

F. les différents types d'interactions ligand-cible protéique

Elles dépendent de ;

- Liaisons faibles entre les deux
- La nature des fonctions chimiques
- Leur conformation spatiale
- Complémentarité des deux partenaires

Il existe différents types de liaisons faibles électrostatiques :

- ioniques
- hydrogènes
- dipolaires
- Van Der Waals
- hydrophobe

Liaisons faibles : les liaisons ioniques

Elles se forment entre les groupements ionisables du ligand et de la cible. Ces fonctions chimiques ont un pKa et les liaisons dépendent donc du pH du milieu.

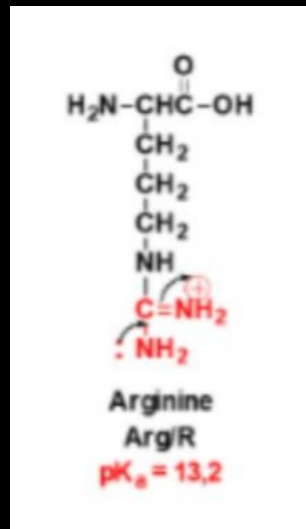
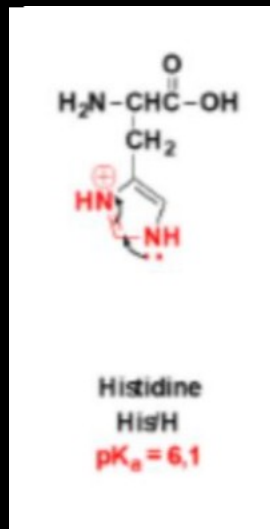
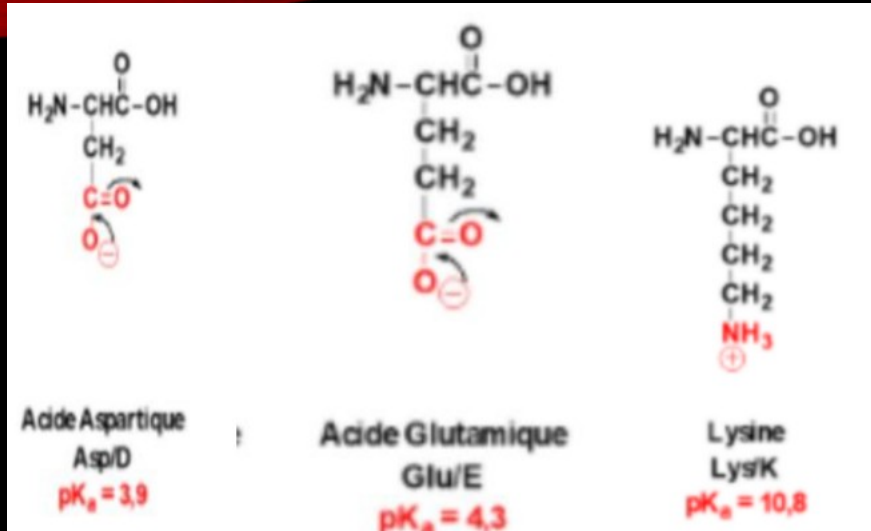
Les groupements ionisables de la cible sont les fonctions chimiques des chaînes latérales des AA.

Les fonctions chimiques ionisables sont :

DEKRH

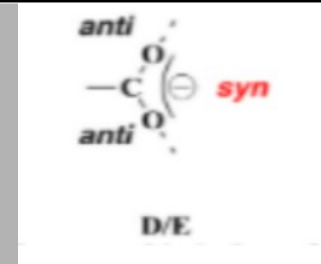
A chaque fois qu'une interaction ionique se produira entre un ligand et sa cible l'énergie mis en jeu sera comprise entre **100 et 200 Kcal/mol.**

LIAISONS FAIBLES : LES LIAISONS IONIQUES



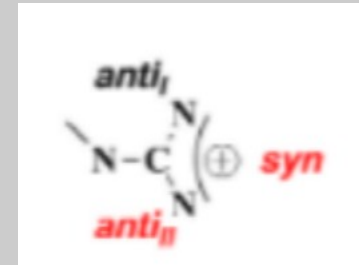
Fonction carboxylate
Acide aspartique et glutamique
 $\text{pK}_a(\text{D}) = 3,9$
 $\text{pK}_a(\text{E}) = 4,3$

Charge négative côté syn donc un ligand positif attaque surtout en **syn**



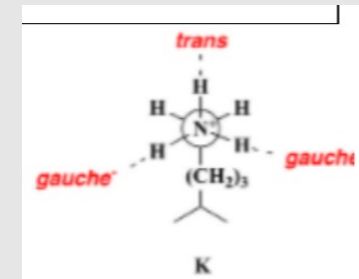
Arginine R
Fonction amine
 $\text{pK}_a = 13,2$

Dissymétrie à cause du N en anti. **Anti 2 et syn** plus probables car plus accessibles que anti 1



Lysine K
Fonction amine
 $\text{pK}_a = 10,8$

Les trois directions : trans /gauche+ / gauche- sont équiprobables



Histidine H
 $\text{pK}_a = 6,1$

Fonction NH dans un **cycle imidazole aromatique** ce qui change la basicité de la fonction. L'histidine **ne peut pas s'ioniser à pH physiologique** mais peut être protonée si elle est mise à proximité d'un donneur de protons.

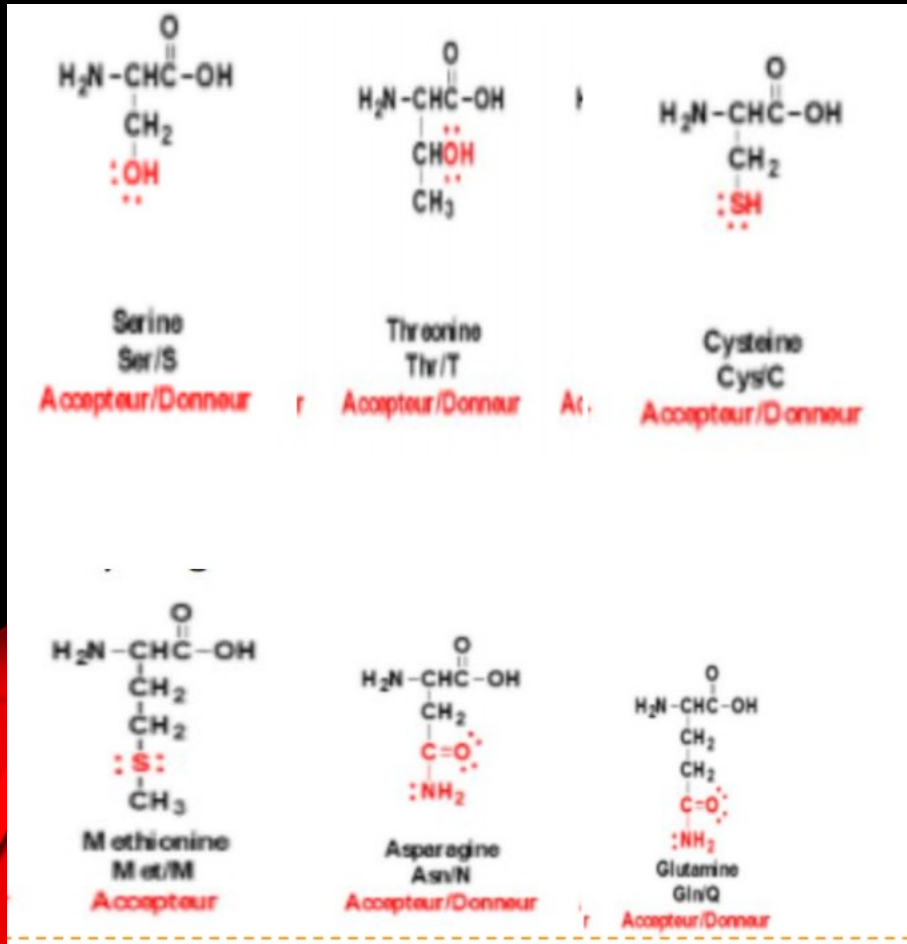
LIAISONS FAIBLES : LES LIAISONS HYDROGÈNES

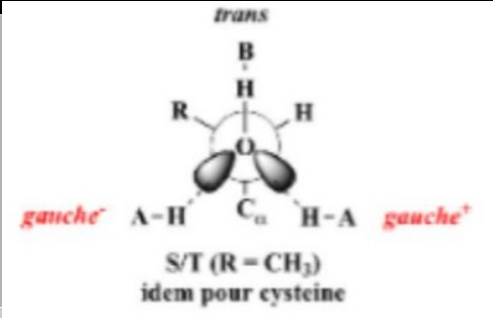
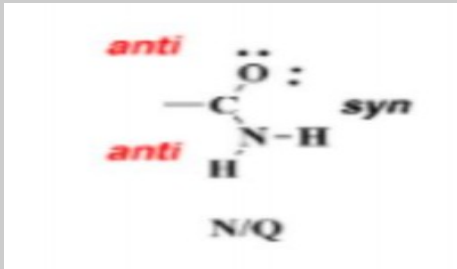
6 AA sont impliqués dans la formation des liaisons hydrogènes :

STCMNQ

A chaque fois qu'une liaison hydrogène se forme, le ΔG° diminue de **2 à 7 kcal.mol⁻¹** (beaucoup plus faible qu'une liaison ionique).

LIAISONS FAIBLES : LES LIAISONS HYDROGÈNES



S / T	Fonction hydroxyle Liaisons polarisée	
C Pka= 8,4	Fonction thiol SH Liaison polarisée	Peut s'ioniser et donne l'ion thiolate S- capable de faire des liaisons ioniques & dipolaires . Par oxydation, 2 fonctions thiols donnent un pont disulfure impliqué dans la structure secondaire de la protéine
M	Fonction thioether S	Liaisons H peu fréquentes car soufre peu accessible et donne un caractère hydrophobe à la M. Les interactions dipolaires sont privilégiées.
N / Q	Fonction amide primaire CONH2	

LIAISONS FAIBLES : LES LIAISONS DIPOLAIRES

A chaque fois qu'une liaison dipolaire se forme, le ΔG° diminue de **0,5 à 7 kcal.mol⁻¹**

peuvent se produire entre 2 fonctions chimiques qui sont des dipôles.
Elles peuvent être ;

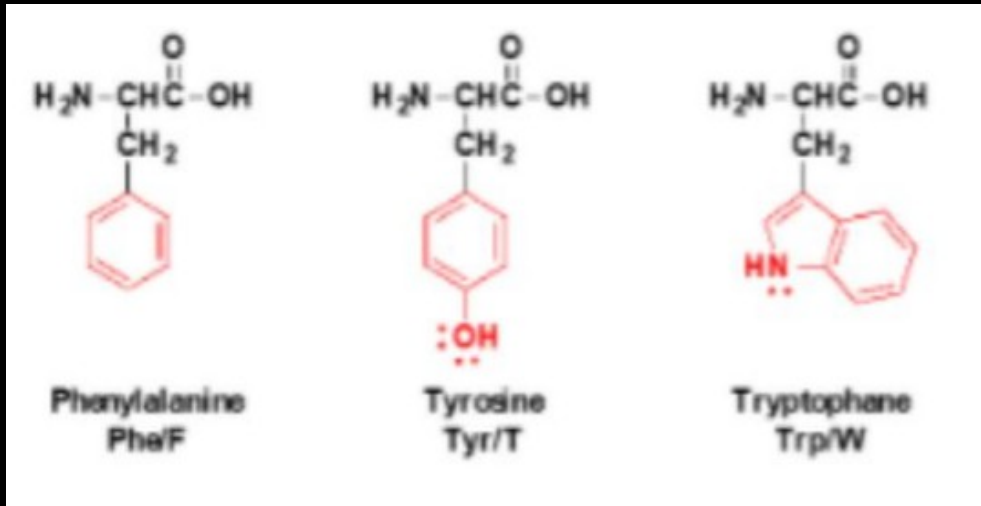
→ Dipôle permanent : il est constitué de deux atome d'électronégativité différentes ou de répartitions de charges électrique fixe ou partielle $\rightarrow \delta^+A-B\delta^-$

→ Dipôle induit : il est constitué de deux atomes de mêmes nature mais qui sont substitués par des groupements chimiques qui induiront une dissymétrie dans la répartition de leurs électrons

Les AA à chaîne latérale ionisable et à chaîne latérale polaire sont susceptibles de faire des interactions dipolaires

LIAISONS FAIBLES : LIAISONS DE VAN DER WAALS

Se fait entre un cycle aromatique de densité électronique différente : FWY



A chaque fois qu'une liaison de Van der Waals se forme, le ΔG° diminue de **1 à 10 kcal.mol⁻¹**

Tyrosine Y pKa = 10,1

Elle possède un groupement hydroxyle OH, a des capacités acido-basique et peut s'ioniser. Comme pour l'histidine, en raison du cycle aromatique, elle a du mal à s'ioniser elle peut le faire si le milieu est protoné (donc pas à pH physiologique).

Elle va pouvoir faire des liaisons Van der Waals, mais aussi des liaisons H, ionique et des liaisons dipolaires

Tryptophane

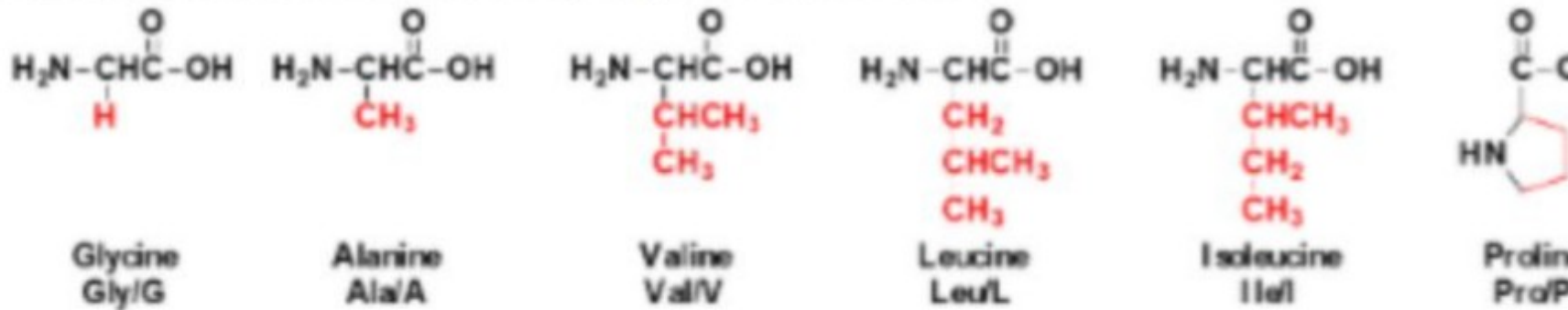
La présence de la fonction amine intracyclique lui permet d'interagir par liaison hydrogène (uniquement par son caractère donneur).

La polarisabilité de la liaison NH permet de considérer la fonction NH comme un dipôle et donc le tryptophane peut aussi interagir par liaison dipolaire.

LIAISONS FAIBLES : HYDROPHOBES

Ce sont des AA à chaîne latérale hydrogénocarbonée : **GALVIP**

A chaque fois que deux atomes de carbones s'associent l'énergie mis en jeu sera de l'ordre de **0,5 kcal.mol⁻¹**



A RETENIR !

- ➔ Comprendre les notions d'enzymes, récepteurs, ligands ainsi que les différentes liaisons présentes dans une cible biologique
- ➔ Liaisons ioniques > hydrogènes > dipolaires > VDW > hydrophobes
- ➔ Retenir quels AA sont impliqués dans chaque liaisons, retenir leur pKa, leur interaction en syn/anti ainsi que leurs caractéristiques particulières

ETAPE 2 : DÉCOUVERTE D'UNE MOLÉCULE ACTIVE

C'est la première d'une autre série de molécules avec qui elle va partager certaines propriétés et différer par d'autres après optimisation. Cette molécule possède l'activité pharmacologique recherchée mais va devoir être optimisée pour être qualifiée de médicament

Elle peut avoir quelques défauts qu'il faudra corriger :

- ➔ Manque de sélectivité/spécificité
- ➔ Activité pharmacologique insuffisante
- ➔ Instabilité métabolique et chimique
- ➔ Haut toxicité
- ➔ Faible biodisponibilité
- ➔ Solubilité insatisfaisante
- ➔ Manque d'originalité

ETAPE 2 : DÉCOUVERTE D'UNE MOLÉCULE ACTIVE

B. Sources de découvertes

Le hasard

Criblage/screening

Permet de trier les molécules en fonction de l'intérêt thérapeutique. Les molécules peuvent provenir de ;

- substances naturelles
- substances synthétiques

Criblage virtuel

Permet l'étude des interactions de grandes bibliothèques de composés virtuel ou non afin de sélectionner les molécules d'intérêt qui seront testées expérimentalement

Ethnopharmacologie

A partir d'un ligand/modulateur naturel

On s'en inspire pour faire des agonistes ou antagonistes

Criblage haut débit ou HTS

On utilise des chimiothèques qui sont testées pour leur capacité à stimuler/inhiber une cible. On va identifier leurs propriétés pharmacologiques pour obtenir le maximum de renseignements sur le produit concerné.

A partir d'un médicament déjà existant

- « me too » : permet d'échapper au brevet. Même activité pharmacologique avec amélioration thérapeutique. Coûte moins cher.
- Exploitation d'un EI

ETAPE 2 : DÉCOUVERTE D'UNE MOLÉCULE ACTIVE

B. Sources de découvertes

Conception assistée par ordinateur

Permet de générer des modèles de cibles et de ligands pour en faire une étude qui sera vérifiée expérimentalement .

→ Structure 3D connue

1. Cristallogénèse
2. Cristallographie
3. Modélisation moléculaire
4. Docking

→ Structure 3D non connue

Si homologie de séquence > 90 % à une autre protéine analogue, alors avec un logiciel de modélisation moléculaire on modifie la nature des AA différents

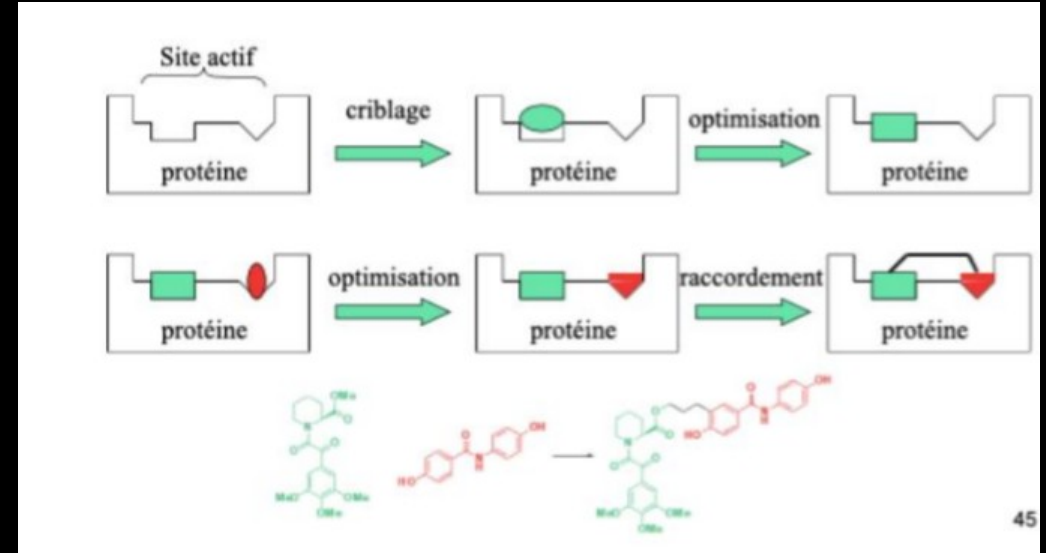
Sinon on peut faire un « matching » : on compare leur activité pharmacologique pour étudier leurs caractères structuraux

ETAPE 2 : DÉCOUVERTE D'UNE MOLÉCULE ACTIVE

B . Sources de découvertes

Conception par RMN

C'est une méthode analytique. Les spectres sont très complexes ; il y a beaucoup de pics car les protéines ciblées sont très grosses. On va radiomarquer les protéines à l'azote 15 au niveau de la liaison peptidique puis on fait un spectre 2D.



1. On prend un fragment moléculaire et on le met en présence de la protéine ; Si on a une interaction certains pics vont changer de position
2. on regarde quels pics ont changer pour déterminer quels AA interagissent avec notre fragment. On va donc pouvoir optimiser ce fragment en ajoutant/modifiant des groupements
3. On fait la même chose pour différents sites de la protéine
4. On raccorde entre eux les différents fragments moléculaires pour obtenir une unique molécule qui interagit parfaitement avec la cible.

ETAPE 2 : DÉCOUVERTE D'UNE MOLÉCULE ACTIVE

C. Isolement et purification d'une molécule tête de série

Etape indispensable si la molécule est présente dans un mélange de divers composés.

La facilité d'isolement dépend :

- De la structure
- De la stabilité
- De la qualité du composé

La technique de choix utilisée est la chromatographie

D. Établissement de la structure d'un composé

→ Cristallographie par RX

Technique rare et précise qui nécessite un échantillon en grande quantité sous forme cristalline

→ Spectroscopie RMN

Peut être réalisée sur n'importe quel type de composé et sur des quantités de substances plus faibles

→ Spectrométrie de masse

Mieux adapté à de petites quantités. L'analyse se fait par fragmentation moléculaire caractéristique des fonctions chimiques de la molécule. Les fragments obtenus sont séparés par chromatographie en phase gazeuse en fonction de leur rapport masse-charge

→ Synthèse totale

Comparaison des propriétés physico-chimiques avec la molécule originale.

ETAPE 3 : OPTIMISATION !

A. modifications chimiques de la molécule active

On veut ;

- accroître l'activité pharmacologique de la cible
- réduire les interactions avec les autres cibles
- améliorer les propriétés pharmacocinétiques (ADME)
- diminuer la toxicité

C. Objectifs :

Définir les pharmacophores : les fonctions chimiques de la molécule qui vont être responsables de l'activité pharmacologique et des propriétés pharmacocinétiques

B. Méthodologie

1. Simplification de la molécule tête de série
2. A chaque modification → évaluation des propriétés pharmacologiques et pharmacocinétiques
3. RSA pour comprendre quelles sont les propriétés structurales et physico-chimiques qui ont permis d'obtenir ce résultat

ETAPE 3 : OPTIMISATION !

D. Conditions :

L'activité est définie au niveau de :

L'organisme entier : le pharmacochimiste aura de nombreuses informations du point de vue pharmacocinétiques alors que les résultats seront peu significatifs vis-à-vis de l'activité intrinsèque.

De l'organe : la mesure fera abstraction de l'accès de la molécule à ce niveau mais sera plus spécifique du point de vue pharmacologique.

De la cible : la mesure de l'activité intrinsèque sera hautement significative vis-à-vis de la cible visée, mais le pharmacochimiste n'aura aucune information sur l'aptitude de la molécule à l'atteindre

E. Outils :

On va établir la Rsa. Pour ça, on va définir les pharmacophores :

→ A partir de la structure 3D de la cible lorsqu'elle est connue

→ En comparant des molécules criblées (matching)

ETAPE 3 : OPTIMISATION !

F. Pharmacophore / activité intrinsèque

Les caractéristiques des pharmacophores déterminent l'activité intrinsèque de la petite molécule :

- Les interactions avec une cible sont définies par les fonctions chimiques de la molécule
- Si elle se trouve dans une chaîne aliphatique ou dans un cycle ça change les propriétés de la fonction chimique
- La géométrie et position
- La répartition électronique

G. Pharmacophore / pharmacocinétique

Les caractéristiques physico-chimiques ayant le plus d'impact sur ;

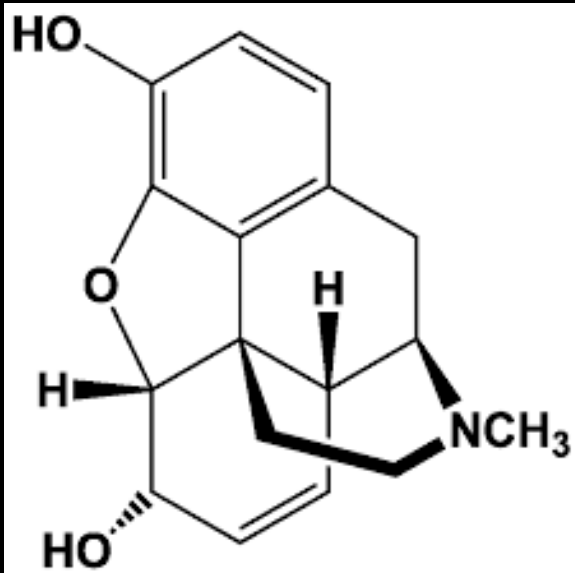
- l'aptitude d'une molécule à atteindre sa cible
- A traverser les membranes cellulaires
- A absorber/Distribuer/Metaboliser/éliminer

Sont :

- ▶ La balance hydrophilie/hydrophobie
- ▶ Le caractère acido-basique

ETAPE 3 : OPTIMISATION :

Exemple de pharmaco modulation de la morphine :



→ morphine rend dépendante

→ on cherche à modifier la molécule pour que la morphine ne rende plus dépendant

→ la dépendance est due à la flexibilité d'un cycle

→ en pontant le cycle, la dépendance à la morphine est réduite, risque de toxicomanie plus faible

→ La molécule reste efficace pour l'aspect analgésique, et on a réduit la problématique de dépendance par modulation chimique



Conclusion :

La recherche et le développement de médicaments c'est ;

- Tester l'affinité avec la cible
- Tester la sélectivité
- Tester la biodisponibilité
- Tester la toxicité du produit et de ses métabolites
- Mettre au point la synthèse industrielle

Le temps de développement : 10-15 ans

Place aux QCMS !!!

QCM 12) Quelles sont les techniques utilisées pour la découverte d'une molécule active ?

- A) hasard
- B) screening
- C) spectrométrie de masse
- D) RMN
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 12) Quelles sont les techniques utilisées pour la découverte d'une molécule active ?

A) hasard

B) screening

C) spectrométrie de masse

D) RMN

E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM7) A propos des récepteurs :

- A) L'isolement d'un récepteur est facile
- B) Leur caractérisation repose sur une étude in vivo, ex vivo et in vitro
- C) leur structure spatiale dépend de l'environnement cellulaire
- D) Ils peuvent être membranaire (zones hydrophiles) ou endoplasmique (zones hydrophobes)
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM7) A propos des récepteurs :

- A) L'isolement d'un récepteur est facile
- B) Leur caractérisation repose sur une étude in vivo, ex vivo et in vitro
- C) leur structure spatiale dépend de l'environnement cellulaire
- D) Ils peuvent être membranaire (zones hydrophiles) ou endoplasmique (zones hydrophobes)
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM10 Quelle(s) est(sont) la(les) réponses justes à propos de l'ordre de grandeur de l'énergie utilisée dans les différentes interactions ligand-cible ?

- A) hydrogènes > ioniques > dipolaires > VDW
- B) hydrophobe > VDW > dipolaires > ioniques
- C) ioniques > hydrogènes > hydrophobe > dipolaires
- D) ionique > hydrogènes > VDW > dipolaires
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM10) Quelle(s) est(sont) la(les) réponses justes à propos de l'ordre de grandeur de l'énergie utilisée dans les différentes interactions ligand-cible ?

- A) hydrogènes > ioniques > dipolaires > VDW
- B) hydrophobe > VDW > dipolaires > ioniques
- C) ioniques > hydrogènes > hydrophobe > dipolaires
- D) ionique > hydrogènes > VDW > dipolaires
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

Liaisons ioniques > hydrogènes > dipolaires > VDW > hydrophobes

QCM2) Quelles sont les caractéristiques d'une liaison hydrophobe qui se forme entre un ligand et sa cible ?

- A) Elle se forme entre un ion et un dipôle
- B) Elle se forme entre deux dipôles
- C) Elle se forme entre deux chaînes aliphatiques alkyles
- D) Elle met en jeu des liaisons polarisées
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM2) Quelles sont les caractéristiques d'une liaison hydrophobe qui se forme entre un ligand et sa cible ?

- A) Elle se forme entre un ion et un dipôle
- B) Elle se forme entre deux dipôles
- C) Elle se forme entre deux chaînes aliphatiques alkyles
- D) Elle met en jeu des liaisons polarisées
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses