



Des gènes aux médicaments : nouveaux défis, nouvelles stratégies

► Tout n'est qu'interaction entre les atomes et le vide disaient Démocrite et Épicure, trois à quatre siècles avant notre ère. Tout n'est qu'interaction entre les molécules et le vide, serions-nous tentés de paraphraser en ce début de millénaire où nous sommes plus à même que jamais de le démontrer. En effet, le décryptage du génome humain donne accès à notre patrimoine génétique et ainsi potentiellement à toutes les macromolécules endogènes de notre organisme (ADN, ARN, protéines) : 30 000 à 100 000 gènes, 100 à 200 000 ARN messagers et plus de un million de protéines différentes. Reste à comprendre comment et dans quelles conditions ces molécules interagissent et à caractériser les fonctions biologiques microscopiques et macroscopiques associées. Cette connaissance du génome autorise la mise en œuvre de nouvelles stratégies thérapeutiques (thérapie génique, thérapie cellulaire, protéines médicaments, médicaments issus du criblage) grâce notamment à l'émergence récente de méthodes telles que l'annotation bioinformatique, le génotypage, le phénotypage, la protéomique, le criblage réel et virtuel et la chimie combinatoire. Nous présentons ces stratégies

d'après-séquençage en détaillant plus particulièrement celle qui nous semble à courte et moyenne échéance la plus prometteuse en terme de production de médicaments : le criblage. ◀

La recherche de substances actives bénéfiques pour l'homme a suivi trois stratégies avant que ne se mette en place l'approche post-génomique contemporaine.

Stratégies thérapeutiques : évolution

Depuis l'origine, l'homme a abordé ce problème en criblant sur lui-même ou sur des animaux les richesses de la nature. Les découvertes furent le fruit d'essais et d'erreurs transmises de génération en génération. Cette veine a été en partie exploitée (trop peu, trop tard) en tentant d'analyser de manière systématique le potentiel des médecines traditionnelles parvenues jusqu'à nous. Il est à noter par ailleurs que l'observation clinique fortuite constitue encore actuellement une source importante de découverte de nouveaux principes actifs.

Le début de l'ère industrielle a conduit à la mise en place d'un criblage systématique sur des essais généralement peu pertinents, grands consommateurs d'animaux. Cette approche empirique a conduit à la découverte des grandes classes de médicaments de synthèse

Marcel Hibert Jacques Haiech

M. Hibert : Laboratoire de pharmacochimie de la communication cellulaire, UMR Cnrs/ULP 7081. J. Haiech : Laboratoire de physicochimie et pharmacologie de la communication cellulaire, UMR Cnrs/ULP 7034. Faculté de Pharmacie, 74, route du Rhin, BP 24, 67400 Illkirch Cedex, France.

connues aujourd'hui. Cependant, jusqu'aux années 1970, on ne s'intéressait que secondairement au mécanisme d'action des substances actives découvertes et les médicaments étaient généralement développés sans avoir connaissance de l'identité et de la structure chimique de leurs cibles thérapeutiques.

Les progrès de l'enzymologie, de la pharmacologie moléculaire et de la biologie moléculaire ont progressivement permis de faire le lien entre certaines maladies et des macromolécules biologiques impliquées. La biologie structurale a par ailleurs donné accès aux premières structures tridimensionnelles de ces cibles fonctionnelles ce qui a engendré à partir des années 1980 le développement de méthodes dites « rationnelles » de conception et d'optimisation de composés actifs, avec quelques succès [1]. Cette démarche plus scientifique, remontant de la maladie vers la cible moléculaire (protéine ou gène), a longtemps souffert de la difficulté à identifier la structure chimique des protéines ciblées. Ce problème est en passe d'être résolu avec le déchiffrement des génomes.

En effet, le génome humain sera entièrement décrypté avant 2003 et la

première version de la séquence est disponible depuis cette année. D'ores et déjà, des milliers de nouvelles protéines ont été caractérisées ce qui nous place dans une situation de surabondance d'information. Le défi actuel en recherche fondamentale et appliquée consiste à comprendre la fonction de ces protéines et à évaluer leur implication potentielle dans une maladie. Différentes voies complémentaires résultant de développements technologiques récents sont actuellement empruntées, traçant le chemin d'une stratégie post-génomique.

Stratégies post-génomiques : du gène au médicament

Du gène à la maladie, et réciproquement

Afin de valoriser rapidement les génomes, il importe de découvrir le lien potentiel existant entre une maladie et un ou plusieurs gènes, responsables de cette affection ou impliqués dans ses manifestations indésirables. Deux approches sont envisageables (figure 1).

1. La première consiste à partir des malades et à tenter d'identifier les fonctions déficientes et les macromolécules associées. Cela peut être abordé classiquement par investigation physiologique, pharmacologique et biochimique (par exemple, le diabète insipide et les anomalies du récepteur de la vasopressine [2]) ou par des méthodes émergentes de génotypage des patients et de leurs familles afin de repérer une implication génétique commune aux malades. Cette approche s'est révélée extrêmement efficace puisque le nombre de maladies génétiques identifiées a cru exponentiellement au cours des cinq dernières années*.

2. La seconde approche consiste, à partir de la connaissance de gènes, à remonter vers la caractérisation de la protéine codée, de sa fonction, de sa structure tridimensionnelle, de ses ligands endogènes et des maladies où elle pourrait jouer un rôle. Ces gènes sont dits « orphelins » et cette

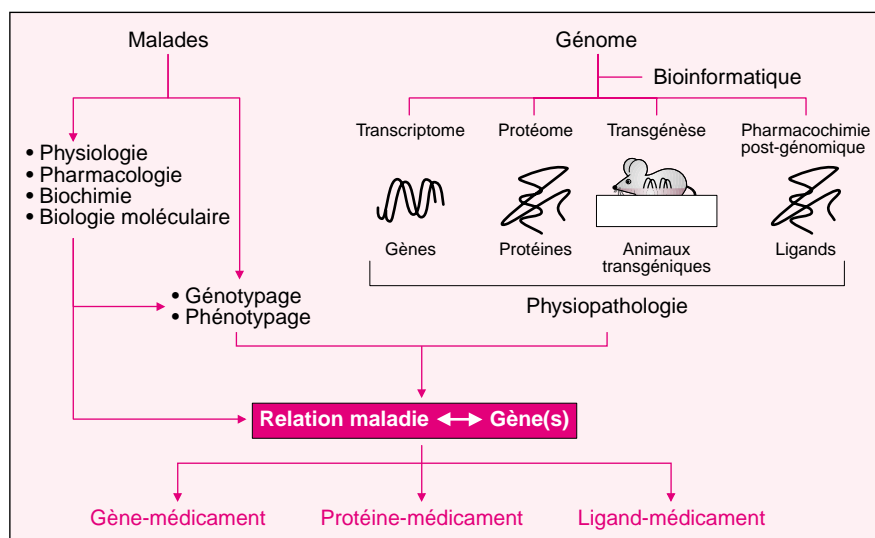


Figure 1. **Principales stratégies pour tenter d'établir une relation entre gène(s) et maladie et stratégies thérapeutiques qui en découlent.** Le problème-clé actuellement est de tenter de corréler une maladie avec le dysfonctionnement de un ou plusieurs gènes ou protéines. On peut pour cela suivre deux voies : partir des malades et tenter de caractériser les mécanismes biologiques impliqués dans la maladie ; partir des gènes et tenter de montrer leur implication dans une fonction pathologique. Ces approches mettent en jeu des techniques et des disciplines scientifiques émergentes telles que la bioinformatique, l'étude du transcriptome et du protéome, l'étude d'animaux transgénétiques et une pharmacochimie post-génomique. Ces études permettent de développer trois stratégies thérapeutiques : le gène-médicament, la protéine-médicament et le ligand médicament.

approche a été qualifiée de pharmacologie inverse. Elle met en jeu diverses méthodes nouvelles (génotypage, bio-informatique, transcriptome, protéome, transgénése, pharmacochimie post-génomique).

Toutes ces approches émergentes sont absolument complémentaires et doivent idéalement être menées en parallèle pour donner *in fine* aux pharmaciens et aux médecins les moyens d'établir efficacement le lien potentiel entre gène et maladie.

Du gène au médicament

Une fois établie la possible relation entre un gène, son produit (la protéine) et une maladie, il s'agit de mettre en place une stratégie thérapeutique.

On distingue actuellement trois approches majeures : le gène-médicament, la protéine-médicament et le ligand-médicament (figure 1).

1. Le gène-médicament permet d'envisager de « réparer » un gène défectueux ou d'adjoindre dans les cellules un gène codant pour une

protéine potentiellement thérapeutique : c'est l'approche par thérapie génique. Le potentiel de cette stratégie est énorme mais des problèmes difficiles restent encore à résoudre, notamment en ce qui concerne la vectorisation et la bio-tolérance.

2. La protéine-médicament : dans le cas où le défaut génétique conduit à l'absence d'expression d'une protéine ou à son dysfonctionnement, on peut parfois administrer la protéine fonctionnelle pour rétablir la réponse biologique. Cette approche est bien établie ainsi que le démontre l'usage courant de l'insuline ou de l'hormone de croissance. La liste des protéines actuellement en cours d'étude clinique montre également le potentiel de cette stratégie. Son champ d'application reste cependant limité du fait de la faible biodisponibilité de ces molécules et de leur coût de production relativement élevé.

3. Le ligand-médicament : c'est la méthode la plus classique. Il s'agit de découvrir une molécule pouvant se lier (le ligand) à l'ADN, à l'ARN ou à la protéine cible de manière puis-

* <http://www.genethon.fr/>

sante et sélective, permettant ainsi d'en moduler la fonction selon les nécessités thérapeutiques. La plupart des médicaments existants fonctionnent selon ce principe. Dans le contexte post-génomique, comment découvrir de tels ligands ? Il y a deux voies : la conception rationnelle fondée sur la connaissance de la structure de la cible ; le criblage robotisé, systématique ou intelligemment ciblé (figure 2). L'approche rationnelle bénéficie de l'essor de la biologie structurale et des progrès de la modélisation moléculaire. De plus en plus souvent les structures tridimensionnelles (3D) des cibles sont accessibles et permettent la conception « sur mesure » de ligands adaptés grâce à des logiciels d'aide à la conception. La créativité des chercheurs a conduit à l'émergence de nouveaux types de ligands tels que les molécules anti-sens, ou les *protein nucleic acids* (PNA), complémentaires des acides nucléiques endogènes. Le potentiel thérapeutique de ces substances reste cependant à démontrer. La modélisation et les techniques de recherche de pharmacophores viennent parfois aider les chimistes à découvrir des molécules innovantes et présentant un intérêt thérapeutique [1]. Cette approche est toujours de mise en recherche universitaire comme dans certaines sociétés pharmaceutiques. Il convient cependant de souligner que l'effort majeur de recherche et de développement est actuellement focalisé sur la seconde approche : le criblage.

Le criblage biologique

En attendant que la recherche fondamentale ait fait suffisamment progresser tous les aspects de la thérapie génique et des approches de type anti-sens pour en généraliser l'exploitation thérapeutique, l'industrie s'est massivement tournée vers de nouvelles technologies, spécifiquement le criblage biologique à haut débit, la chimie combinatoire et la bioinformatique du médicament, afin de prendre un nouveau virage stratégique permettant d'exploiter rapidement et efficacement les données génomiques. La recherche publique française commence à entrevoir ce que peut être sa contribution à cette démarche, sans sortir du cadre de sa

mission, mais au contraire en la renouvelant.

L'idée qui sous-tend la stratégie de criblage est simple (figure 2). Elle consiste à prendre toutes les cibles génomiques intéressantes et à mettre au point des essais sur des robots pour y cribler un très grand nombre de molécules afin de découvrir « à tous les coups » des composés originaux modulant l'activité biologique de ces cibles. On pourrait ainsi produire des outils d'exploration pharmacologique et des « touches » (*hits*) pouvant être optimisées en médicaments. Cette approche est théoriquement rendue possible avec la connaissance de la séquence des cibles génomiques et le développement de techniques robotiques. En pratique, de nombreux problèmes scientifiques, techniques, méthodologiques, financiers et organisationnels doivent être résolus. Cela concerne notamment : le choix des cibles ; la

mise au point d'essais biologiques robotisés pertinents ; l'accès à un grand nombre de molécules potentiellement actives ; la gestion de la masse de données produites ; la rationalisation du criblage grâce à une bio-informatique du médicament et enfin le suivi et l'exploitation des « touches » (pharmacochimie, pharmacologie, valorisation industrielle). Nous allons détailler ces différents points.

Des cibles

Quelles cibles biologiques doit-on cribler ? On serait tenté de répondre : toutes. On se rendra cependant rapidement compte que, dans un souci d'efficacité et de rentabilité, il faudra bien choisir et définir des priorités en fonction de l'intérêt fondamental d'une cible ou de son intérêt thérapeutique, industriel, etc. On peut distinguer en fait deux types de cibles :

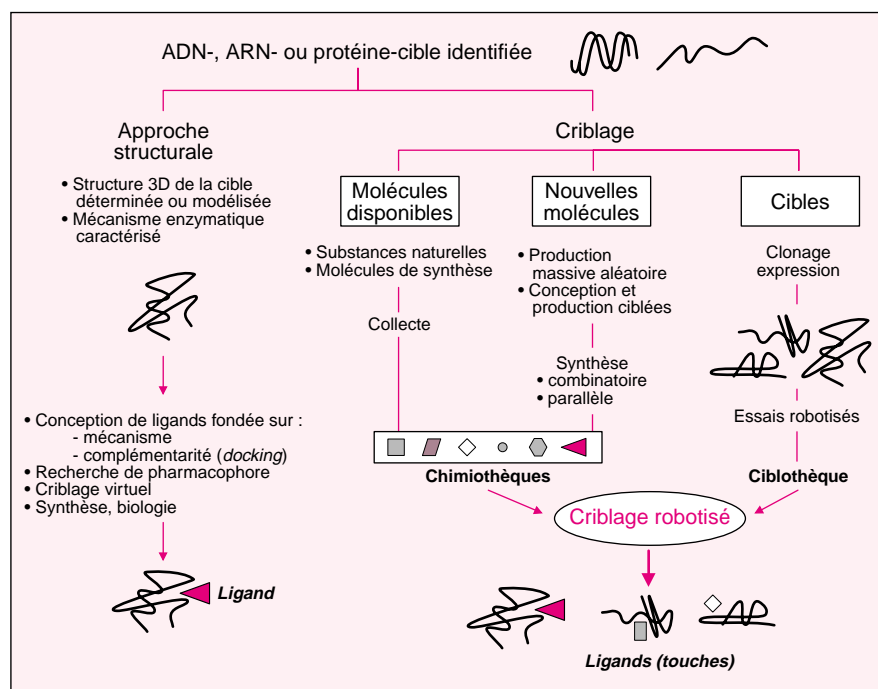


Figure 2. **Stratégies de découverte de ligands-médicaments. Approche structurale et approche par criblage.** Lorsque les cibles biologiques impliquées dans une maladie ont été caractérisées (ADN, ARN, protéine), il est nécessaire de découvrir des molécules s'y fixant (ligands) et pouvant moduler leur fonction. Ceci peut se faire en suivant une approche moléculaire qui consiste à « visualiser » la structure de la cible et à concevoir le ligand qui pourra s'y fixer. Cette approche est la plus rationnelle, mais elle demeure relativement lourde et longue. Une approche alternative est actuellement explorée : le criblage robotisé. Elle consiste à évaluer l'activité biologique de grands nombres de molécules (chimiothèques) sur un grand nombre de cibles (ciblothèque).

d'une part, les cibles connues, déjà partiellement caractérisées, dont on connaît ou présume le rôle fonctionnel et qui sont encore dépourvues de ligands spécifiques; d'autre part, les cibles dites « génomiques », dont la connaissance se limite essentiellement à la séquence en nucléotides ou en acides aminés et qui sont généralement « orphelines », c'est-à-dire encore dénuées de tout ligand naturel ou synthétique.

1. Les cibles connues: fasciné par la nouveauté et l'abondance des cibles génomiques, il serait dangereux et dommage de ne pas explorer le grand nombre de cibles déjà caractérisées, mais pour lesquelles on ne dispose pas encore de ligands suffisamment puissants et spécifiques pour étudier *in vitro* et *in vivo* leur implication physiopathologique. Par exemple, sur la quinzaine de récepteurs de la sérotonine identifiés, cinq ont été exploités pour développer des médicaments importants. Tout laisse penser que les autres sous-types seront aussi prodigieux. Ils sont donc de bons candidats au criblage.

2. Les cibles génomiques: parmi la multitude de séquences génomiques, comment définir des priorités au criblage? Comment identifier les protéines qui seront exprimées et qui joueront un rôle crucial dans les processus fondamentaux du vivant? Quelles seront les meilleures cibles thérapeutiques? Répondre à ces questions va nécessiter la mise en place de moyens analytiques et expérimentaux lourds et complexes: la bio-informatique génomique, le transcriptome, le protéome, l'étude clinique de malades et d'animaux aux gènes modifiés. La prise en compte de l'information engendrée par ces différentes approches ainsi que de critères d'ordre fondamental ou commercial doit guider le choix des cibles à cribler. Il faudra cependant être conscient de la prise de risque dans la mesure où la fonction de la protéine cible dans un environnement complexe et intégré, tel que l'organisme humain, ne peut pas être prédite à coup sûr. Restera enfin le problème des maladies multifactorielles dans lesquelles manipuler un seul gène ou une seule protéine ne permettra pas de résoudre le problème thérapeutique.

Il faut également constater, mais pas nécessairement admettre, que le

choix des cibles est par ailleurs guidé par d'autres considérations moins scientifiques: nombre de patients concernés (*quid* des maladies rares ?*), leur solvabilité (maladies des pays du tiers-monde; traitements trop coûteux, même pour les pays développés, avec une prise en charge sociale variable, etc.), l'environnement politique et sanitaire des patients potentiels, etc.

- *Des essais*

Une fois les cibles potentielles définies, reste le problème du développement d'un essai pertinent robotisable à haut débit.

Dans les cas les plus simples, on peut transposer les opérations manuelles répétitives simples d'essais de liaison ou d'essais enzymatiques sur des automates (mono-tâches) ou sur une chaîne robotique multi-tâches. Un certain nombre de problèmes deviennent cependant aigus dans le cas du criblage à haut débit: les quantités et le coût des matériaux biologiques nécessaires; la quantité, le coût d'achat et d'élimination de marqueurs radioactifs ou fluorescents; la durée de l'essai; les coûts de fonctionnement, etc. Cela nécessite une recherche fondamentale, pour le développement d'essais biologiques pertinents alternatifs, et une recherche méthodologique. Dans quelques pays, ces recherches universitaires aboutissent à l'émergence de nombreuses nouvelles sociétés de biotechnologie. On assiste notamment au développement de systèmes de criblage miniaturisé (microplaques à 384 puits et plus, *microarrays* et techniques issues de l'électronique ou des micro-fluides). Des approches plus exploratoires faisant appel à de nouvelles techniques apparaissent actuellement. On peut notamment citer le criblage par spectrométrie de masse et par résonance magnétique nucléaire (RMN).

Citons enfin d'autres types d'essais en cours de développement qui revêtent une importance croissante: au-delà de l'évaluation de l'activité sur le système-cible, il s'agit d'automatiser les essais permettant d'évaluer la toxicité, l'absorption, la distribution, le

métabolisme et l'élimination de molécules bioactives afin de sélectionner les meilleurs candidats cliniques potentiels avant d'entrer dans les coûteuses phases de développement.

Le développement d'essais robotisables n'est donc pas toujours une tâche triviale. Il nécessite encore une recherche fondamentale de pointe et un transfert technologique intelligent, efficace et décomplexé.

- *Des molécules*

La robotisation a permis d'accroître considérablement les capacités de criblage. Une chaîne robotique très classique permet de réaliser en format standard 2 000 mesures d'activité par jour. Une structure industrielle de criblage peut produire 12 000 à 15 000 mesures par jour. Ce chiffre peut monter à 100 000 mesures par jour pour des centres plus importants ou utilisant des techniques de criblage particulières. Les composés peuvent être testés un par un ou en mélange, typiquement de 4 à 10 produits. Cela signifie que de 12 000 à environ 100 000 molécules peuvent être évaluées en une journée. Cette capacité élevée de criblage a naturellement soulevé le problème d'approvisionnement en molécules à tester.

Quelles sont les sources de molécules à potentiel d'activité biologique? Elles sont essentiellement de deux types: les substances naturelles et les substances de synthèse. On peut distinguer par ailleurs un patrimoine chimique déjà existant d'une part, et d'autre part l'accès à de nouvelles molécules par chimie combinatoire (synthèse à haut débit) ou par découverte de nouvelles substances naturelles.

Les industries ont tout naturellement commencé par cribler leur patrimoine de composés chimiques accumulés au cours du temps. Selon la taille et l'histoire des sociétés, ce patrimoine comportait de 10 000 à 200 000 molécules. Comme on l'a vu, la capacité des robots de criblage permet d'évaluer l'activité de ces chimiothèques en une journée ou, au plus, en un mois. Ce criblage ne se soldant pas toujours par un succès, une course à la croissance des chimiothèques a commencé afin d'améliorer la probabilité de trouver une

* <http://www.orphanet.infobiogen.fr/>

« touche » pour tout criblage. Selon les analystes, la taille à atteindre pour la chimiothèque idéale devait être de 250 000 composés pour les plus optimistes, d'1 million de composés pour les plus prudents. Les grands groupes ont également introduit largement la chimie combinatoire dans leur activité interne afin d'alimenter leurs robots en molécules plus originales que celles proposées sur le marché. Les sociétés qui maîtrisaient déjà la collecte et l'exploitation de substances naturelles se sont également tournées vers cette source de molécules diverses et sophistiquées pour en automatiser le criblage.

La plupart des sociétés ont généralement atteint ainsi leur objectif concernant la taille de leur patrimoine chimique, mais peut-être pas, comme nous le verrons plus loin, l'objectif initial consistant à y découvrir des touches pour toutes les cibles criblées. À côté de cette approche empirique, dans l'industrie comme à l'Université, la tendance actuelle est à la conception rationnelle de chimiothèques ciblées et originales afin d'augmenter la diversité moléculaire et la probabilité de trouver des touches pour une classe de cibles donnée (chimiothèque dynamique de Jean-Marie Lehn, création de ligands en reliant entre eux des modules chimiques simples, chimiothèque autour de pharmacophores).

• *Des bases de données*

Après avoir résolu les problèmes liés à la mise en place des essais et du criblage, il a fallu faire face à un problème initialement sous-estimé, celui de la gestion et de l'exploitation de la masse colossale de données produites par le criblage de centaines de milliers de molécules sur des dizaines de cibles biologiques. Des logiciels adaptés ont dû être développés pour collecter les structures et les données biologiques associées.

Il faut également souligner la nécessité de mettre en place diverses activités de gestion spécifiques à la synthèse et au criblage à haut débit: la gestion des commandes de matériel biologique, de réactifs chimiques et de consommables en très grandes quantités; la gestion de la chimiothèque, son contrôle et son suivi analytique; la gestion des chaînes robo-

tiques et de ses consommables (des milliers de tubes et de microplaques), etc. Ces différents aspects représentent une infrastructure très importante, nécessaire à la réussite de l'activité de criblage.

• *Une bio-informatique du médicament*

L'idée qui sous-tend la stratégie du criblage repose sur une démarche statistique: si l'on teste un nombre de molécules assez grand sur une cible donnée, on finira nécessairement par trouver une molécule active sur cette cible. C'est sans doute exact, mais quand et à quel prix? C'est à ces deux questions, qui n'en font en fait qu'une, que s'est rapidement trouvée confrontée l'industrie. Tous frais confondus, une estimation grossière, et très variable en fonction du contexte, évalue à 50 F le coût de la mesure de l'activité d'un produit à une dose donnée sur un essai. Le criblage primaire d'une chimiothèque de 200 000 composés (taille classique) revient donc à 10 millions de francs. À ce prix, il serait fort souhaitable que cette stratégie aboutisse effectivement à une « touche », c'est-à-dire à un composé présentant l'activité désirée. Or l'expérience montre que ce n'est souvent pas le cas. À cela deux explications: la nature de la cible qui se prête mal à l'interaction puissante et sélective avec de petits ligands; la mauvaise qualité de la chimiothèque constituée et testée. Ces deux problèmes sont actuellement abordés par le biais d'une discipline que nous baptiserons « Bio-informatique du médicament ». Son objectif ultime est d'optimiser le rapport: nombre de produits actifs sur nombre de produits testés. Cette discipline recouvre les activités suivantes:

1. Analyser et exploiter les génomes pour identifier les classes structurales et fonctionnelles d'intérêt thérapeutique;
2. Modéliser les protéines-cibles dont la structure n'est pas accessible expérimentalement;
3. Analyser et exploiter l'information issue de la biologie structurale, de la modélisation et des relations structure-activité pour rationaliser la conception, la synthèse et le criblage virtuel et réel de molécules bioactives; de manière plus précise, il faut:

– développer de nouvelles méthodes d'analyse de la diversité moléculaire pour rationaliser la conception et l'exploitation de chimiothèques (chimie combinatoire);

– développer, valider et exploiter des méthodes de criblage biologique virtuel (par *docking* dynamique; par recherche de pharmacophores [1]);

– développer des méthodes efficaces d'analyse des relations « séquence du récepteur-structure des ligands » pour l'exploitation des récepteurs orphelins.

En intégrant cette nouvelle discipline, les chimistes pourront rationaliser la conception de leur chimiothèque de synthèse pour atteindre efficacement et à moindre coût une cible biologique donnée. On pourra également sélectionner dans la chimiothèque patrimoine de plusieurs centaines de milliers de composés, le sous-ensemble de quelques centaines de molécules qui représentera la diversité moléculaire et le potentiel d'activité biologique de l'ensemble. C'est cette chimiothèque de taille réduite qui sera évaluée, à moindre coût mais potentiellement à efficacité égale. Cette approche est encore embryonnaire au sein des sociétés industrielles et nécessite la contribution de recherches plus fondamentales.

• *Un suivi*

Il convient de se souvenir que le criblage ne donne accès qu'à des « touches », c'est-à-dire à des molécules possédant une activité biologique significative, mais généralement insuffisante. Avant de pouvoir utiliser cette molécule comme outil pharmacologique d'exploration fonctionnelle, il faudra confirmer par des courbes dose-réponse l'activité biologique observée, évaluer la spécificité de la molécule pour la cible biologique, optimiser l'affinité, l'efficacité et la sélectivité de cette molécule par les voies habituelles (mais pas triviales) de la pharmacochimie. Pour utiliser cette touche comme point de départ à l'élaboration d'un médicament, il faudra passer par le même processus et le compléter par une évaluation fonctionnelle *in vivo* et une étude de la toxicité et de la biodisponibilité (figure 3). En effet, la substance active doit être transportée

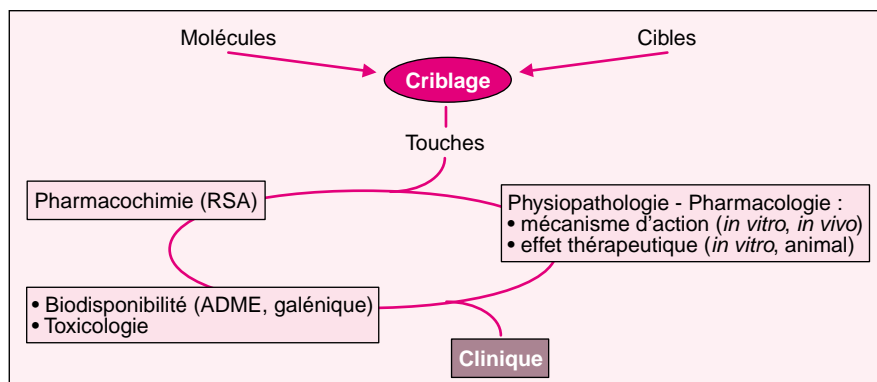


Figure 3. **De la touche au développement clinique d'un médicament potentiel.** Le criblage conduit à des « touches », c'est-à-dire des ligands présentant généralement une affinité, une sélectivité, une biodisponibilité (administration, distribution, métabolisme, élimination : ADME) et une toxicité qui nécessitent d'être optimisées. Les disciplines « classiques » du développement de médicaments entrent alors en jeu avec des techniques elles aussi en pleine évolution : études des relations structure-activité (RSA), chimie combinatoire, études métaboliques *in vitro*, vectorisation, galénique, etc. Seules quelques molécules franchiront ce stade et entreront en études cliniques chez l'homme pour avancer vers le statut de médicament.

vers le tissu approprié, doit pénétrer éventuellement la cellule et atteindre la cible biologique. Il faut remarquer qu'une galénique à l'interface de la chimie, de la physique des matériaux et de la biologie est en train de se développer (vecteurs synthétiques, nouvelles formulations, utilisation du code postal biologique, etc.). Obtenir des touches par criblage n'est donc utile que si des équipes de biologistes et de pharmacochimistes sont associées au projet pour valoriser du point de vue fondamental et industriel les fruits du criblage. Cela met par ailleurs en exergue l'importance d'une chimie de synthèse que l'on pourrait avoir tendance à minimiser dans ces nouvelles approches. Il convient également d'intégrer le criblage dans une stratégie plus globale prenant notamment en compte la valorisation industrielle potentielle des molécules bio-actives découvertes. De manière brève et schématique, les molécules présentant un très grand intérêt commercial (marché supérieur à 500 millions de dollars) pourront intéresser les grandes compagnies internationales alors que les molécules correspondant à des marchés « niches » pourront être valorisées au travers de sociétés émergentes spécialisées, soutenues par des actions caritatives ou une politique volontariste de la santé.

La stratégie de criblage est-elle efficace ?

Avec trois à six ans de recul, il apparaît que le criblage est effectivement très productif, mais essentiellement sur certaines classes structurales et fonctionnelles telles que les récepteurs couplés aux protéines G ou les protéases. De nombreux ligands non-peptidiques ont ainsi été découverts pour des récepteurs de peptides, là où l'approche rationnelle aurait probablement échoué [7]. Des récepteurs orphelins ont vu leur ligand endogène caractérisé et leur importance physiopathologique ainsi démontrée (par exemple, l'orexine impliquée dans l'obésité [8]; des chimiokines dont le récepteur CCR5 est impliqué dans la pénétration cellulaire du virus du SIDA [9], etc.). Les résultats sont beaucoup plus mitigés, voire décevants pour l'instant, pour des cibles plus ubiquitaires (par exemple, les kinases) ou pour des systèmes impliquant des interactions protéine-protéine (par exemple les récepteurs de cytokines).

Aux États-Unis et en Angleterre, la recherche universitaire est très étroitement associée à tous les développements scientifiques et technologiques liés à la stratégie de criblage. Elle en est le plus souvent la source, participant à la caractérisation de nouvelles

cibles génomiques, au développement d'essais biologiques innovants (propres, miniaturisés, pertinents), à la mise au point de nouvelles stratégies et méthodes de synthèse sur phase solide (résines, chips, polymères solubles, etc.), à la validation de méthodes de bio-informatique du médicament. En un raccourci provocateur, on peut affirmer que la France en est à ses balbutiements dans tous ces domaines, à l'exception du séquençage du génome.

Cependant, à l'initiative de quelques laboratoires et avec le soutien des organismes de recherche, toutes les composantes de la stratégie thérapeutique post-génomique se mettent actuellement en place à travers les programmes Génopôle, GenHomme, et les actions concertées Cnrs-Inserm. Nous allons ainsi vers la constitution d'une Chimiothèque Nationale, d'une Ciblotheque Nationale et d'un réseau de plates-formes de criblage, à l'image de ce qui a été engagé à Strasbourg dans le cadre du Génopôle et du Pharmacopôle.

Approche intégrée du gène au médicament : exemple de Génopôle et de Pharmacopôle

Le succès de l'approche génomique est assujéti à l'existence d'un pôle ou d'un réseau multi-compétences où les laboratoires travaillent de manière concertée sur un projet commun d'envergure, bien défini. A titre d'exemple, un tel projet a été mis en œuvre à Illkirch sous la coordination de Pierre Chambon. Le Génopôle Strasbourg-Alsace-Lorraine « Du Gène au Médicament » a été créé dans le cadre de l'action ministérielle Génopôles. On y distingue trois composantes : une approche de génomique fonctionnelle passant par la création d'une « clinique de la souris » (Pierre Chambon) destinée à produire des centaines de souris transgéniques et à effectuer un phénotypage complet par le biais d'un réseau d'experts en physiopathologie (Michèle Kedinger). Ce projet est soutenu par une action « Puces à ADN » (Jean-Louis Mandel) et une action « Bio-informatique » (Dino Moras). Une deuxième composante relève de la « Génomique Structurale » avec le projet de pro-

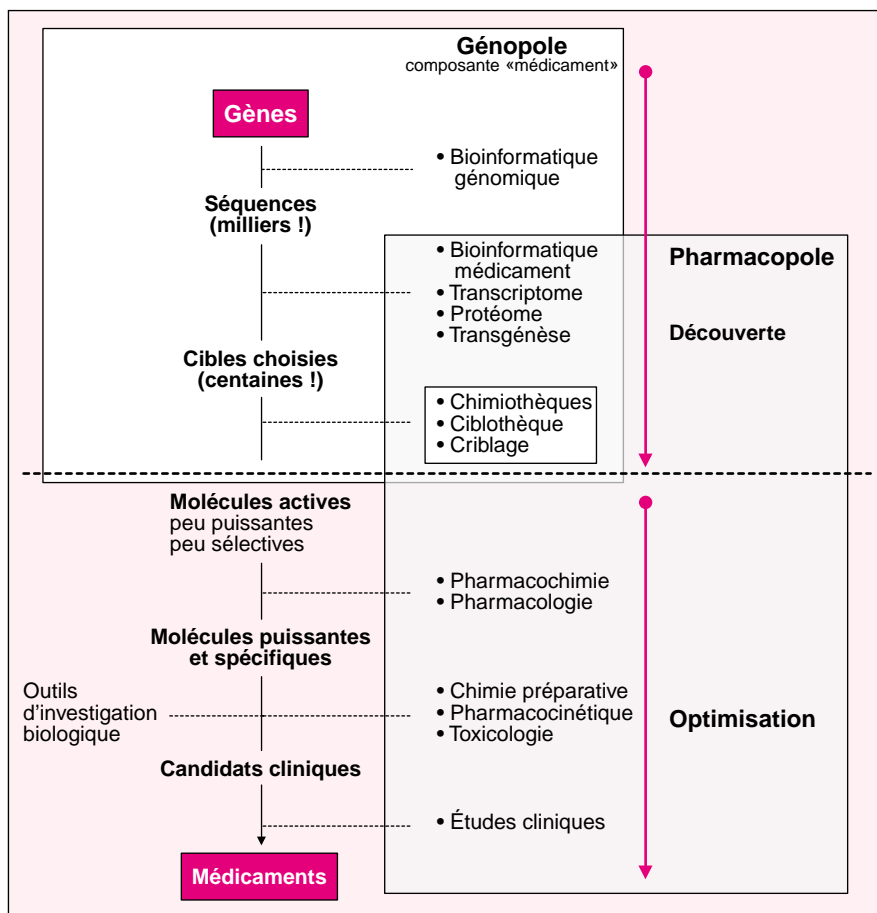


Figure 4. **Le criblage comme technique au service d'une recherche post-génomique intégrée. Exemple du Génopôle Strasbourg-Alsace-Lorraine « Du Gène au médicament » et de sa branche Pharmacopôle.** Le passage du gène au médicament nécessite une bonne intégration des activités de recherche de nombreuses disciplines. Cela est facilité par la présence sur un même site de la plupart des compétences nécessaires et d'une volonté d'œuvrer ensemble sur un projet d'envergure. C'est le cas à Strasbourg-Illkirch où, en collaboration avec l'Université de Nancy, un Génopôle a été constitué à l'initiative du Professeur Pierre Chambon, avec le soutien ministériel. À côté d'une « clinique de la souris » visant à étudier des centaines de souris transgéniques et d'une génomique structurale visant à caractériser les structures tridimensionnelles de protéines, une branche Médicament a été créée. La stratégie du criblage a été choisie et mise en œuvre récemment, avec déjà quelques succès.

duire à haut débit des structures cristallographiques de protéines (Dino Moras). Enfin, la troisième composante est le projet « Médicament » (Jacques Haiech et Marcel Hibert) visant à découvrir des ligands de cibles génomiques afin d'en permettre l'étude pharmacologique et d'ouvrir la voie à des applications thérapeutiques (figure 4). Les trois projets prioritaires abordés par ce pôle sont les familles géniques des récepteurs nucléaires, des facteurs de transcription et des récepteurs cou-

plés aux protéines G (RCPG). La composante « Médicament » place le criblage au cœur de sa stratégie. Un plateau technique de robots de criblage a été installé. Une ciblothèque et une chimiothèque ont été constituées. La Ciblothèque comprend notamment un essai original générique des récepteurs couplés aux protéines G reposant sur la résonance de transfert de fluorescence [10]. Cet essai est déjà opérationnel. La chimiothèque regroupe actuellement 2 000 produits formatés en micro-

plaques à 96 puits. Cette chimiothèque a déjà été criblée sur 5 essais très divers en conduisant à chaque fois à la découverte de molécules originales, tant du point de vue de leur structure que de celui des fonctions pharmacologiques induites. Une trentaine d'essais sont actuellement en attente de transfert vers le robot. Il est déjà évident que cette stratégie est payante en terme d'innovation et de valorisation. La composante « Médicament » du Génopôle trouve son prolongement dans le cadre du Pharmacopôle. L'objectif est de mettre en synergie les compétences en pharmacie et biotechnologies présentes sur le site pour transformer les touches issues du criblage en médicaments potentiels par optimisation du profil pharmacodynamique et pharmacocinétique.

Ces concepts de « chimiothèque » et de « ciblothèque » vont actuellement vers une extension au niveau national, voire international. En effet, une chimiothèque nationale est en cours de constitution sous la forme d'une fédération de chimiothèques de laboratoires ou d'instituts. Elle devrait grossir jusqu'à environ 15 000 substances naturelles et de synthèse d'ici un an, avec le soutien nécessaire des organismes publics. Cette chimiothèque sera mise à la disposition des biologistes pour criblage. En parallèle, un réseau de ciblothèques est actuellement en cours de constitution sous l'impulsion du Cnrs et de l'Inserm. Cette démarche de valorisation d'un patrimoine public semble prometteuse en terme de découverte de substances actives.

Perspectives

La découverte de molécules biologiquement actives est-elle du ressort de la recherche publique ou de l'industrie ? Nous pouvons répondre à cette question par une autre: serait-il noble pour la recherche publique de découvrir une nouvelle étoile ou un nouveau gène et inapproprié de découvrir un nouveau médicament ? Dans le domaine qui est l'objet de cet article, comme dans tout autre, il est clair qu'il faut être vigilant à ne pas refaire en moins efficace ce qui se fait déjà ailleurs, notamment dans l'industrie. La contribution de la recherche publique à la découverte

de molécules actives est selon nous une opportunité et un devoir: une opportunité car les problèmes soulevés par cet objectif viennent stimuler la recherche dans de nouveaux domaines frontières et constituent autant de défis scientifiques et techniques à relever; un devoir car la recherche publique doit valoriser son investissement dans la recherche génomique en allant jusqu'au bout du processus, c'est-à-dire en contribuant à satisfaire l'attente des malades. Aller du gène à la molécule active représente au pire une bonne stratégie financière et sociale lorsque cette recherche conduit à un partenariat avec la grande industrie ou à la création de nouvelles sociétés; c'est au mieux un devoir, que la grande industrie n'assumera pas dans le cas des maladies rares ou dans des problèmes de santé publique affectant des pays en voie de développement. Nous concluons donc que les organismes publics de recherche doivent continuer à s'impliquer, comme cela a été fait par le passé avec succès, dans le processus de découverte de molécules biologiquement actives, pour le bénéfice de la communauté. Il conviendra simplement de s'assurer que cela s'effectue de manière compétitive et innovante tant du point de vue scientifique que du point de vue méthodologique ■

TIRÉS À PART

M. Hibert.

RÉFÉRENCES

1. Lam P, Jadhav P, Eyermann C, *et al.* Rational design of potent, bioavailable, non peptide cyclic ureas as HIV protease inhibitors. *Science* 1994 ; 263: 380-4.
2. Bichet D, Birnbaumer M, Lonergan M, *et al.* Nature and recurrence of AVPR2 mutations in X-linked nephrogenic diabetes insipidus. *Am J Hum Genet* 1994 ; 55: 278-86.
3. Ganem B, Li Y, Henion J. Detection of non-covalent receptor-ligand complexes by mass spectrometry. *J Am Chem Soc* 1991 ; 113: 6294-6.
4. Gaveriaux-Ruff, C, Matthes H, Peluso J, Kieffer B. Abolition of morphine-immunosuppression in mice lacking the mu-opioid receptor gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998 ; 95: 6326-30.
5. Wilm M, Mann M. Analytical properties of the nano-electrospray ion source. *Anal Chem* 1996 ; 66: 1-8;
6. Yates J. Mass spectrometry and the age of the proteome. *J Mass Spectrom* 1998 ; 33: 1-19
7. Serradeil-Le Gal C, Wagnon J, Garcia C, *et al.* Biochemical and pharmacological properties of SR 49059, a new, potent, nonpeptide antagonist of rat and human V1a receptors. *J Clin Invest* 1993 ; 92: 224-31.
8. Sakurai T, Amemiya A, Ishii M, *et al.* Orexins and Orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell* 1998 ; 92: 573-85.
9. Samson M, Libert F, Doranz B, *et al.* Resistance to HIV-1 infection in caucasian individuals bearing mutant alleles of the CCR-5 chemokine receptor gene. *Nature* 1996 ; 382: 722-5.
10. Vollmer JY, Alix P, Chollet A, Takeda K, Galzi JL. Detection of fluorescent neurokinin A interaction with GFP-tagged NK2 tachykinin receptors by fluorescence resonance energy transfer on intact cells. *J Biol Chem* 1999 ; 274: 37915-22.

m/s 2000

Summary

From genes to drugs: new challenges, new strategies

The deciphering of the human genome opens a new era for drug discovery and development. Currently, the main challenge is to establish a relationship between a disease and one or more genes putatively involved. Over recent years, the strategy was to start from the pathology and to identify the sequence and the coding gene of the proteins playing a role in the process. Very soon, all putative genes coding for functional proteins will be known, allowing a reverse strategy: start from genes and identify their physiopathological relevance. This approach necessitates the contribution of several emerging disciplines such as bioinformatics, genomics, proteomics and postgenomic medicinal chemistry. Indeed, in terms of therapy, beside drug-genes and drug-proteins, drug-ligands still represent the most promising agents. New strategies such as high throughput screening of generic or « smart » molecule libraries appear to be very promising in terms of rapid drug discovery. National molecule and biological assay libraries are being developed in French academic research laboratories to feed screening platforms. The ultimate goal is to speed up the discovery of original structures acting at relevant target proteins in order to provide biologists with novel functional investigation tools. These tools represent also key starting structures for drug development.

Les rayonnements, l'ADN et la cellule

La revue **Clefs CEA**, éditée par le Commissariat à l'Energie atomique, vient de publier, au printemps 2000, un numéro entièrement consacré aux recherches menées au CEA en radiobiologie et sur les effets des rayonnements sur le vivant.

Pour se procurer ce numéro gratuitement, contacter :
CEA – Direction de la communication et des affaires publiques

Clefs CEA
Fax : (33) 1 40 56 20 01