

# Chimie combinatoire

par **Romuald BAUELLE**

Docteur Ingénieur en Chimie-Recherche et développement à la société CEREP

<b>1. Principe de la chimie combinatoire</b> .....	P 3 270 - 2
<b>2. Synthèse en mélange versus synthèse en parallèle</b> .....	— 3
2.1 Synthèse en mélange .....	— 3
2.1.1 Principe .....	— 3
2.1.2 Déconvolution .....	— 3
2.1.3 Désavantages des mélanges .....	— 4
2.2 Synthèse parallèle .....	— 4
<b>3. Synthèse sur support solide versus synthèse en phase homogène</b> .....	— 5
3.1 Synthèse sur support solide .....	— 5
3.1.1 Principe .....	— 5
3.1.2 Méthode D.C.R. (« Divide, Couple, Recombine ») .....	— 5
3.1.3 Stratégie des « Tags » .....	— 5
3.1.4 Limitations de la synthèse sur support solide .....	— 6
3.2 Synthèse en phase homogène .....	— 6
<b>4. Chimie</b> .....	— 7
4.1 Les différents types de chimiothèques .....	— 8
4.1.1 Dimérisation .....	— 8
4.1.2 Oligomérisation .....	— 8
4.1.3 « Template » .....	— 8
4.1.4 Condensations de plusieurs monomères .....	— 9
4.2 Les différents types de réactions chimiques disponibles .....	— 9
4.2.1 Bilan technologique .....	— 9
4.2.2 Bilan chimique .....	— 9
<b>5. Analytique</b> .....	— 10
<b>6. Diversité</b> .....	— 10
<b>7. Processus de découverte d'un nouveau médicament</b> .....	— 11
<b>8. Bilan biologique des techniques combinatoires</b> .....	— 11
<b>9. Autres domaines d'application</b> .....	— 12
9.1 Biologie combinatoire .....	— 12
9.2 Applications aux matériaux .....	— 12
<b>10. Conclusion</b> .....	— 12
<b>Références bibliographiques</b> .....	— 12
<b>Pour en savoir plus</b> .....	Doc. P 3 270

**L**a découverte de nouveaux médicaments repose aujourd'hui sur la mise en évidence, généralement à l'échelle moléculaire, de l'interaction d'une molécule organique avec une cible pharmacologique. Cette cible est souvent une protéine, plus rarement un sucre ou un acide nucléique qui est impliqué dans le déclenchement de l'état pathologique.

Les progrès de la biologie moléculaire et de la génétique ont permis l'identification de nombreuses cibles candidates, ainsi que leur production dans des quantités suffisantes pour leur étude structurale (RMN, rayons X). Cependant, même avec ces informations, la modélisation moléculaire et la conception *ab initio* de molécules organiques capables d'interagir efficacement n'ont jamais pu aboutir. L'échec de ces techniques rationnelles ont conduit les chercheurs de **nouveaux médicaments** (mais aussi de **pesticides**, d'**herbicides**...) à aborder le problème de manière empirique.

De plus, l'évolution sans cesse croissante des capacités de criblage des sociétés pharmaceutiques et l'augmentation du nombre de cibles potentielles ont conduit à dépasser les capacités de synthèse des chimistes traditionnels. Les collections historiques des laboratoires, qui d'ailleurs souffrent de lacunes en diversité et de problèmes de réapprovisionnement, ont été épuisées par les recrutements massifs des campagnes de criblage pharmacologique. Les produits naturels peuvent encore fournir de nombreuses structures originales mais des problèmes d'origine (en grande partie la zone intertropicale), de détermination structurale et de complexité de synthèse ralentissent leur valorisation. Seule une rationalisation des méthodes de synthèse pouvait répondre à la demande croissante de nouvelles molécules.

Ainsi, au cours des cinq dernières années, la chimie combinatoire s'est imposée comme une **source fondamentale de molécules originales pour la découverte de nouveaux médicaments**. De ce fait, elle a été rapidement adoptée par les sociétés pharmaceutiques avec la volonté de mettre au point des procédés systématiques dans le but de réduire le temps qui sépare la caractérisation d'une nouvelle cible et la mise sur le marché d'une molécule active.

L'objet de cet article est de faire un point sur l'état actuel de cette nouvelle « philosophie chimique » et de démontrer l'enjeu qu'elle constitue. Après une présentation générale de la chimie combinatoire et des différentes techniques mises au point dans ce domaine, nous ferons un bilan des réactions chimiques actuellement exploitables. L'évolution des méthodes analytiques sera présentée, ainsi que l'apparition du concept de diversité et son évaluation par la modélisation moléculaire. Puis nous verrons comment la chimie combinatoire est intégrée au processus de découverte de nouveaux médicaments et les sociétés chez lesquelles elle a donné des résultats prometteurs. Pour conclure, quelques applications ne concernant pas le domaine pharmaceutique seront présentées.

## 1. Principe de la chimie combinatoire

Le principe fondamental de la chimie combinatoire n'est pas tant éloigné du travail du chimiste organicien classique. Plutôt que de se limiter à la mise en présence de deux molécules A et B pour obtenir le dimère AB (figure 1), l'idée est de sélectionner  $n$  molécules  $A_1$  à  $A_n$  partageant la même fonction réactive et de les mettre en réaction avec  $n'$  molécules de type B. Ainsi,  $n \times n'$  dimères sont obtenus et constituent une **banque** ou une **chimiothèque** de composés. Ces molécules sont testées telles quelles, sans purification ni analyse poussée, qui sont les étapes les plus longues et les plus coûteuses du travail du chimiste. Le principe est donc de n'isoler et de ne caractériser complètement un produit que lorsqu'il a déjà manifesté une activité intéressante.

Grâce à la chimie combinatoire, la capacité de synthèse d'un chercheur passe d'une centaine de composés par an à quelques dizaines de milliers. Cette augmentation du potentiel de production va dans le sens de celle des capacités de criblage qui, pour une société comme Glaxo Wellcome, est passé en 15 ans de quelques dizaines de milliers d'échantillons par chercheur par an à quelques millions d'échantillons, grâce au criblage à haut débit et à la miniaturisation.

Si l'on considère que seulement une molécule sur plusieurs dizaines de milliers synthétisées devient un médicament, la chimie combinatoire propose que plus le nombre de produits testés sera grand, plus les chances de trouver un médicament potentiel augmenteront. Les réactions chimiques qui conviennent le mieux à cette optique sont donc celles qui permettent l'utilisation de familles de composés très peuplées. Puisque des milliers d'acides carboxyliques, d'amines, d'alcools et d'aldéhydes sont disponibles dans le commerce, ce sont les molécules de départ les plus souvent employées en chimie combinatoire. On les appelle les monomères.

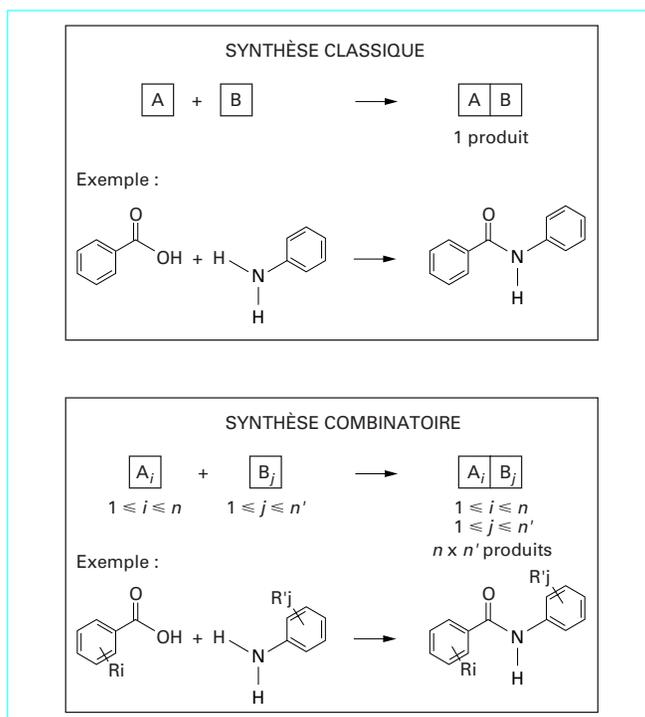


Figure 1 – Principe de la chimie combinatoire

## 2. Synthèse en mélange versus synthèse en parallèle

Historiquement, les premières expériences en chimie combinatoire étaient menées en mélange pour la synthèse rapide de millions de composés. Cette technique, bien adaptée à la synthèse de peptides et d'oligonucléotides, implique en général plusieurs resynthèses de la chimiothèque pour identifier une molécule active au sein du mélange. La synthèse en parallèle de composés uniques évite cette étape fastidieuse et permet d'utiliser des réactions chimiques plus complexes.

### 2.1 Synthèse en mélange

#### 2.1.1 Principe

Il s'agit de mettre en réaction dans un même réacteur deux familles de monomères, chaque monomère étant présent dans des quantités stœchiométriques. La probabilité de rencontre de chaque couple de monomères étant en principe la même, on espère synthétiser un mélange homogène de toutes les combinaisons possibles de dimères.

L'obstacle majeur de cette technique réside dans le fait qu'il est très difficile de s'assurer que toutes les combinaisons sont bien présentes dans le mélange, en particulier lorsque l'on utilise des familles de monomères à réactivité hétérogène (par exemple les amines, avec la grande différence de réactivité entre une amine primaire aliphatique et une aniline). Il y a tout de même une méthode

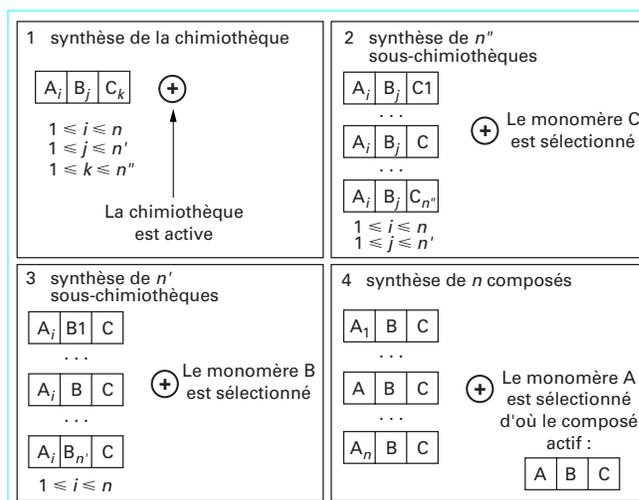


Figure 2 – Déconvolution directe

qui permet de pallier ce problème, en particulier dans le cadre de la synthèse sur support insoluble (voir paragraphe 3.1.2).

Le mélange obtenu est soumis au criblage tel quel et ce n'est que s'il s'avère actif que l'on cherche à identifier au sein du mélange la molécule responsable de l'activité. Le processus d'identification est appelé **déconvolution**, par analogie au traitement du signal en électricité. Trois méthodes de déconvolution existent.

#### 2.1.2 Déconvolution

##### 2.1.2.1 Déconvolution itérative

Lorsqu'une activité intéressante est détectée dans un mélange, la première étape consiste à engendrer une nouvelle fois la chimiothèque initiale en la divisant en un ensemble de sous-chimiothèques, toutes de taille égale. Dans chacune d'elle, un monomère est invariant (figure 2). Le nombre de sous-chimiothèques est égal au nombre de monomères introduits dans la position du monomère invariant ( $n''$  dans le cas présent, pour la famille de monomère utilisée en troisième position). Chaque sous-chimiothèque n'a aucun composé en commun avec les autres. Elle sont testées séparément, et une réponse positive d'une des sous-chimiothèques implique que la molécule responsable de l'activité se trouve dans celle-ci. Ainsi, la molécule active contient le monomère C en troisième position. Par la suite, plusieurs sous-chimiothèques de taille plus petite sont préparées et testées pour déterminer le monomère responsable de l'activité en deuxième position ( $n'$  sous-chimiothèques pour la famille de monomère en deuxième position). Ce processus itératif continue jusqu'à l'identification complète de la molécule active, ABC dans l'exemple.

Ainsi, dans un cas idéal, on peut contrôler le bon déroulement de la déconvolution par la détection d'une activité croissante à chaque étape puisque la molécule active est de moins en moins diluée par les autres, théoriquement inactives. Cette méthode itérative présente cependant le désavantage d'être assez longue puisqu'il faut *a priori* préparer au minimum un nombre de sous-chimiothèques égal au nombre total de monomères introduits dans toutes les positions ( $n + n' + n''$  dans notre exemple). De plus, chaque nouvelle activité détectée dans le mélange initial entraîne une nouvelle série de resynthèses différentes. C'est pourquoi deux méthodes de déconvolution optimisées ont été développées.

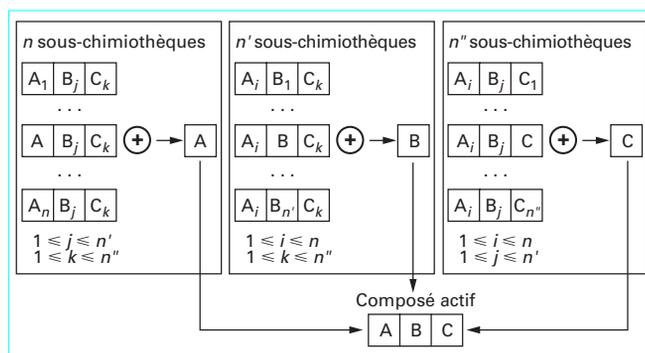


Figure 3 – Balayage positionnel

### 2.1.2.2 Balayage positionnel

Le but est de préparer une chimiothèque qui permet un **décodage immédiat**, sans nécessiter la synthèse ultérieure de sous-chimiothèques. Le balayage positionnel consiste à produire dès le début des sous-chimiothèques où un monomère fixé dans une position rencontre tous les autres monomères dans les positions restantes (figure 3). Comme pour la déconvolution itérative, le nombre de sous-chimiothèques engendrées est égal au nombre de monomères introduits dans la banque ( $n + n' + n''$ ). L'avantage est que le processus n'est pas itératif : les sous-chimiothèques sont testées séparément et les différentes activités détectées permettent de déterminer directement quels monomères confèrent l'activité au mélange et en quelle position. La molécule active est immédiatement identifiée, évitant les longues étapes du processus précédent. Par contre, les sous-chimiothèques testées ayant toutes la même taille, il est nécessaire que le test soit fiable pour pouvoir détecter des activités très diluées.

### 2.1.2.3 Chimiothèque orthogonale

Une autre approche consiste à synthétiser la chimiothèque deux fois dans son ensemble. Les produits synthétisés sont les mêmes, mais ils sont agencés de façon différente dans la banque ordonnée 1 et la banque ordonnée 2 (figure 4). Ainsi, un produit se trouvant en mélange avec d'autres produits dans la banque ordonnée 1 va toujours se trouver en mélange dans la banque ordonnée 2 avec des produits différents. Une sous-chimiothèque de la banque ordonnée 1 ne possède donc qu'une seule molécule en commun avec une sous-chimiothèque de la banque ordonnée 2. Le test des deux banques ordonnées permet l'identification immédiate de la molécule responsable de l'activité.

L'avantage de cette stratégie est de pouvoir faire une partition raisonnée des produits dans les sous-chimiothèques en exploitant la diversité des monomères impliqués, de manière à ce que chaque sous-chimiothèque contienne des molécules très différentes. Ceci permettra d'éviter qu'une activité globale du mélange ne soit due à un cumul de faibles activités de molécules qui se ressemblent, et par conséquent permettra de limiter les faux positifs.

D'autres méthodes facilitant le processus de déconvolution ont été développées dans le cadre de la synthèse sur support insoluble et y sont spécialement dédiées. Elles seront donc développées dans le paragraphe 3.1.

### 2.1.3 Désavantages des mélanges

Outre le temps de déconvolution ou celui passé à mettre au point des chimiothèques avec un système de décodage, l'expérience a montré que les tests de mélanges de milliers de produits étaient souvent peu fiables pour retrouver une molécule active. Malgré l'application facile de ces techniques à la synthèse de peptides ou

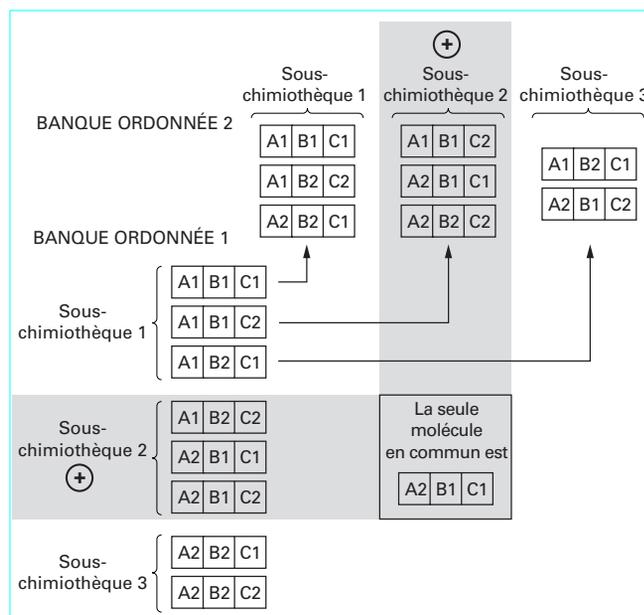


Figure 4 – Chimiothèque orthogonale sur un exemple de 8 trimères

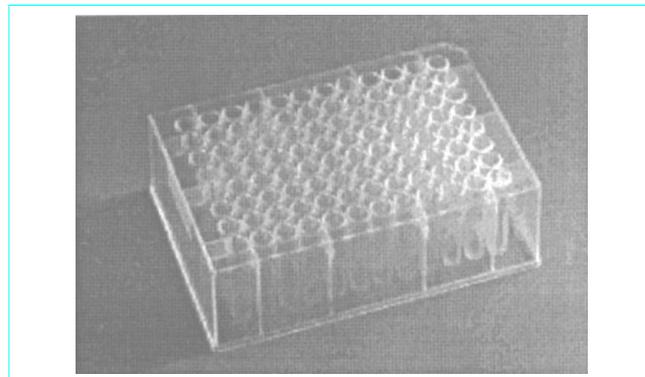


Figure 5 – Plaque 96-puits (« deep well »)

d'oligonucléotides, de nombreux cas de faux positifs ont été décrits. Dans certains cas, l'activité biologique était due à un continuum d'activité dû à la parenté de structure des molécules issues d'un même mélange. Dans d'autres cas, la complexité du milieu réactionnel a favorisé des réactions secondaires imprévisibles, rendant l'identification de la molécule active impossible. Ce problème ajouté à celui de l'analyse des milieux synthétisés (contrôle qualité des chimiothèques) ont conduit les sociétés à s'orienter vers des mélanges de taille plus réduite (10 à 100 molécules) ou vers la synthèse parallèle.

## 2.2 Synthèse parallèle

En gardant l'idée de synthétiser toutes les combinaisons possibles issues de familles de monomères, la synthèse parallèle consiste à mener chaque réaction individuellement dans de petits réacteurs séparés. Il peut s'agir de tubes indépendants ou plus couramment de plaques de microtitration de 96 puits (figure 5), qui ren-

dent le format de synthèse directement compatible avec celui du criblage. L'historique de chaque réacteur est alors suivi en général de manière informatique pour connaître le composé qu'il contient. Il existe aussi des microréacteurs équipés de petits émetteurs de radiofréquences, qui permettent de tracer par signaux électriques l'historique de la synthèse.

La synthèse parallèle implique l'utilisation d'automates de synthèse et un système de gestion de données. Ainsi, de nombreux fournisseurs proposent actuellement des matériels adaptés à différents types de stratégies, de la synthèse de chimiothèques de plusieurs milliers de composés à celle de banques plus petites, dans des quantités allant du milligramme au gramme.

Il apparaît actuellement que les sociétés développent des synthèses en mélange principalement pour engendrer des têtes de série en interne, alors que l'optimisation se fait plutôt au moyen de banques synthétisées en parallèle (voir § 7). Par contre, les sociétés qui vendent des chimiothèques ne proposent que des banques à produits uniques, puisque celles-ci permettent un contrôle qualité et une utilisation ne nécessitant pas d'outils particulier.

## 3. Synthèse sur support solide versus synthèse en phase homogène

### 3.1 Synthèse sur support solide

Par son application historique à la synthèse de peptides, la chimie combinatoire est très liée à la synthèse sur support solide. Celle-ci permet de produire des molécules très pures avec des protocoles de synthèse multi-étapes complexes.

#### 3.1.1 Principe

Un des monomères est fixé de manière covalente (éventuellement par l'intermédiaire d'un bras de liaison) sur les sites réactifs d'un matériau insoluble, le support solide (figure 6). Il peut s'agir d'un support en verre ou en polymère, mais plus couramment c'est un ensemble de billes insolubles de quelques dizaines de micromètres de diamètre constituées d'un polymère non réactif, appelé résine. Ce polymère est fonctionnalisé par des groupements réactifs permettant l'ancrage de différentes molécules. On définit alors la « charge » de la résine qui quantifie le nombre de moles de produit que l'on peut fixer par gramme de polymère (en général de l'ordre de quelques centaines de micromoles par gramme). Les réactifs et les autres monomères sont ajoutés en solution, et la réaction a lieu sur le polymère, sous réserve de trouver un solvant approprié qui pénètre dans les billes de résine pour que les sites réactifs soient accessibles (on dit que le solvant « gonfle » la résine). Le produit de la réaction est donc lié aux billes, et il est ensuite détaché de la résine par une étape de clivage. Une filtration permet alors de récupérer le produit libéré de son support.

L'énorme **avantage** de la synthèse sur support solide est qu'elle permet, quand le coût des matières premières le permet, d'utiliser des excès de réactifs à chaque étape pour mener les réactions à leur terme (figure 7) : les restes de réactifs (monomères et catalyseurs) seront éliminés par des étapes de lavage et de filtration. Ainsi, de nombreuses réactions multi-étapes sont disponibles, sans avoir à se soucier de la compatibilité des solvants ou des produits secondaires engendrés lors des étapes précédentes.

Cette technique, originellement développée pour la synthèse de peptides par Edman, a connu un plein essor lorsque l'on a cherché à

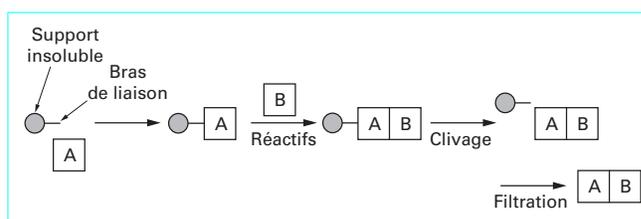


Figure 6 – Principe de la synthèse sur support solide

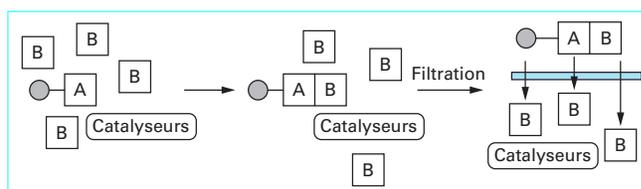


Figure 7 – Utilisation d'excès de réactifs sur support solide

généraliser son utilisation à la synthèse de petites molécules organiques. De nombreux types de résines existent, avec des propriétés de gonflement suffisantes dans de nombreux solvants, permettant de fixer pratiquement tout type de monomère sur support insoluble. De plus en plus de réactions de la chimie organique sont actuellement adaptées à ce type de synthèse (voir § 4).

#### 3.1.2 Méthode D.C.R. (« Divide, Couple, Recombine »)

Dans le cadre des mélanges, la possibilité d'utiliser des excès de réactif permet de s'assurer de la présence de toutes les combinaisons de monomères grâce à la méthode *divide couple recombine* (DCR, division, couplage, remélange – figure 8), encore appelée « **split and mix synthesis** ». Elle consiste à diviser la masse de résine initiale en autant de lots qu'il y a de monomères à faire réagir et à opérer la réaction de couplage au cas par cas, en ajustant les conditions pour chaque différence de réactivité. Les lots de polymère sont ensuite remélangés pour être à nouveau divisés avant l'étape suivante. Ainsi un mélange *quasi* homogène de dimères peut être obtenu. La manipulation des produits est plus facile puisque tous ont le même comportement physique, celui de la résine sur laquelle ils sont fixés. De plus, cette méthode apporte de nouvelles facilités pour la déconvolution. En effet, les lots de résine étant séparés avant chaque étape chimique et n'étant mis en réaction qu'avec un seul monomère, un produit unique sera synthétisé sur tous les sites réactifs d'une bille de résine. C'est le concept du *one bead – one compound* (une bille – un composé). Il est alors courant de tester les molécules sans les séparer du polymère sous réserve d'être sûr que la résine et le bras de liaison n'interfèrent pas avec le récepteur criblé (figure 9). Par une reconnaissance colorimétrique, il est possible d'isoler la bille portant la molécule active puis après clivage d'analyser la structure de cette dernière. Ainsi, de longues étapes de déconvolution sont évitées.

#### 3.1.3 Stratégie des « Tags »

Puisqu'il n'est pas toujours facile de caractériser rapidement une molécule issue de combinaisons de monomères, des techniques de codage ont été développées, qui consistent, après chaque étape chimique, à faire réagir sur la résine des molécules appelées des « tags » (littéralement étiquettes) avant d'opérer au remélange. Chaque combinaison de « tag » est unique et est associée à un seul pro-

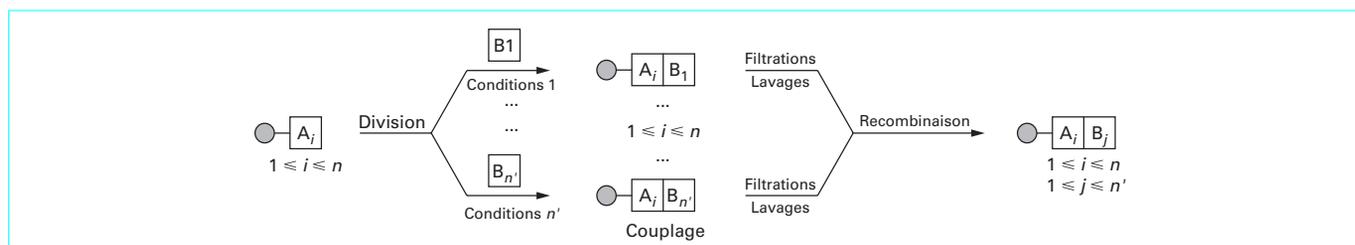


Figure 8 – Méthode « divide, couple, recombine »

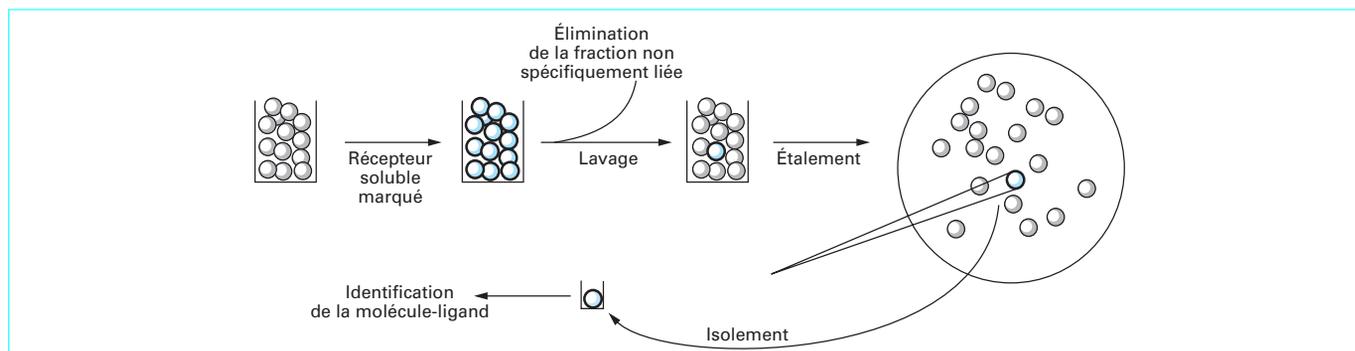


Figure 9 – Criblage de composés liés à un support solide

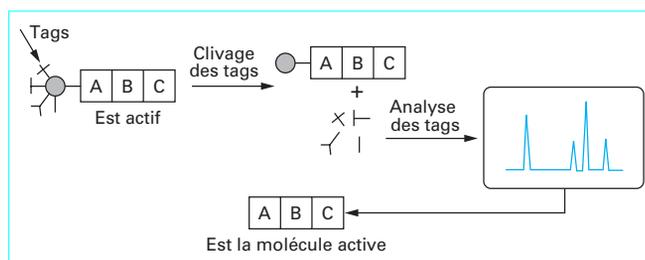


Figure 10 – Utilisation de « tags »

duit de la chimiothèque. Une fois la bille de résine intéressante isolée (figure 10), la libération de ses « tags », permet de retracer l'historique de la synthèse à la manière d'un code barre et ainsi d'élucider la structure de la molécule active.

Le choix des « tags » dépend du moyen d'ancrage et de clivage de ceux-ci sur la résine, qui ne doit pas interférer avec la synthèse des molécules de la chimiothèque. Ce sont en général des structures faciles à analyser comme des chaînes peptidiques séquençables par dégradation d'Edman ou des molécules liées à la résine par un lien photoclivable.

### 3.1.4 Limitations de la synthèse sur support solide

Malgré ses nombreux avantages, la synthèse sur support solide possède quelques limitations : le fait que le produit doive obligatoirement être fixé sur le support insoluble limite considérablement la diversité disponible des monomères mis en jeu dans la synthèse (puisque'ils doivent être au minimum bifonctionnels). De plus, les clivages sont souvent des étapes chimiques très rudes qui peuvent endommager des fonctions sensibles. Le clivage des produits en fin de protocole laisse généralement une fonction invariante, résidu de

la liaison covalente avec le support insoluble (en général une fonction acide ou amide – figure 11). La diversité de la chimiothèque souffre donc de cette empreinte qui est commune à toutes les molécules. Certains ont pu y remédier en utilisant une cyclisation concomitante avec le clivage faisant ainsi disparaître la fonction résiduelle. Actuellement, les chercheurs développent de nouvelles générations de résines, impliquant de nouvelles méthodes de clivage, pour s'affranchir de cette empreinte. Par exemple, des bras de liaison de type silylé (figure 11) donnent une fonction alkyle après clivage ou des bras de liaison de type sulfonamide sont clivés par réaction avec différents nucléophiles, ajoutant ainsi de la diversité à la chimiothèque.

En synthèse sur support solide, le suivi de la réaction est souvent long et fastidieux. De façon classique, la molécule est libérée de son support pour contrôler l'état d'avancement de la synthèse. Des méthodes analytiques permettant l'analyse des produits directement sur le support de synthèse sont développées pour pallier ce problème (voir § 5).

Enfin, il existe des cas où la synthèse sur support solide est impossible, par exemple les réactions utilisant des catalyseurs insolubles. De plus, certains réactifs peuvent être incompatibles chimiquement avec le polymère constituant la résine. C'est pourquoi la synthèse en phase homogène est parfois préférable, voire obligatoire.

### 3.2 Synthèse en phase homogène

La synthèse en phase homogène permet d'utiliser n'importe quel type de réaction chimique sans soucis de compatibilité avec le support solide, mais avec l'inconvénient de se retrouver à la fin de la synthèse avec les résidus des réactifs utilisés, et parfois des restes de monomères n'ayant pas réagi. En général, on n'utilise pas d'excès de réactifs, sauf s'ils peuvent être éliminés par des processus simples (évaporation par exemple). C'est pourquoi la mise au

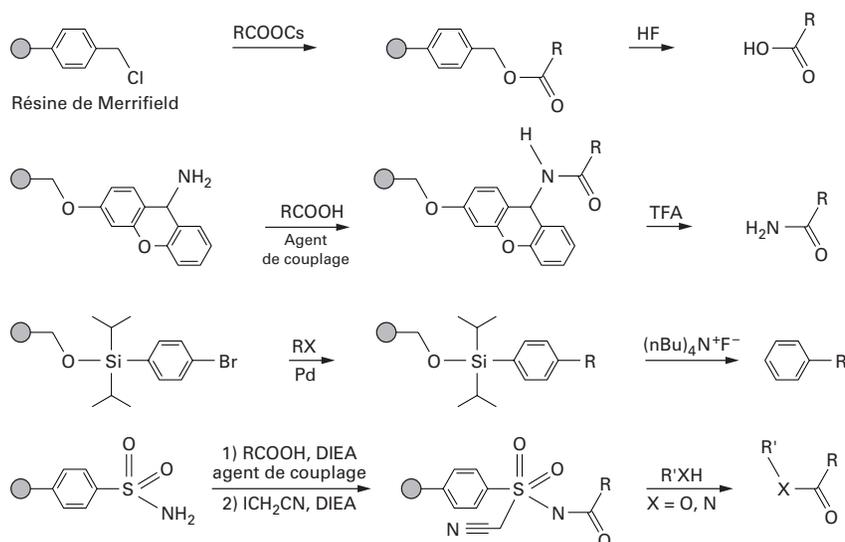


Figure 11 – Quelques types de résine et leur méthode de clivage

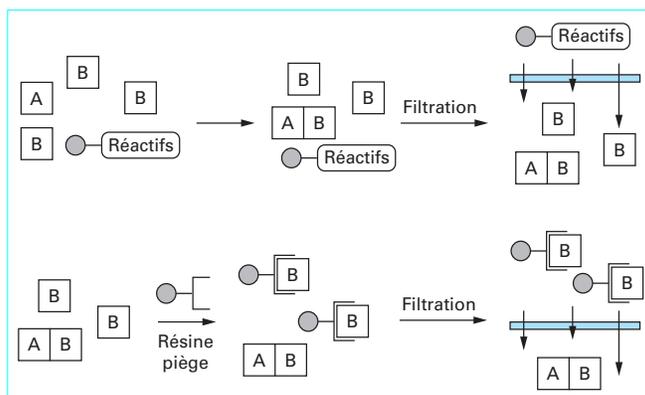


Figure 12 – Réactifs immobilisés sur support insoluble et résines pièges

point du protocole chimique peut être assez fastidieuse (temps d'optimisation des conditions), et la sélection des monomères dépendra en premier lieu de leur bonne réactivité. Par contre, une diversité beaucoup plus importante des monomères est disponible puisqu'il n'y a pas besoin qu'ils soient liés à un support *via* une deuxième fonction réactive. Si on considère les composés non oligomériques, la synthèse en phase homogène conduit en général à des chimiothèques de taille plus importante que celles issues de la synthèse en phase solide, en des temps souvent plus courts puisqu'il n'y a pas besoin de longues étapes de lavage qui rallongent beaucoup le processus de synthèse.

Le besoin de produits de plus en plus purs a conduit au développement de **nouvelles techniques de purification** pour éviter la présence de produits secondaires gênants. Les plus intéressantes restent l'utilisation de réactifs fixés sur résine ou de résines piégeant les fonctions réactives. Il s'agit en fait d'inverser le concept de la synthèse sur support solide : les monomères seront tous en solution et seuls les réactifs seront fixés sur le support solide (figure 12). Ainsi, le réactif que l'on pourra mettre en excès sera éliminé par une étape de filtration. Il est aussi possible d'utiliser une résine possédant

une fonction réactive qui va piéger un excès de monomère, par exemple une résine isocyanate pour éliminer un excès de nucléophile, ou une résine basique pour des excès d'acides. Il faut cependant s'assurer qu'aucune des molécules produites ne possède la fonction qui est piégée, et c'est souvent au détriment de la diversité de la chimiothèque.

Des méthodes d'extractions sont aussi utilisées, en particulier à l'aide de solvants fluorés. Un des monomères est d'abord fonctionnalisé par un groupe perfluoré. La réaction est menée dans des conditions classiques en phase homogène, puis est ajouté un solvant fluorocarboné non miscible avec la plupart des solvants. Grâce à la présence du groupe fluoré, le produit de la réaction passe préférentiellement dans la phase fluorée sans entraîner les sous-produits. Une étape de clivage permet ensuite de récupérer la molécule pure. Dans la même idée, un polymère polyéthylène glycol monométhyl éther peut être fixé sur la molécule pour permettre sa précipitation facile en fin de synthèse.

Ces processus de purification ont le désavantage de ralentir les cadences de synthèse en phase homogène, mais conduisent à des meilleurs résultats quant à la pureté des produits.

Commercialement, on trouve des bibliothèques de plusieurs milliers de composés synthétisés en solution en une ou deux étapes. La majorité de ces produits sont linéaires ou proviennent de décorations de squelettes. D'un autre côté, pour des coûts au produit généralement plus élevés (dus à la résine utilisée, aux volumes de solvant nécessaire pour les lavages...), sont proposées des chimiothèques multi-étapes produites en phase solide.

## 4. Chimie

Une réaction utilisable en chimie combinatoire doit répondre au moins à deux impératifs : la capacité d'introduire une variété de groupes fonctionnels, au minimum à deux endroits, et des mécanismes réactionnels sans équivoque.

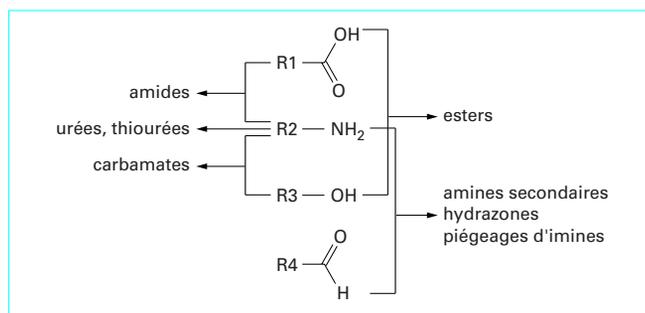


Figure 13 – Combinaison avec 4 types de monomères

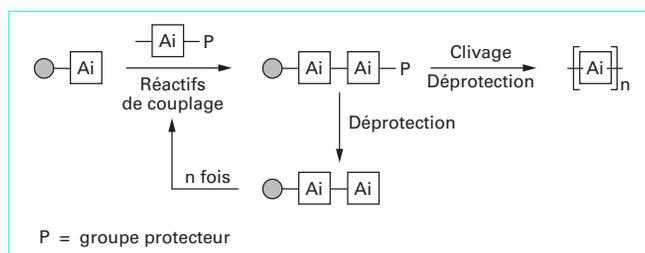


Figure 14 – Principe de l'oligomérisation

## 4.1 Les différents types de chimiothèques

L'application, facile à mettre en œuvre, de la chimie combinatoire à la synthèse de peptides, d'oligonucléotides et autres biopolymères linéaires n'a pas été très convaincante pour la découverte de nouveaux médicaments potentiels du fait de résorption rapide en milieu biologique. L'orientation générale va plutôt vers la **synthèse d'analogues plus résistants biologiquement et de petites molécules organiques plus adaptées à leur utilisation en tant que médicaments**.

### 4.1.1 Dimérisation

La dimérisation constitue le procédé le plus simple pour synthétiser un grand nombre de molécules. Elle consiste à faire réagir deux familles très peuplées de monomères. Si on considère uniquement les amines, les acides, les alcools et les aldéhydes, plusieurs combinaisons intéressantes sont déjà possibles (figure 13). Ainsi, il est tout à fait envisageable de synthétiser une banque d'un million d'amides à partir de mille amines et mille acides. C'est ce type de réaction chimique qui engendrera au final la plus grande diversité de chimiothèque puisque le lien créé est petit et sans interférence particulière avec un récepteur. Cependant il apparaît que plus l'ensemble des monomères sélectionnés pour une chimiothèque est divers, plus il implique une grande variété de réactivité, et donc il nécessite souvent la mise au point de différents protocoles chimiques adaptés à chaque comportement.

Le principe de dimérisation a conduit à la synthèse de larges chimiothèques d'amides, d'urées, de carbamates et d'amines secondaires.

### 4.1.2 Oligomérisation

Sur un principe itératif, la dimérisation peut être appliquée à des molécules bifonctionnelles monoprotégées pour obtenir des analogues de chaînes peptidiques *via* une répétition d'étapes de couplage

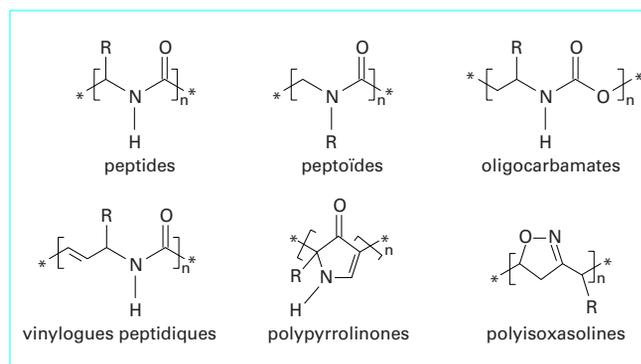


Figure 15 – Exemples d'oligomères

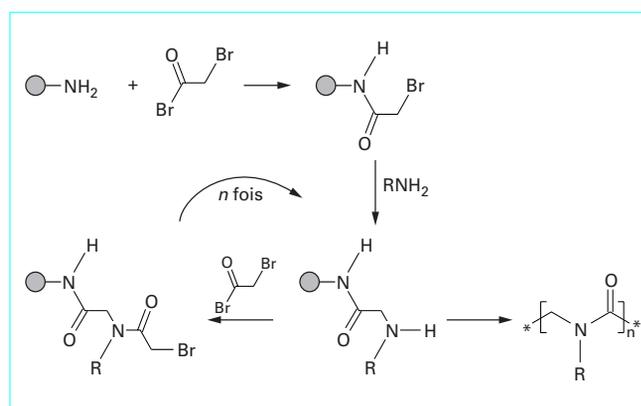


Figure 16 – Synthèse de peptoides

et de déprotection (figure 14). Puisque le nombre d'étapes chimiques nécessaires devient élevé, l'utilisation de la synthèse sur support solide devient obligatoire. Des synthèses de peptides, de peptoids, d'oligocarbamates, de peptides vinyllogues, de polypyrrolinones et de polyisoxasolines ont été réalisées par ce type de stratégie (figure 15).

Un exemple de synthèse de peptoides est donné sur la figure 16. Dans ce cas les oligomères sont engendrés uniquement à partir d'amines primaires qui jouent le rôle de bifonctionnel.

### 4.1.3 « Template »

L'idée du **template** (littéralement motif) est d'utiliser une molécule intéressante du point de vue pharmacologique, ou simplement du fait de sa structure, et de la « décorer » avec des familles de monomères pour utiliser leur diversité (figure 17). Dans cette catégorie, on trouve les **templates à réactivité masquée**, où la première réaction libère une nouvelle fonction réactive (cas des anhydrides), les **templates à réactivité orthogonale** dont les centres réactifs ne sont pas équivalents et réagissent selon des protocoles différents (cas des triazines), et les **templates protégés** où une étape de déprotection est nécessaire pour libérer un centre réactif (cas des Boc-aminoacides).

Il est aussi possible de former *in situ* le template intéressant à partir des monomères, comme c'est le cas pour des chimiothèques de benzodiazépines (figure 18).

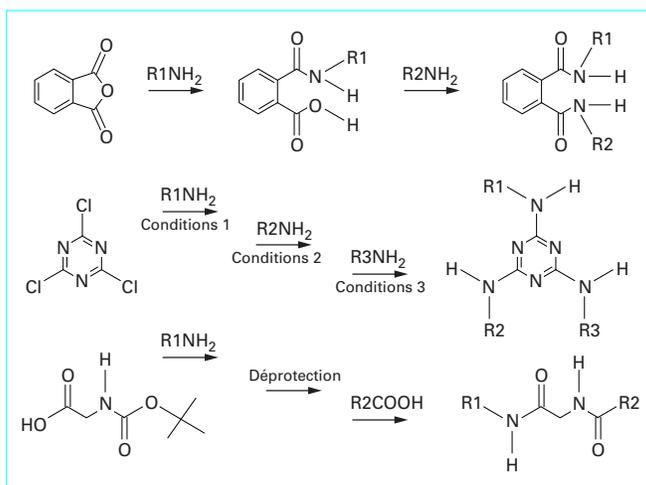


Figure 17 – Exemple de « template »

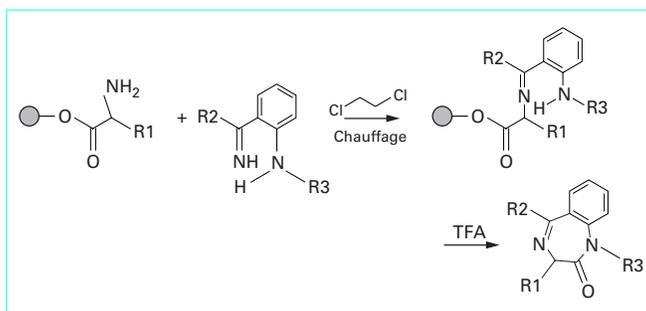


Figure 18 – Synthèse de benzodiazépines

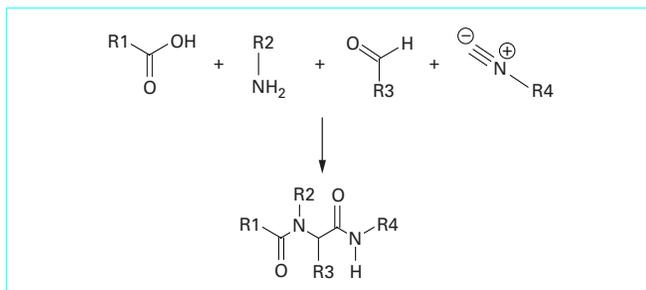


Figure 19 – Réaction de Ugi

#### 4.1.4 Condensations de plusieurs monomères

Un intérêt tout particulier est porté aux réactions impliquant plusieurs familles de monomères en même temps car elles permettent, en une étape et avec un nombre limité de monomères de départ, d'engendrer de larges chimiothèques originales. Elles valorisent ainsi les petites familles de monomères, souvent peu diverses. Il faut tout particulièrement citer les réactions de Ugi qui impliquent de 3 à 4 familles de monomères (figure 19) et qui engendrent des aminoacides N-acylés pouvant être transformés en esters ou en pyrrôle, ou encore des réactions de type Mannich et des piégeages d'imines.

## 4.2 Les différents types de réactions chimiques disponibles

Il est intéressant de faire un bilan sur les réactions chimiques actuellement disponibles en stratégie combinatoire. Les seules limitations apparentes sont des limitations d'ordre technique concernant les automates utilisés.

### 4.2.1 Bilan technologique

Deux gammes d'automates sont à différencier : les automates « de paillasse » qui sont capables de mener de quelques dizaines à une centaine de réactions en parallèle sur des synthèses de l'ordre d'une cinquantaine de milligrammes, et les « automates industriels » qui mènent en parallèle plusieurs milliers de synthèses dans des plaques de microtitration et dans des quantités de l'ordre du milligramme. Les premiers occupent environ 2 m<sup>2</sup> et fonctionnent via des logiciels conviviaux utilisables par tous. Ils sont dédiés à la mise au point de réactions et à la synthèse de petites chimiothèques. Ils sont capables de chauffer les réacteurs jusqu'à environ 150 °C et de les refroidir en moyenne vers -50 °C. Les étapes de filtration et de clivage sont automatiques. De nombreux appareils permettent de travailler en atmosphère contrôlée et de manipuler des réactifs particulièrement corrosifs. Ce sont des automates développés par des sociétés d'équipement de laboratoire en collaboration avec des sociétés pharmaceutiques, qui sont ensuite proposés sur le marché.

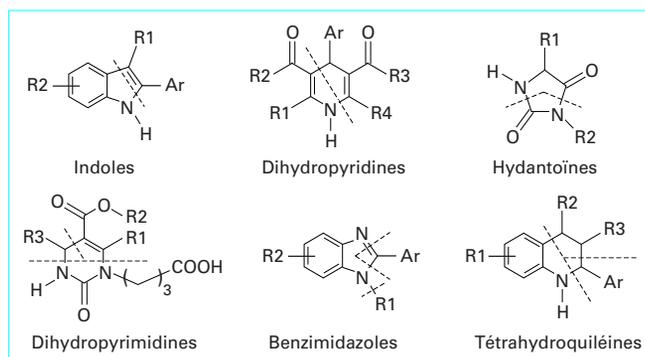
L'autre génération de robots consiste en des systèmes intégrés qui gèrent simultanément plusieurs automates dans une enceinte. Ils occupent en général une salle de plusieurs dizaines de mètres carrés dans le laboratoire. Leur programmation et leur utilisation doit être suivie par des spécialistes d'informatique et d'automatisme. Ils subissent les mêmes limitations chimiques que les automates de paillasse. En général, ces systèmes sont développés exclusivement pour une société. Ils sont souvent flexibles en vue du développement de nouvelles technologies. Pour les deux types de robots, il faut noter l'impossibilité de travailler directement avec des monomères ou des réactifs insolubles (qui ne peuvent pas être prélevés directement).

Les protocoles qui manquent aujourd'hui à la chimie combinatoire sont ceux qui impliquent ou des réactifs difficiles à manipuler (par exemple des magnésiens, BuLi, H<sub>2</sub>) ou des conditions extrêmes de température ou de pression.

### 4.2.2 Bilan chimique

Pour citer les exemples les plus souvent rencontrés dans la littérature, de nombreuses chimiothèques ont été synthétisées sur support solide via des réactions d'acylation (dont des formations d'urées, d'amides, d'esters, de carbamates, de sulfonamides et de guanidines), de substitution nucléophile aromatique, de condensation (dont des formations d'imines et des réactions de Knoevenagel), de cycloaddition (dont des additions 1,3-dipolaire, [2+2] ou de type Diels Alder), de réduction (dont des animations réductrices), de substitution nucléophile ou électrophile (dont des N-alkylations, S-alkylations et réactions de Mitsunobu), et des exemples d'additions de Michael, de réactions de Wittig, de Suzuki, de Heck, de Stille, et d'oxydations ainsi que des condensations de plusieurs monomères comme celles citées précédemment (§ 4.1.4). Une lacune actuelle est cependant le peu d'exemples de réactions stéréochimiquement contrôlées.

Puisque la majorité des médicaments actuellement sur le marché possèdent au moins un hétérocycle dans leur structure, il est dans les priorités des chercheurs d'appliquer à la chimie combinatoire des synthèses produisant ce type de molécules. On observe qu'en général la stratégie utilisée est la synthèse sur support solide qui permet d'utiliser de nombreux catalyseurs puis de s'en débarrasser



**Figure 20 - Exemples d'hétérocycles obtenus en chimie combinatoire (les pointillés séparent les différentes sources de diversité)**

lors d'étapes de filtration. Les exemples sont nombreux avec par exemple des synthèses d'indoles, de dihydropyridines, d'hydantoïnes, de dihydropyrimidines, de benzimidazoles ou de tétrahydroquinoléines (figure 20).

En phase homogène, les mêmes réactions sont envisageables, la limitation venant uniquement de critères de conversion, puisqu'on ne peut pas utiliser d'excès de monomère. C'est pourquoi il n'y a pas de réelle opposition entre les deux stratégies de synthèse : on observe que les sociétés mènent en parallèle des projets en phase homogène et en phase solide, la décision de la stratégie dépendant des automates disponibles, du type de réaction chimique (solvants, catalyseurs, température) et de la taille finale de la chimiothèque.

## 5. Analytique

Ainsi que les technologies robotiques, le domaine de l'analytique a connu de profonds changements grâce à la chimie combinatoire. Alors qu'en chimie classique, l'analyse d'un composé a lieu quand il est purifié, l'analyse en chimie combinatoire doit démontrer avant la purification que le produit est présent dans le milieu réactionnel. Le débit d'analyse doit être élevé puisqu'il s'agit de caractériser plusieurs centaines de produits par jour.

La technique la plus appropriée qui a retenu l'attention des sociétés est la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC/MS). Grâce à de petites colonnes haute pression (d'une longueur de 5 cm contre les classiques de 15 à 20 cm), la chromatographie en phase liquide permet en 5 minutes environ l'analyse en pureté d'un milieu réactionnel. La chromatographie supercritique, qui utilise de nouvelles phases mobiles (méthanol et CO<sub>2</sub> liquide), permet quant à elle de réduire le temps d'analyse à environ une minute. Le spectromètre de masse, utilisé comme détecteur en ligne, donne ensuite l'information d'identité du produit. Certains appareils de ce type sont commercialisés spécialement pour des activités de chimie combinatoire, avec des logiciels de retraitement adaptés au débit d'analyses. La spectrométrie de masse est aussi utilisée en flux continu, *ie* sans séparation préalable par chromatographie. Cette technique peut permettre l'analyse quantitative de près d'un millier d'échantillons par jour, contre environ 200 pour les systèmes couplés.

Pour évaluer la pureté des composés, la détection la plus utilisée reste l'U.V. L'interprétation du contrôle qualité est très dépendante des propriétés d'absorption des molécules synthétisées. De nouveaux systèmes plus généraux sont apparus, dont le ELSD (evaporative light-scattering detection) qui mesure, après évaporation du solvant, la déviation de lumière due au produit nébulisé. Bien que l'analyse de composés volatils soit impossible avec cette technique,

ce détecteur est supposé produire des chromatogrammes dont les intégrations de pics sont proportionnelles à la quantité de produit.

Il existe des appareils automatiques HPLC couplés à la RMN (résonance magnétique nucléaire), qui permettent d'obtenir en trois minutes environ le spectre d'un produit prélevé directement dans une plaque 96-puits. Même si l'analyse RMN donne la certitude de la structure synthétisée, il paraît cependant difficile de généraliser son utilisation dans le cadre d'un contrôle qualité intensif de chimiothèque à cause du temps d'interprétation des spectres.

La chimie combinatoire requiert aussi des systèmes de purification rapides et automatisés. Il existe des automates LC/MS préparatifs qui sont capables de reconnaître, grâce à l'information de la masse, les fractions devant être collectées. Ils permettent de purifier plusieurs dizaines de milieux réactionnels en une journée. Des systèmes automatiques ou semi-automatiques comparables en chromatographie éclair sont aussi disponibles, ainsi que des systèmes d'extractions liquide/liquide automatisés.

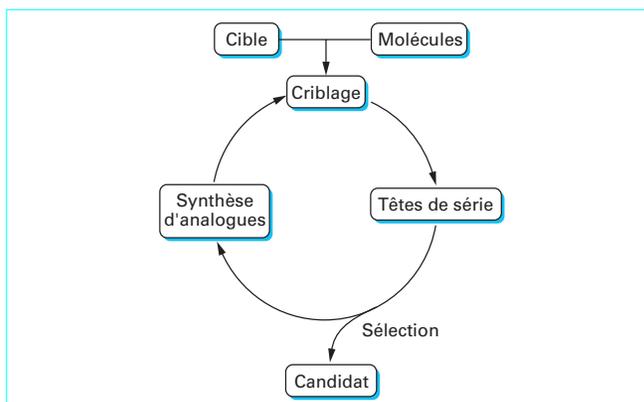
Précisons enfin que des techniques d'analyse dédiées à la synthèse sur support solide ont été développées, dans le but de s'affranchir du clivage pour le contrôle de l'état d'avancement de la réaction. On citera tout particulièrement les méthodes RMN MAS (Magic Angle Spinning) et I.R. à transformée de Fourier, qui présentent l'avantage d'être des méthodes d'analyse non destructives.

## 6. Diversité

Comme nous l'avons vu dans le début de l'article, la chimie combinatoire peut permettre en un temps restreint de produire des milliers de molécules. Puisque toutes les combinaisons de grandes familles de monomères sont *a priori* possibles, la question est de choisir judicieusement quels composés synthétiser. Les tailles gigantesques des premières bibliothèques peptidiques en mélange (plusieurs dizaines de millions de composés) ont montré qu'il n'était pas suffisant de faire un grand nombre de molécules pour trouver des candidats médicaments. Ces bibliothèques souffraient du manque de diversité.

La diversité d'un ensemble de molécules est calculée par comparaison des propriétés de chacune d'entre elles, ces propriétés étant le plus souvent la nature des groupes fonctionnels et leur position respective. Autant la diversité est facile à évaluer sur un petit ensemble de composés, autant le problème est difficile à gérer à l'échelle de la chimie combinatoire, qui nécessite de comparer des listes contenant des milliers de monomères, voire des chimiothèques de dizaines de milliers de produits. Le recours aux moyens informatiques *via* la modélisation moléculaire est donc nécessaire.

Il est long et coûteux (en moyens informatiques et en temps de calcul) de comparer les représentations classiques des molécules (2D ou pire, 3D). Pour cette raison, l'**analyse structurale de grandes séries de composés** se fait généralement au moyen de **descripteurs numériques** qui contiennent de manière condensée certains éléments structuraux caractéristiques de chaque molécule. Ces représentations mathématiques des molécules sont alors beaucoup plus faciles à comparer informatiquement. La stratégie la plus répandue consiste à engendrer un ensemble de conformations représentatives de la molécule puis à localiser sur chaque conformation les pharmacophores, c'est-à-dire les groupes fonctionnels susceptibles d'interagir chimiquement avec un récepteur : groupes donneurs d'hydrogène, groupes accepteurs d'hydrogène, charges positives, charges négatives, noyaux aromatiques ou groupes aliphatiques. Des calculs de distances entre pharmacophores permettent de produire une « empreinte » de la molécule, qui peut être une matrice de chiffres, une courbe ou tout autre représentation mathématique. Les empreintes sont ensuite comparées *via* l'informatique pour déterminer des indices de similarité, et chaque information est pondérée suivant son importance. Ces pondérations sont déterminées grâce à des groupes de molécules d'apprentissage et à un algorithme spéci-



**Figure 21 – Schéma classique de processus de découverte de nouveaux médicaments**

Les comparaisons de molécules permettent ainsi de faire une sélection rapide des monomères qu'il faut introduire dans une chimiothèque pour maximiser sa diversité globale (dans le cas d'une chimiothèque primaire) ou pour au contraire synthétiser des analogues structuraux (cas d'une chimiothèque focalisée destinée à améliorer l'activité d'une tête de série – voir § 7).

D'autre part, ces méthodes donnent la possibilité d'engendrer virtuellement des banques immenses issues du couplage de tous les monomères disponibles par les méthodes de synthèse maîtrisées. On peut alors rechercher dans cette chimiothèque virtuelle des éléments pharmacophoriques préalablement définis. C'est ce qu'on appelle le **criblage virtuel**.

## 7. Processus de découverte d'un nouveau médicament

La chimie combinatoire est un outil puissant mais qui peut se révéler peu productif s'il n'est pas **intégré dans le processus de découverte de nouveaux médicaments**. En effet, nous avons vu dans le cas des chimiothèques de peptides qu'il ne s'agit pas seulement de synthétiser des millions de molécules pour trouver des têtes de série. Ainsi, la chimie combinatoire doit s'adapter aux programmes de recherche en partant de la constatation que moins on a d'information sur la cible à cribler, plus la diversité requise pour la chimiothèque et le nombre de molécules à synthétiser seront grands.

Il apparaît que la **chimie combinatoire**, le **screening à haut débit** et la **modélisation moléculaire** ont réellement accéléré les étapes précoces de la découverte de médicaments, bien qu'ils n'aient pas fondamentalement modifié son processus global (figure 21). Dans ce processus, un ensemble de molécules, dont le nombre dépend des informations disponibles sur la cible, est criblé dans le but de trouver des têtes de série. Celles-ci sont ensuite optimisées de manière itérative par la synthèse et le criblage d'analogues de plus en plus actifs jusqu'à ce que la molécule ait une affinité suffisante pour les étapes suivantes (toxicologie, pharmacocinétique, phases cliniques).

Le principal apport des nouvelles technologies est de rationaliser le processus et de l'accélérer grâce à des outils aidant à la sélection des têtes de série (figure 22). Ainsi, le point de départ du cycle est en général le criblage d'une chimiothèque très diverse engendrée sur la base de calculs de diversité issus de la modélisation moléculaire. On les appelle des **chimiothèques généralistes** ou **chimiothèques primaires**. Le criblage à haut débit permet d'identifier rapidement des têtes de série. Grâce à une caractérisation biologique à

haut débit, on peut prédire leur comportement *in vivo* pour sélectionner les molécules qui présenteront le moins de risque d'échec lors des phases ultérieures de développement. En particulier, le profil consiste à cribler les têtes de série sur un ensemble représentatif de récepteurs (environ une centaine) pour avoir une idée de leur sélectivité. L'idée est qu'une molécule présentant un effet secondaire quelconque a de grandes chances de conduire à des analogues présentant le même effet indésirable. C'est pourquoi la caractérisation biologique est introduite très tôt dans le processus pour éliminer rapidement des pistes vouées à l'échec. Les têtes de série sélectionnées sont ensuite soumises à des comparaisons structurales *via* la modélisation moléculaire pour engendrer des analogues qui seront synthétisés dans le cadre d'une ou plusieurs nouvelles chimiothèques, appelées **chimiothèques focalisées**. Ces dernières ne seront pas diverses, puisqu'elles ont pour but d'augmenter l'affinité du ligand par de petites modifications structurales. Les chimiothèques focalisées sont criblées pour identifier des têtes de série plus actives, et le cycle continue si les conditions requises pour un candidat ne sont pas atteintes.

Les nouvelles technologies permettent donc non seulement d'accélérer les étapes précédant les phases cliniques, mais aussi par la systématisation d'explorer entièrement les possibilités offertes par une tête de série.

## 8. Bilan biologique des techniques combinatoires

À l'heure actuelle, aucun médicament issu de la chimie combinatoire n'a été mis sur le marché. Les premières expériences en chimie combinatoire remontant à 1991, la technique est encore trop « jeune » si l'on considère que le processus complet de découverte d'un nouveau médicament prend en moyenne dix ans. Cependant, le bilan est encourageant. La compagnie américaine Eli Lilly possède un composé issu de la chimie combinatoire en développement clinique avancé, agissant sur le système nerveux central (traitement de la migraine). Plusieurs autres sociétés ont des produits en phase I, découverts par les techniques d'optimisation de tête de série, *via* des banques focalisées. Entre autres, Houghten Pharmaceutical a développé un agent de régulation de la cytokine pour lutter contre le cancer, l'obésité et les diabètes non insulino-dépendants. La société Neurogen a identifié un antagoniste de NPY1, neuropeptide impliqué dans l'obésité, grâce aux techniques de chimie combinatoire intégrées dans le processus classique de chimie médicinale. Le produit est actuellement en développement clinique, la phase pré-clinique n'ayant duré que deux ans et demi (Avril 1993 : premiers tests de molécules/Octobre 1993 : dix têtes de série identifiées et confirmées/Avril 1994 : 50 composés à activité submicromolaire produits/Janvier 1995 : sélection d'un candidat pour le développement clinique (NGD 95-1)/Décembre 1995 : dossier I.N.D. enregistré).

Les chercheurs de Pharmacoepia Inc. ont identifié des inhibiteurs d'aspartyl protéases, à partir d'une banque de 32 000 produits synthétisée sur phase solide par décoration d'une structure de type statine et identification des molécules par « tags ». La société Novartis a décrit la découverte parmi plus de 3 millions de composés synthétisés sur phase solide d'un oligomère inhibant une interaction décisive dans le cycle de vie du HIV, stoppant sa prolifération. La tête de série qui agit *in vitro* dans des concentrations de l'ordre du nanomolaire est actuellement optimisée pour augmenter son activité en milieu biologique. La compagnie Isis Pharmaceuticals Inc. possède un candidat médicament anti-SIDA découvert *via* la chimie combinatoire, prêt à entrer en phases cliniques.

On peut donc prévoir que dans un an ou deux, les différentes techniques de chimie combinatoire auront prouvé leur efficacité par la découverte et la mise sur le marché d'un médicament original.

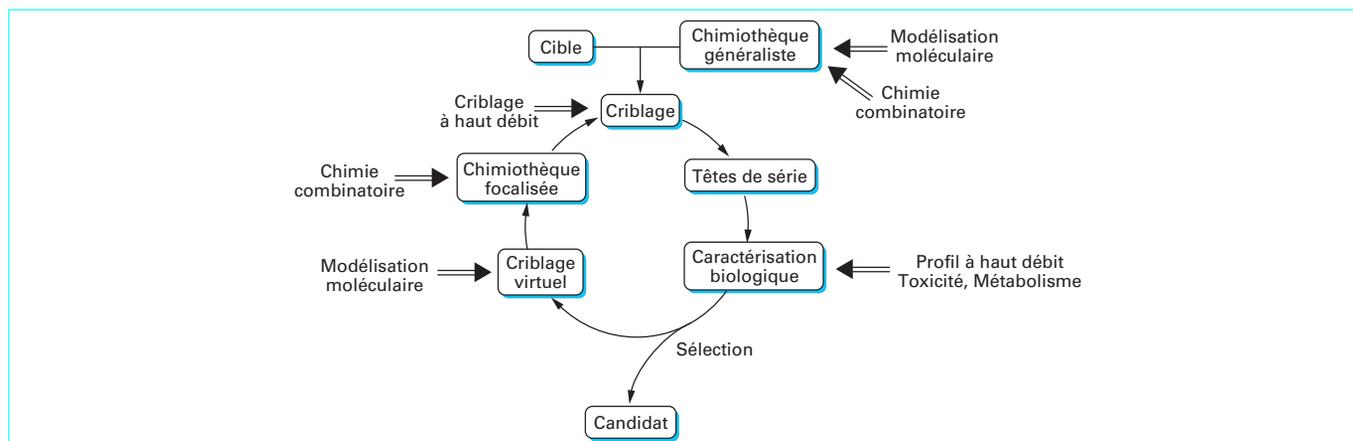


Figure 22 – Les nouvelles technologies dans le processus de découverte de nouveaux médicaments

## 9. Autres domaines d'application

Même si la pharmacologie reste le domaine où la chimie combinatoire a eu le plus d'impact, quelques expériences très concluantes dans d'autres secteurs d'activité laissent présager un potentiel non négligeable pour la recherche d'autres types de composés.

### 9.1 Biologie combinatoire

Des chimiothèques combinatoires peuvent être engendrées par des moyens biologiques. Des enzymes ou des microbes sont utilisés pour la synthèse de banques, ce qui permet de bénéficier de la sélectivité chimique des processus biologiques. Des banques de produits naturels diverses ou focalisées ont été engendrées *via* des bactéries. Des gènes manipulés sont transférés dans les microorganismes de manière à ce que chaque entité reçoive un ensemble d'instructions génétiques distinct. Les bactéries prolifèrent et expriment les gènes, produisant des banques de produits naturels originaux.

### 9.2 Applications aux matériaux

De nouveaux matériaux aux propriétés électroniques, magnétiques ou optiques originales ont été découverts par des techniques combinatoires. Le principe est de déposer sur un disque d'une quin-

zaine de centimètres de diamètre de fines couches successives de différents métaux pour obtenir, grâce à un jeu de masques orthogonal, jusqu'à 25 000 **alliages** différents, tous localisés précisément sur le support. Un nouveau composé fluorescent pouvant avoir des applications intéressantes pour les écrans d'ordinateurs a été ainsi identifié.

La combinatoire a aussi été appliquée à la recherche de nouveaux **catalyseurs**. Une banque de polyoxométaux a été préparée en synthèse parallèle et testée pour évaluer leur capacité à catalyser l'oxydation de tétrahydrothiophènes, qui requiert de hautes températures et de fortes pressions. Un catalyseur a été identifié, utilisant des conditions plus douces que les méthodes classiques.

## 10. Conclusion

La chimie combinatoire est un domaine en plein essor qui entraîne de nombreuses évolutions au niveau de la recherche de **nouveaux médicaments**. Les cadences de production impliquent le développement de nouveaux procédés robotiques (miniaturisation) et analytiques (caractérisation et purification à haut débit). L'identification d'un nombre sans cesse croissant de têtes de série conduit à perfectionner les outils permettant d'écartier rapidement les candidats qui échoueront lors des phases cliniques. La modélisation moléculaire, le profil et les études toxicologiques sont ainsi intégrés très tôt dans le processus. Cette rationalisation des différentes étapes de la chimie médicinale classique permet en outre d'engendrer une masse importante de données qui permettra sans doute une meilleure compréhension des **mécanismes biologiques**.

## Références bibliographiques

- [1] BUNIN (B.A.). – *The Combinatorial Index* (Index de la chimie combinatoire). 322 p. - 1998 - Academic Press, 525 B Street, Suite 1900, San Diego, California 92101-4495, USA.
- [2] PETSKO (G.A.), VERDINE (G.L.), BROACH (J.R.), THORNER (J.), HOGAN (J.C.), MATTEUCCI (M.D.), WAGNER (R.W.) et BLUNDELL (T.L.). – *Intelligent Drug Design* (Chimie médicinale intelligente). *Nature Supplément au volume 384*, 7 novembre 1996, p. 1 à 26.
- [3] BORMAN (S.). – *Combinatorial Chemistry* (Chimie Combinatoire). *Chemical & Engineering News*, 24 février 1997, p. 43 à 62.
- [4] BORMAN (S.). – *Combinatorial Chemistry* (Chimie Combinatoire). *Chemical & Engineering News*, 6 avril 1998, p. 47 à 67.
- [5] PATEL (D.V.) et GORDON (E.M.). – *Applications of Small-Molecule Combinatorial Chemistry to Drug Discovery* (Application de la synthèse combinatoire de petites molécules à la recherche de médicaments). *Drug Discovery Today* 1, n° 4, avril 1996, p. 134 à 144.
- [6] STORER (R.). – *Solution-Phase Synthesis in Combinatorial Chemistry: Applications in Drug Discovery* (Application de la synthèse combinatoire en phase homogène à la recherche de médicaments). *Drug Discovery Today* 1, n° 6, juin 1996, p. 248 à 254.
- [7] GALLOP (M.A.), BARRET (R.W.), DOWER (W.J.), FODOR (S.P.A.) et GORDON (E.M.). – *Applications of Combinatorial Technologies to Drug Discovery*. (Applications des techniques combinatoires à la recherche de médicaments). *Journal of Medicinal Chemistry* 37, n° 9, avril 1994, p. 1233 à 1251 et p. 1385 à 1401.