

Chimie fine et pharmacie

Gérard Guillaumot est directeur scientifique dans l'entreprise pharmaceutique Seqens¹.

Afin d'illustrer la contribution des sociétés de chimie fine au développement des molécules actives et de montrer comment elles participent à la chaîne de valeurs du médicament aujourd'hui, remettons tout d'abord le marché pharmaceutique dans son contexte, avant d'expliciter quatre expertises typiques du travail des sociétés de chimie fine.

1 Contexte général

1.1. Contexte  conomique

Le marché pharmaceutique mondial est un marché de 1 000 milliards d'euros en 2018. Les principes actifs représentent environ 7 % de cette somme, soit 82 milliards, dont 75 sur les petites molécules inférieures à 1 000 daltons², avec une croissance

annuelle de 6 à 7 %. Les entités biologiques représentent aujourd'hui 7 milliards d'euros avec une croissance plus importante.

Les sociétés communément appelées CRO³ (« *Contract Research Organization* ») s'occupent des « phases amont » de la caractérisation ( valuation, toxicologie) et représentent 50 % des capacités nécessaires et qui sont sous-traitées par les sociétés pharmaceutiques. Les CDMO⁴ (« *Chemical Development Manufacturing Organization* ») comme Seqens, plutôt présentes sur les phases aval, ne représentent que 25 % des capacités sous-traitées par ces mêmes sociétés.

3. CRO : « *Contract Research Organization* », soit société de recherche contractuelle, entreprise qui fournit ses services dans le domaine de la recherche biomédicale.

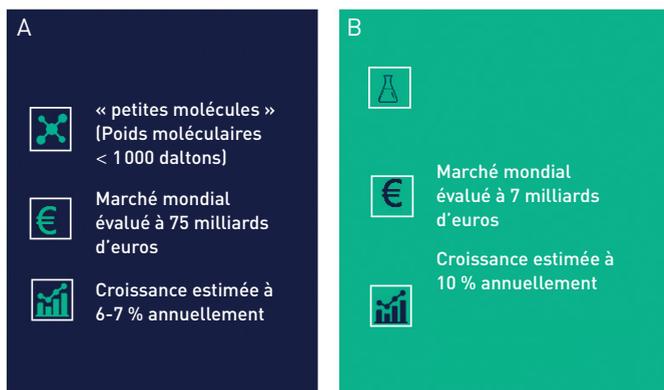
4. CDMO : entreprise sous-traitante ou d'externalisation dans la fabrication de produits pharmaceutiques.

1. www.seqens.com/fr/

2. Dalton : unité de masse atomique utilisée en biologie, correspondant environ à 1 g/mol.

Figure 1

Contexte économique des entreprises de chimie fine sur le développement et la production de matières premières spécifiques, d'intermédiaires avancés et de principes actifs : A) petites molécules ; B) entités biologiques.



Un rappel pour bien se représenter la taille relative des entités moléculaires thérapeutiques : les « petites molécules thérapeutiques » sont inférieures à 1 000 daltons, les polypeptides inférieurs à 5 000, les fragments d'anticorps à 25 000, les protéines enzymatiques de 50 000 à 100 000 daltons et les anticorps monoclonaux⁵ sont supérieurs à 100 000 daltons. Seqens est actif sur la partie verte de la *Figure 1* : les petites molécules thérapeutiques et les protéines enzymatiques.

1.2. Contexte scientifique

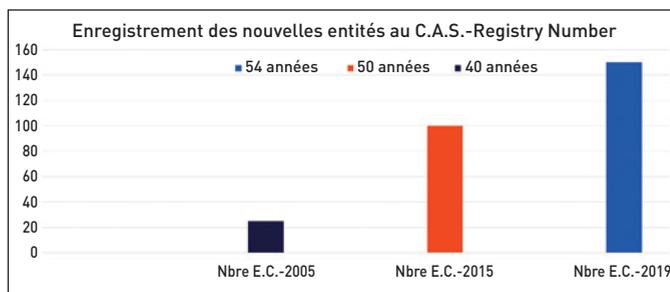
Début 2019, date historique, la 150 000 000^e structure a été enregistrée par le Chemical Abstract de l'American Chemical Society (*Figure 2*), l'institution qui donne un numéro à chaque molécule nouvelle identifiée (base de données C.A.S.-R.N.). De 1962 à 2005, 25 millions de molécules ont ainsi été enregistrées. De 2005 à 2015, 75 millions ont été rajoutées, ce qui est considérable. Et de 2015 à 2019, il y a encore eu 50 millions de molécules de plus d'inventoriées, et cette tendance va encore s'accroître.

La *Figure 3* donne une molécule dont Seqens est le premier producteur mondial, la molécule d'aspirine, qui a été la première molécule active découverte et isolée ; plus

5. Anticorps monoclonal (ou MAB, « *monoclonal antibody* » en anglais) : anticorps reconnaissant le même antigène créé par une même lignée de lymphocytes B.

Figure 2

Évolution de l'enregistrement des molécules de synthèse dans la Base de données du Chemical Abstract (C.A.S.-R.N.).



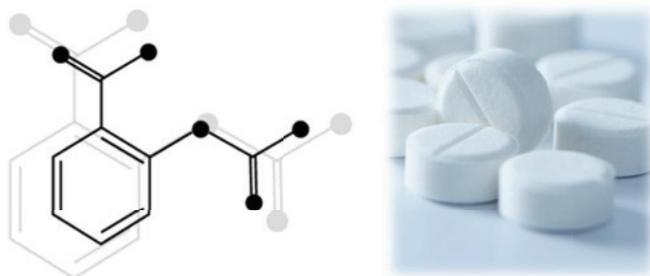


Figure 3

Molécule d'aspirine (acide acétylsalicylique).

précisément découverte en 1829, synthétisée en 1853 et obtenue industriellement en 1897. Il a donc fallu quarante ans pour qu'elle soit industrialisée. La consommation française, aujourd'hui, est de 1 500 tonnes par an.

Sur la **Figure 4** est représentée la molécule d'insuline⁶. Elle est constituée d'un

enchaînement d'acides aminés, deux chaînes polypeptidiques liées par des liaisons (des ponts disulfure⁷). Cette molécule est trente fois plus grosse que l'aspirine. Ici, il s'agit de l'insuline humaine ; il existe de nombreuses autres insulines qui sont toutes distinguées dans les bases de données par un identifiant propre.

6. Insuline : hormone protéique créée dans le pancréas qui favorise l'absorption du sucre (glucose) dans le sang.

7. Pont disulfure : liaison entre deux atomes de soufre (-S-S-).

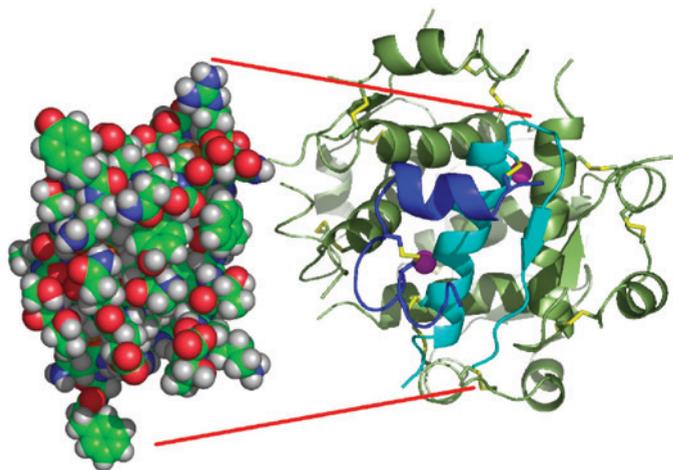


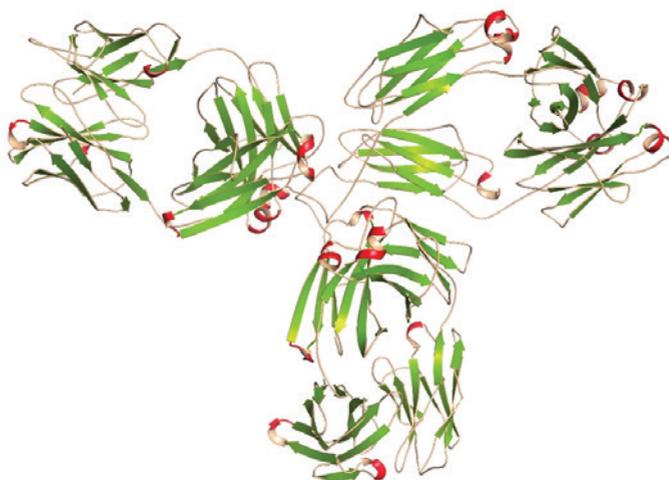
Figure 4

Représentation spatiale de l'insuline humaine.

Source : Wikipédia, licence cc-by-2.5, Isaac Yonemoto.

Figure 5

Représentation spatiale
d'un anticorps monoclonal
(« KEYTRUDA », 149 000 Da).



La **Figure 5** donne un exemple d'anticorps monoclonal qui comprend plusieurs chaînes protéiques. C'est encore trente fois plus gros que l'insuline donc neuf cents fois plus gros que l'aspirine. On peut concevoir qu'une telle molécule puisse traverser les membranes cellulaires et pénétrer dans les cellules.

2 Comparaison des exemples actuels et passés

La société Seqens (**Encart : « Seqens, en quelques chiffres »**) a acquis au fil des ans quatre expertises typiques de son métier : la chimie enzymatique, la chimie en flux, l'étude des formes solides et le développement de méthodes analytiques.

2.1. La chimie enzymatique

La chimie enzymatique a considérablement évolué en cinquante ans. En 1987 à titre d'exemple, la résolution de l'hydroxyméthylbenzodioxane

avait été réalisée au laboratoire, et cette molécule servait à cibler les récepteurs de la sérotonine⁸ (**Figure 7**). À l'époque, on accédait uniquement à des enzymes commercialement disponibles. Ces enzymes étaient essentiellement efficaces dans des milieux aqueux et avec une limitation de température à 40 °C.

Cela nous a amenés par la suite, dans les années 2000-2005, à acquérir une société de biotechnologies française, Proteus, basée à Nîmes, spécialisée dans les micro-organismes extrémophiles et disposant d'une large gamme de protéines catalytiques. Cela nous donnait également accès aux techniques de criblage à haut débit⁹ pour obtenir les meilleurs clones possibles (**Figure 8**). De plus, la possibilité d'utiliser des

8. Sérotonine : neurotransmetteur dans le système nerveux central.

9. Criblage à haut débit : technique combinatoire, souvent automatisée, visant réaliser la synthèse de grandes quantités de molécules en même temps.

SEQENS, EN QUELQUES CHIFFRES

Seqens (**Figure 6**) est une CDMO, 3 200 collaborateurs, 1 milliard de chiffre d'affaires, 1 000 clients sur trois continents (en Asie, en Europe et au Canada) et 300 scientifiques.



Figure 6

Seqens dans le monde.

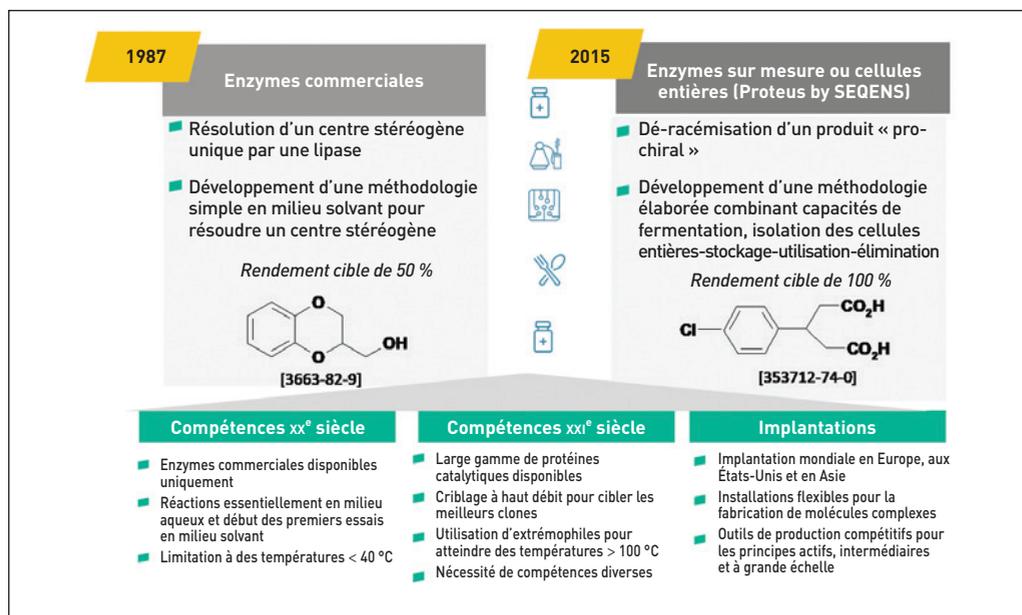


Figure 7

Histoire de la chimie enzymatique dans le secteur de la pharmacologie et évolution des rendements de production.



Figure 8

Le criblage à haut débit permet de tester une large gamme de variants permettant de cibler le plus actif.

Source : Proteus, Nîmes.

micro-organismes extrêmophiles donnait accès à des systèmes enzymatiques opérant à des températures supérieures à 100 °C, ce qui nous a permis de cibler le précurseur du baclofène¹⁰ avec un rendement de 100 % grâce à la présence d'un carbone prochiral¹¹ dans la structure d'un précurseur de cette molécule.

La **Figure 8** montre, à titre d'exemple, des plaques à 96 puits qui permettent de faire du criblage avec différentes protéines et de localiser les clones les plus actifs, mis en évidence par une réaction colorimétrique.

2.2. La chimie en flux (fluidique)

Une deuxième expertise qui se développe aujourd'hui est la chimie en flux¹² (**Figure 9**). Notre première expérience date de 1988, où il s'agissait de travailler sur un

réarrangement de type Claisen [3,3]¹³, une réaction qui dégageait tant de chaleur qu'on était incapable de la mener au-delà de 50 ou 100 grammes faute de savoir évacuer les calories produites. Le problème avait été résolu, à l'époque, en réalisant un montage artisanal et en réalisant la mise au point par une approche méthodologique de type « essai-erreur ». Début 2019, un appareil commercial a été acheté pour faire ce qu'on appelle de la « flow » (la fluide), « *flow chemical* » ou « *flow synthesis* », une technique qui nous permet de réaliser des réactions qui avaient été jusque-là sous-traitées en Asie sur les vingt à trente dernières années. Ces réactions, notamment de dimérisation¹⁴, de nitration¹⁵, de réduction, aujourd'hui, peuvent désormais être reprises dans nos usines françaises. Les techniques de « flow » permettent d'atteindre des pressions et

10. Baclofène : molécule ayant un effet myorelaxant c'est-à-dire un effet de relaxation musculaire.

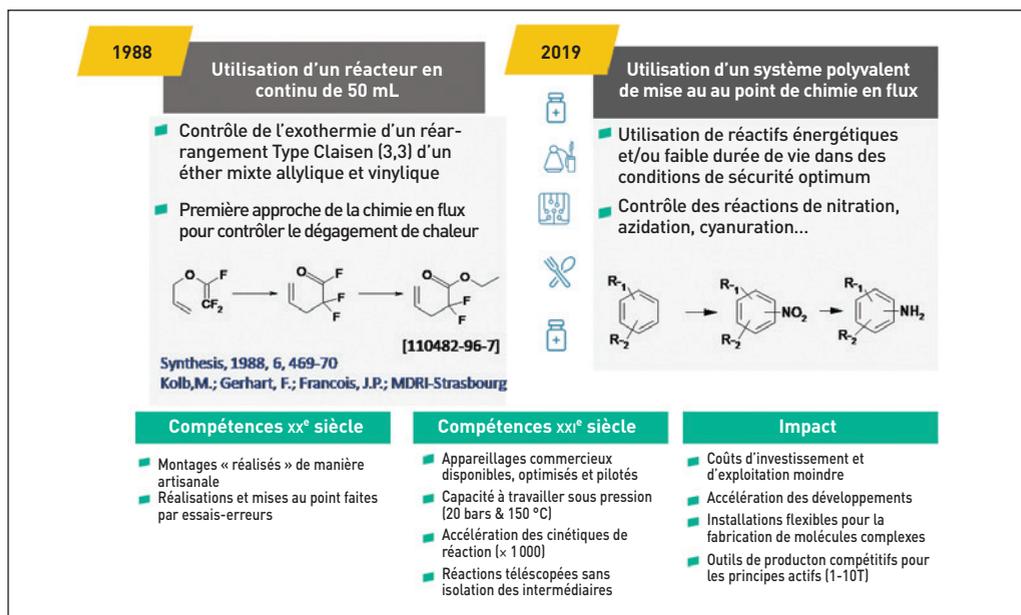
11. Carbone prochiral : carbone achiral pouvant être converti en carbone chiral en une seule étape de réaction chimique.

12. Chimie en flux : utilisation d'installations permettant de réaliser des réactions chimiques en continu sans utiliser des réacteurs fermés.

13. Réarrangement de Claisen : réaction chimique faisant intervenir des alcènes et conduisant à la formation d'une liaison carbone-carbone.

14. Dimérisation : production d'un polymère (ici avec deux motifs répétitifs) à partir de deux monomères (motifs) différents.

15. Nitration : réaction permettant d'introduire un ou plusieurs groupements nitro (-NO₂) dans une molécule.



des températures importantes (20 bars/150 °C), ce qui conduit à des accélérations de cinétiques d'un facteur 1 000.

La **Figure 10A** montre un montage tel qu'on en faisait en 1992. En l'occurrence, c'est un montage pour faire de l'ozonolyse¹⁶. Pour comparaison, le type d'appareil utilisé en 2019 qui est maintenant disponible commercialement et qui est devenu commun dans les sociétés de chimie fine : **Figure 10B**. Pour illustrer le progrès accompli : dans un réacteur industriel, il n'est pas rare de voir des temps de 10 heures de réaction, pendant lesquelles le réactif réagit avec un substrat. Grâce aux technologies de « flow », il est possible de réaliser la même réaction en 36 secondes. Les

conséquences sont fondamentales et il en résulte des possibilités démultipliées pour la chimie fine d'aujourd'hui.

2.3. L'étude des formes solides

La plupart des médicaments ou des principes actifs

Figure 9

La chimie en flux a connu des progrès considérables depuis une trentaine d'années (comparaison 1988-2019).

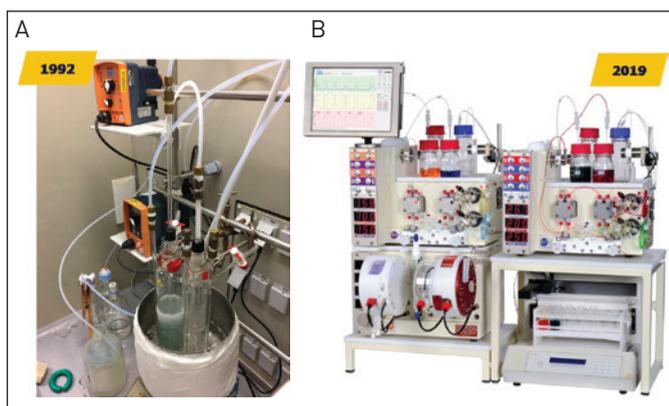


Figure 10

Pour la chimie en flux, nous sommes passés d'un montage dédié (A) à une unité flexible multi-réactionnelle (B) (comparaison 1992-2019).

Source : B) www.vapourtec.com/

16. Réaction chimique faisant intervenir de l'ozone (O₃) et permettant d'oxyder un alcène et ainsi produire deux fonctions carbonyle (C=O).

commercialisés sont des formes solides (Figure 11). Dans les années 1990, ces formes solides étaient caractérisées par une approche classique : mesure des points de fusion, et présence de solvates ou d'hydrates, la forme cristalline était observée au microscope optique. Mais en 1998, il y a eu un problème grave de polymorphisme¹⁷ sur un médicament antisida, le Ritonavir. La société productrice a ainsi dû retirer l'ensemble de sa production du marché car les profils de dissolution n'étaient plus les mêmes et l'efficacité du médicament n'était plus la même dans les conditions habituelles d'administration.

Maintenant, en 2019, les caractérisations des formes

solides sont considérablement plus approfondies. On regarde la taille des cristaux, le polymorphisme, la filtrabilité, la microscopie électronique à balayage¹⁸, la diffraction X¹⁹ sur les poudres et les analyses thermogravimétriques²⁰ sont devenus des méthodes de routine.

Sur la Figure 12, par exemple, sont représentées des photos de cristaux obtenus au laboratoire dans le cadre d'un contrôle de cristallisation

Figure 11

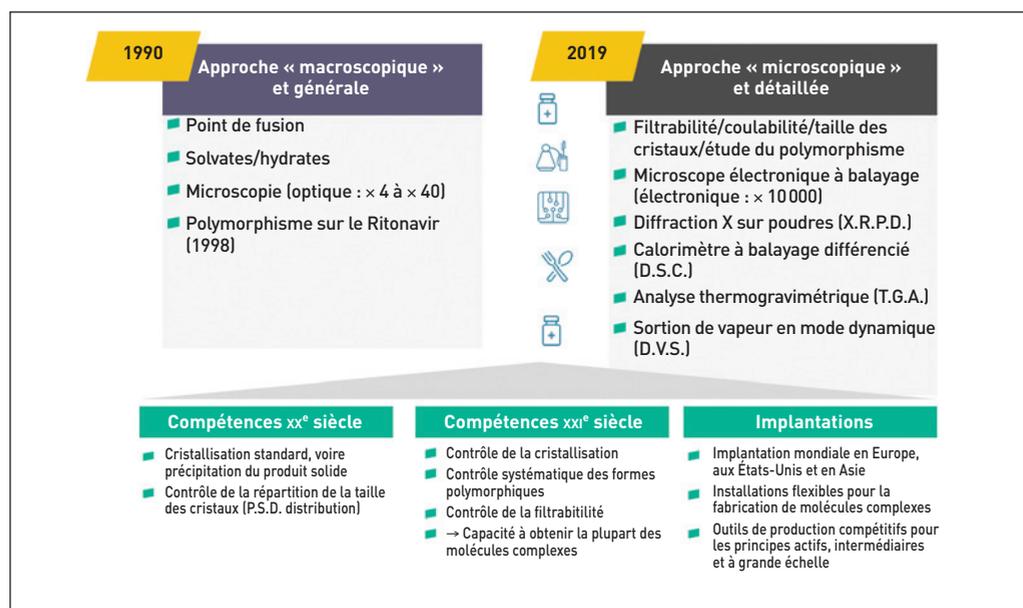
Évolution des différents types d'analyse des formes solides (comparaison 1990-2019).

17. Polymorphisme : capacité d'un composé à changer de forme spontanément en fonction des conditions du milieu dans lequel il est présent.

18. Microscopie électronique à balayage : technique de microscopie ayant une résolution comprise entre 0,4 et 20 nanomètres.

19. Diffraction des rayons X : technique d'analyse de solides reposant sur la diffusion élastique de rayons X par un solide donnant lieu à des interférences d'autant plus marquées que la matière est ordonnée (cristallin).

20. Thermogravimétrie : techniques d'analyse étudiant la variation de masse d'un échantillon par rapport au temps, à une température donnée.



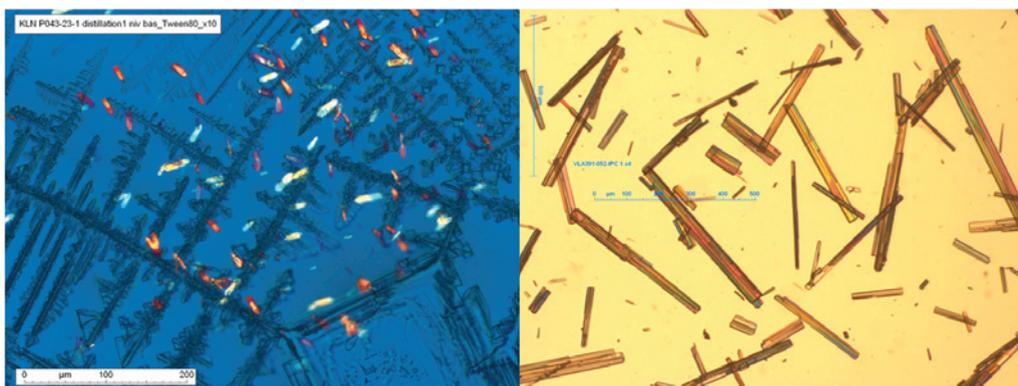


Figure 12

Des cristaux contrôlés en laboratoire.

pratiqué aujourd'hui. D'un côté, on observe un maillage²¹, de l'autre, c'est beaucoup plus erratique ; la présence d'un mélange de formes cristallines peut ainsi être mise en évidence.

21. Maillage : association orientée de deux ou plusieurs cristaux identiques.

2.4. Développement et validation de méthodes analytiques

Les méthodes analytiques, à la fois basées sur des appareillages et des méthodologies d'utilisation (Figure 13), sont devenues des facteurs de sélection extrêmement importants dans le choix des

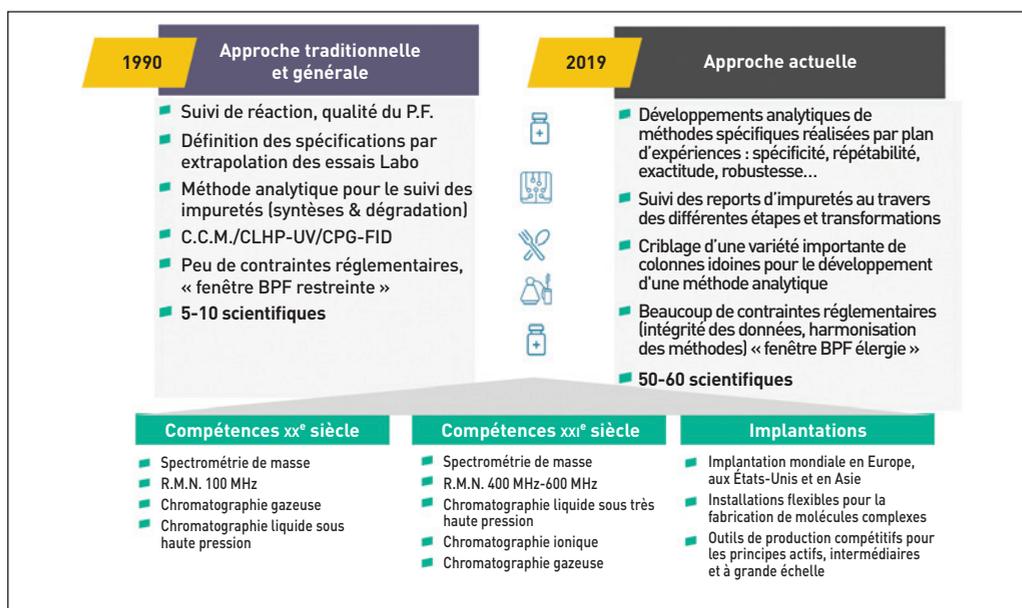


Figure 13

Évolution des techniques d'analyse dans l'élaboration de procédés industriels (comparaison 1990-2019). CCM : chromatographie sur couche mince ; CLHP-UV : chromatographie liquide haute pression ultra-violet ; CG-FID : chromatographie gazeuse à ionisation de flamme.

sociétés de sous-traitance. En 1990, des suivis de réactions étaient effectués, la qualité du produit fini était bien-sûr contrôlée. Des méthodes analytiques étaient établies pour le suivi des impuretés de synthèse ou de dégradation, mais avec des contraintes réglementaires nettement plus légères que celles appliquées aujourd'hui. Pour un groupe de vingt scientifiques

au laboratoire de synthèse, entre cinq et dix scientifiques se trouvaient en développement analytique. En 2019, il y a plus de scientifiques en développement analytique qu'en laboratoire de synthèse parce que les contraintes qualité et réglementaires sont devenues beaucoup plus importantes : le nombre d'étapes de synthèses augmente, les séquences deviennent de plus

LES PROGRÈS DE LA QUALITÉ GRÂCE À LA TECHNOLOGIE

Pour récapituler l'évolution de ces trente dernières années dans la chimie pharmaceutique, on peut souligner qu'elle a permis une offre beaucoup plus importante de structures chimiques beaucoup plus complexes (Figure 14). C'est le résultat de l'évolution des méthodes de synthèse en chimie, accompagnées par des méthodes analytiques rapides et pertinentes et appuyées par la maîtrise de cristallisations très élaborées.

L'implication pour des sociétés comme Seqens consiste à maîtriser un panel élargi de technologies, comme le criblage à haut débit, mais aussi la maîtrise précise des conditions de réactions rendue accessible par des analyses en continu extrêmement rapides.

Il est clair que toutes ces évolutions technologiques ont permis l'émergence de nouvelles expertises qui contribuent à un meilleur contrôle des productions et à une plus grande variété dans l'offre de structures chimiques disponibles.

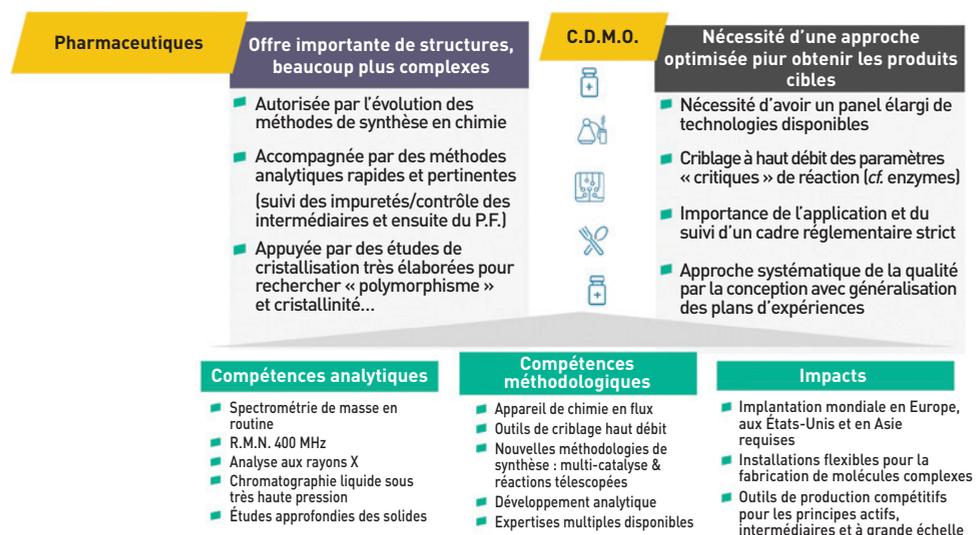


Figure 14

Lien entre l'industrie pharmaceutique et les évolutions de protocoles de développement dans les CDMO.

en plus compliquées, et il y a nécessité de suivi des impuretés au travers des différentes étapes, un criblage préalable pour le choix des colonnes dans le développement de méthodes analytiques, des plans d'expériences pour obtenir les meilleures conditions expérimentales... Cela a été un bouleversement et cette évolution reste un point d'inflexion sur nos métiers.

3 La nouvelle industrie pharmaceutique

Ni sur le plan de l'approche technique de la synthèse chimique, ni sur les performances de niveau de qualité si essentielles à l'industrie pharmaceutique, les entreprises du xx^e siècle n'approchaient celles d'aujourd'hui.

On en trouve des exemples dans les progrès relatifs à la qualité et aux façons dont l'industrie d'aujourd'hui approche la question par des nouveaux protocoles, par exemple la gestion « totale » de la qualité

« de la conception au produit fini » (*Encart : « Les progrès de la qualité grâce à la technologie »*).

On en voit aussi l'illustration dans l'élargissement stupéfiant des performances de cette industrie en termes de complexité des structures moléculaires qu'elle sait aujourd'hui synthétiser et caractériser. Tout cela est la conséquence des formidables progrès scientifiques et techniques des cinquante dernières années.

Le Voxilaprevir (*Figure 15*) fait partie du panel de molécules qui ont permis de pratiquement éradiquer l'hépatite C. Il est présenté ici pour illustrer la complexité des molécules que l'industrie est aujourd'hui capable de produire : 8 centres stéréogènes²², une masse molaire de 868 daltons et une synthèse qui nécessite 40 étapes !

22. Centre stéréogène : centre asymétrique (par exemple un carbone dans une structure tétragonale).

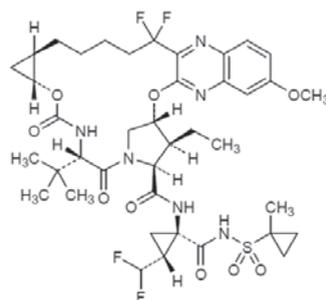


Figure 15

Le Voxilaprevir.

Les défis à portée de main pour le xxi^e siècle

Qu'est ce qui nous permet de contribuer avec tant d'efficacité à l'élaboration des entités chimiques et thérapeutiques du xxi^e siècle ? C'est la capacité à prendre en compte la complexité croissante de ces molécules parce que nous maîtrisons un éventail d'outils analytiques très performants, et le fait de disposer de l'expertise scientifique nécessaire pour en extraire le potentiel, pour ensuite adapter les protocoles

expérimentaux et appliquer les méthodologies idoines.

Cela nous permet de mettre en place des méthodologies de développement pertinentes : criblages à haut débit, optimisation des séquences, approches systématiques de la qualité par la conception.

Par ailleurs, nous sommes capables d'optimiser une transposition industrielle à partir des études au laboratoire, que ce soit en rationalisant le choix des séquences réactionnelles, ou celui des techniques de mise en œuvre (utilisation de la fluidique ? Sélection de réacteurs spécifiques ou réacteurs classiques à double enveloppe par exemple ?).

Les succès spectaculaires déjà obtenus vont se généraliser. À l'horizon, se trouve une chimie capable de relever les défis, de traiter les problèmes, qu'ils soient techniques, économiques ou environnementaux, et surtout d'offrir à l'homme des solutions préservant l'avenir.