



**5<sup>èmes</sup> Rencontres  
LLB - SOLEIL  
15-16 mars 2007**

---

**Cristallographie Haute  
Résolution en Sciences  
Pharmaceutiques**

Nour Eddine Ghermani  
Université Paris XI



# Sommaire

---

- I- Cristallographie haute résolution
- II- Apports potentiels à la recherche pharmaceutique
- III- Application à un anti-cancéreux
- IV- Application à un anti-sida
- V- Conclusions



# I- Cristallographie haute résolution

---

$$\frac{H}{2} = \frac{1}{2d} = \frac{\sin \theta}{\lambda}$$

le facteur de structure

$$F_{obs}(\vec{H}) = \iiint_{\text{maille}} \langle \rho_{obs}(\vec{r}) \rangle \exp 2\pi i \vec{H} \cdot \vec{r} d\nu$$



la densité électronique



## Modèle multipolaire de Hansen-Coppens

---

$$\rho_{\text{modèle}}(\vec{r}) = \rho_{\text{coeur}}(r) + P_{\text{val}} K_3 \rho_{\text{val}}(Kr) + \sum_{l=0}^{l=4} K_3^l R_{nl}(K^l r) \sum_{m=0}^l P_m y_{lm\pm}(\theta, \varphi)$$



- Potentiel électrostatique
- Champ électrostatique
- Moments atomiques et moléculaires
- Charges atomiques
- Topologie de la densité et du potentiel



## II- Apports potentiels à la recherche pharmaceutique

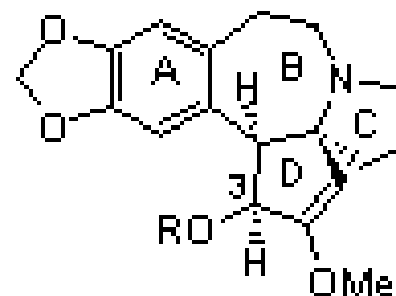
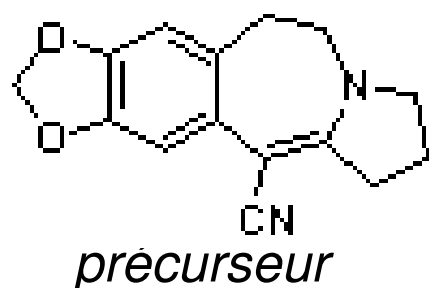
---

### *au-delà de la structure*

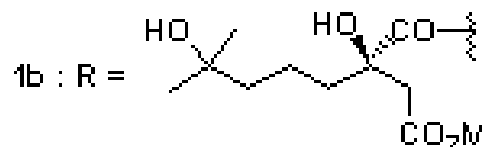
- caractérisation fine des molécules et de leurs fragments: fragilité, flexibilité ...
- mise en évidence des sites actifs des molécules
- aide à la reconnaissance moléculaire et aux processus biochimiques: activation, inhibition ...
  - *prédiction*
  - *drug design*

# III- Application à un anti-cancéreux

synthèse chimique de la céphalotaxine



1a : R = H

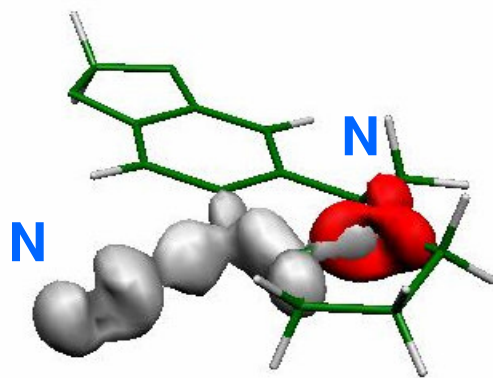
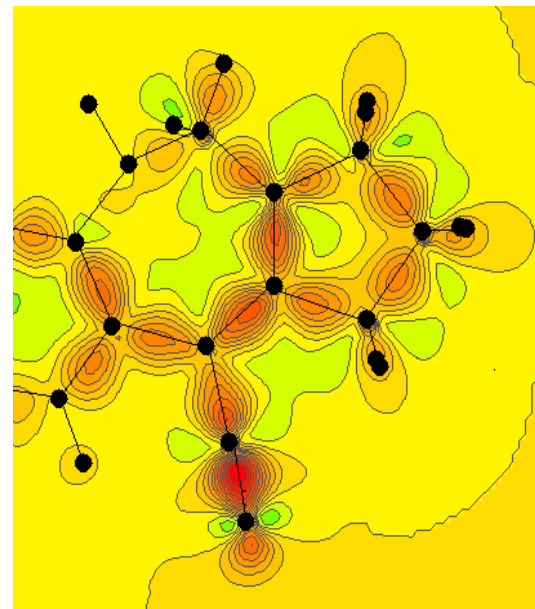
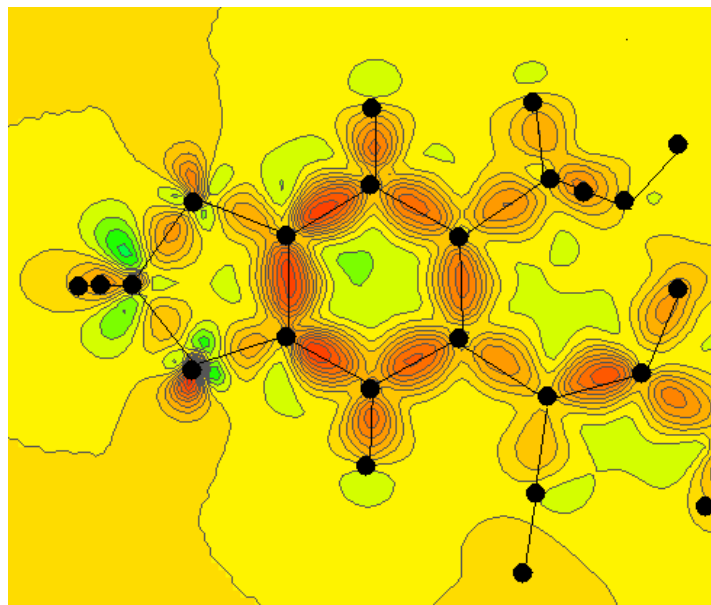


**Mais:**

*La dernière étape de synthèse est bloquée: cyclisation (D) impossible*

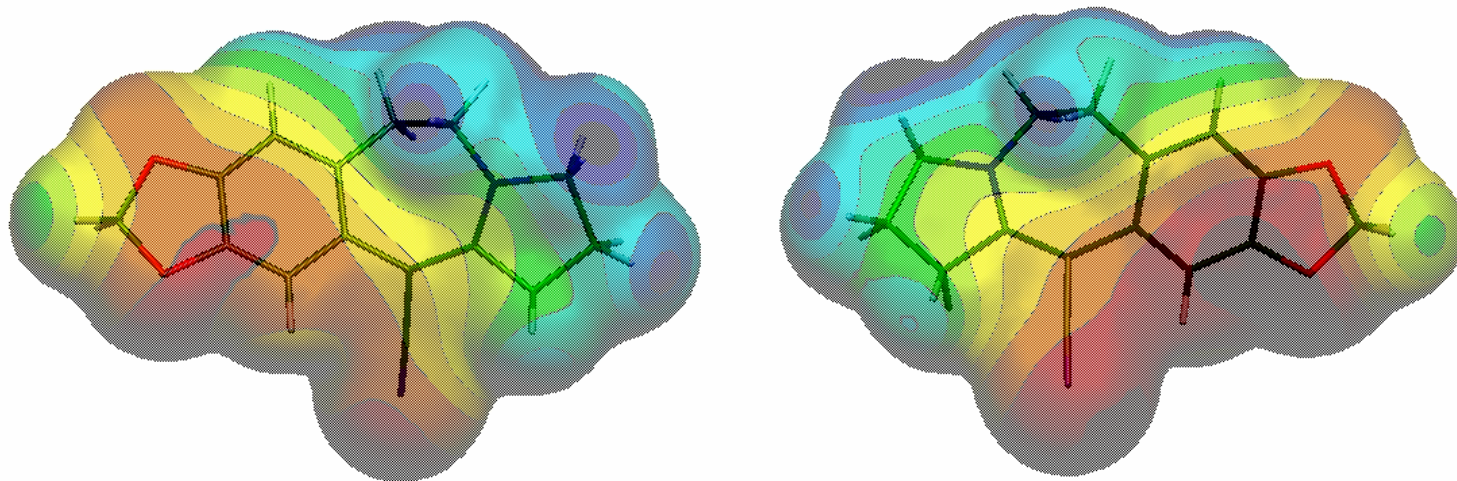
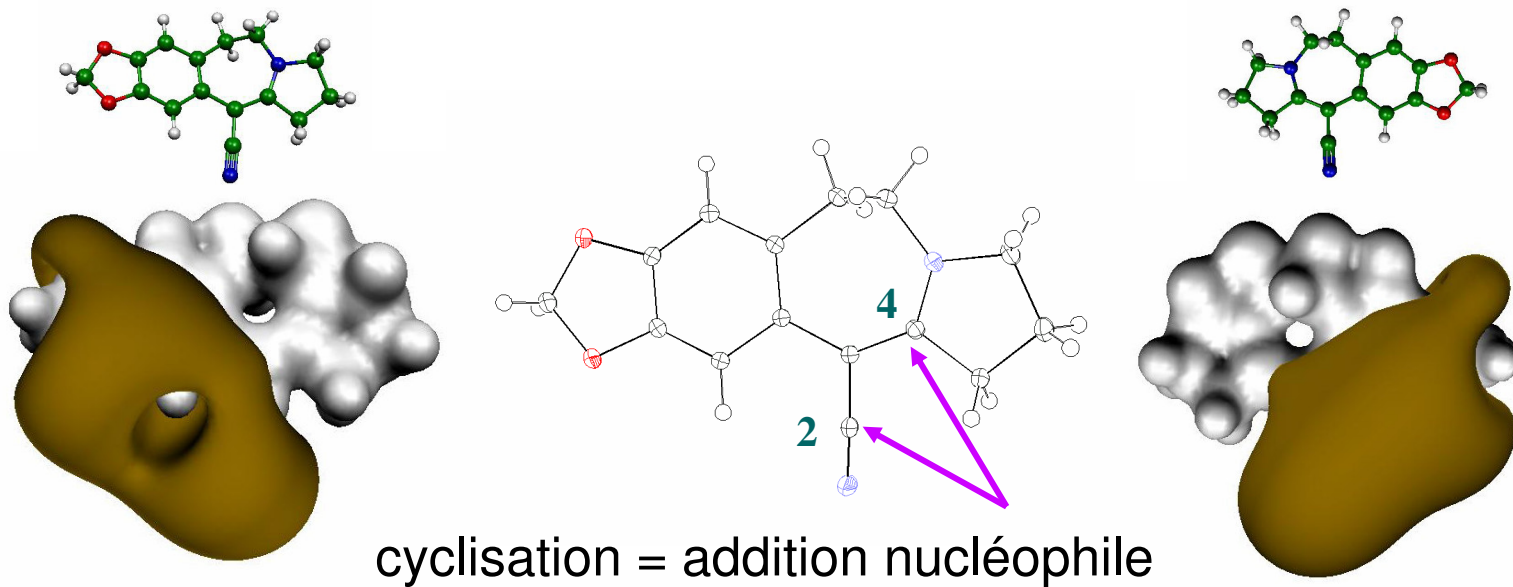
M. Pizzonero *et al.* *J. Org. Chem.*, 69 (13), 4336 -4350, 2004.

## densité électronique expérimentale



délocalisation électronique  
(effet *push-pull*) de  
l'énaminonitrile

# potentiel électrostatique

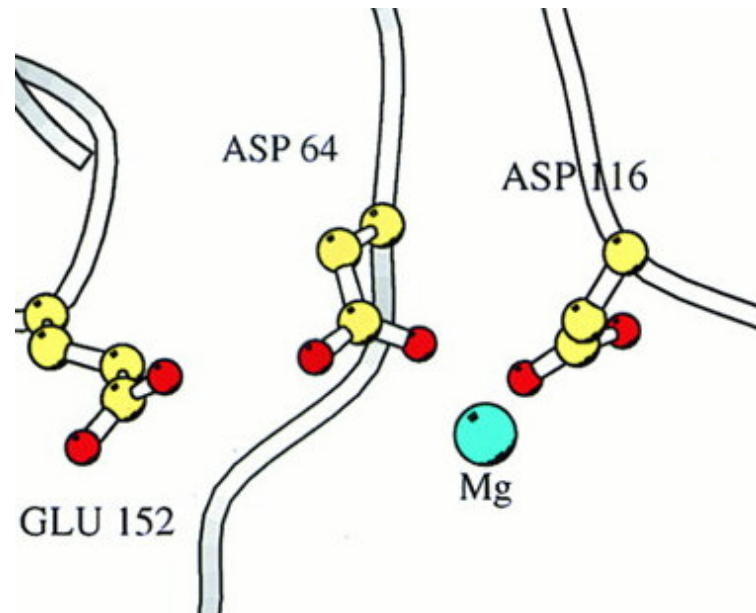




## IV- Application à un anti-sida

---

- nouvelle cible thérapeutique: l'intégrase
- cœur catalytique (trois acides aminés +  $Mg^{2+}$ )

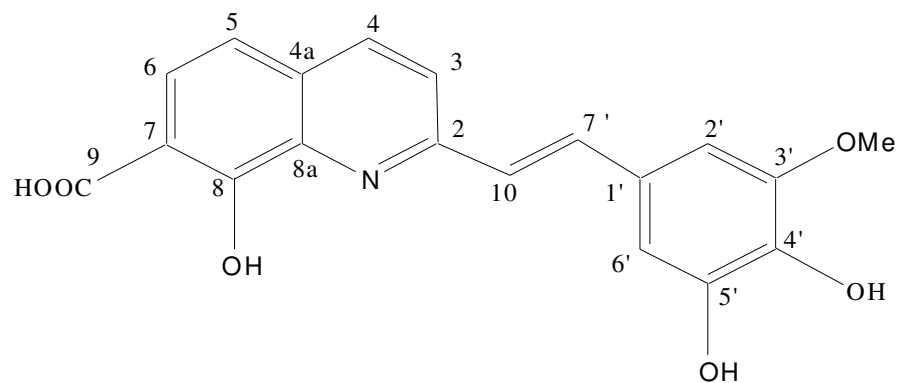
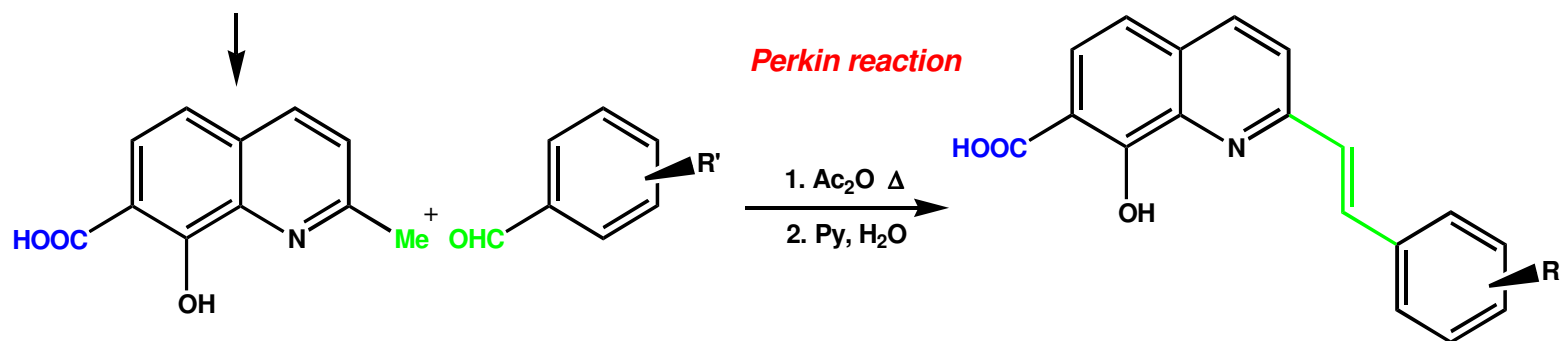


Dyda, F. *et al.*, *Science*, 1994.

d'Angelo, J. *et al.*, *Pathol Biol*, 2001.

Goldgur, Y. *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1998.

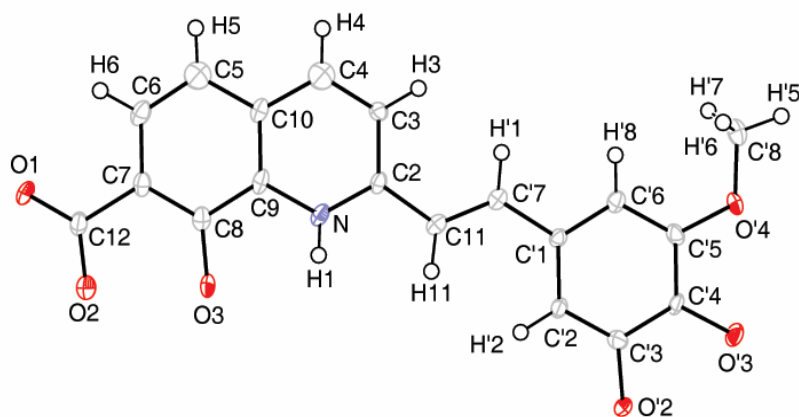
# nouveaux inhibiteurs: les styrylquinoléines



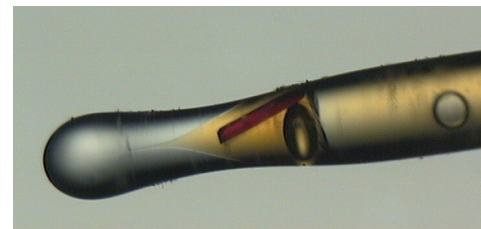
la molécule en développement (FZ41)  
Bioalliance Pharma SA

## structure cristallographique de l'inhibiteur

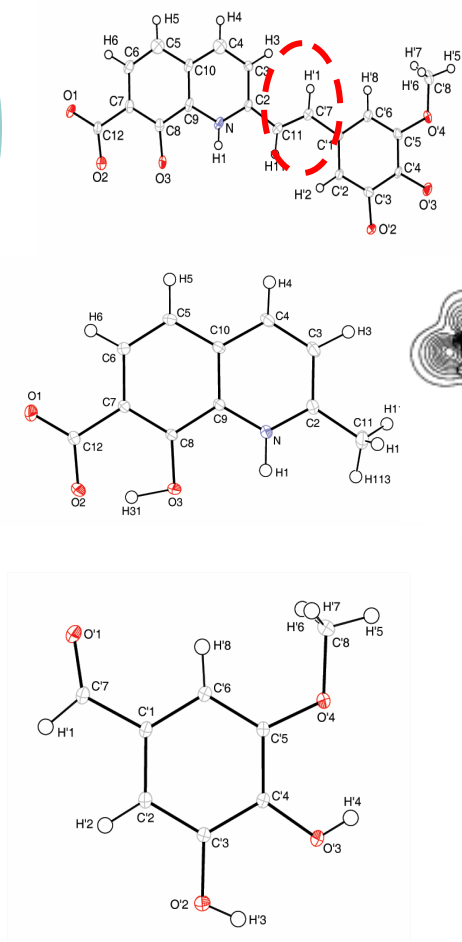
- monocristaux (aiguilles) de faibles dimensions
- difficultés : macles, instabilité (air) etc.
- limites des appareillages de laboratoire
- campagnes de mesure sur synchrotron (ESRF, Grenoble)



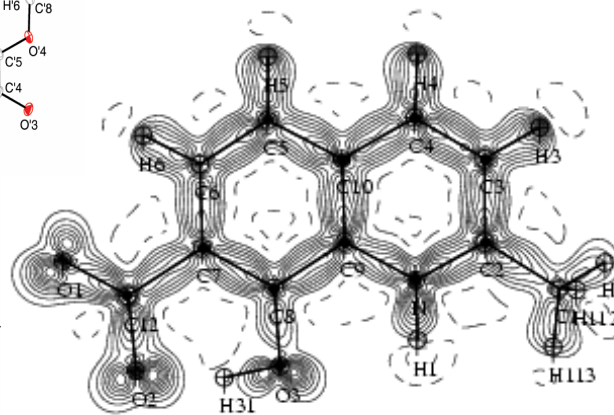
forme zwitterionique



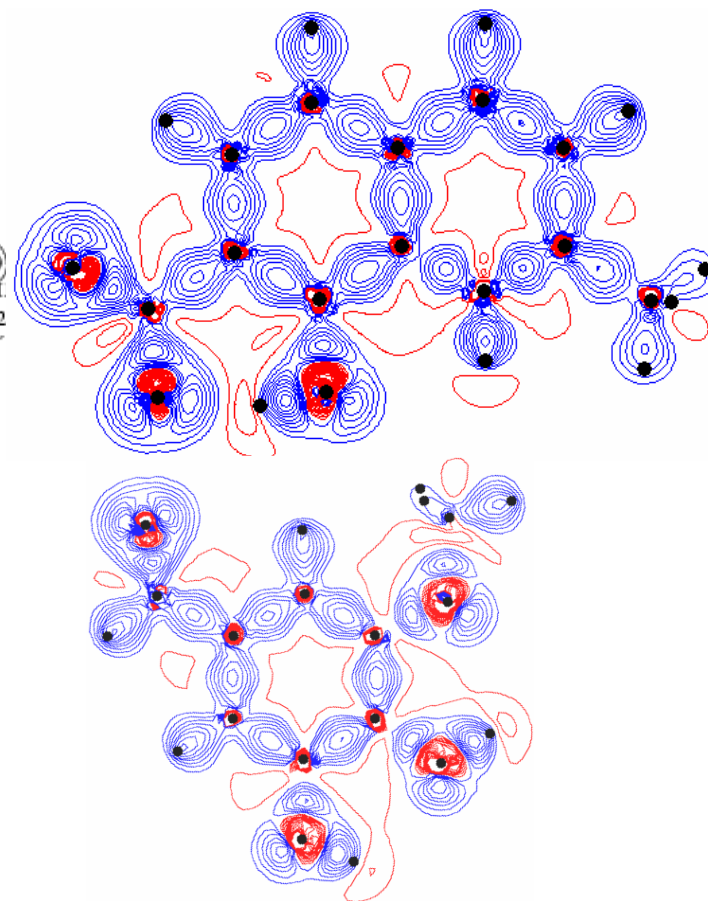
# densité électronique des progéniteurs



expérience

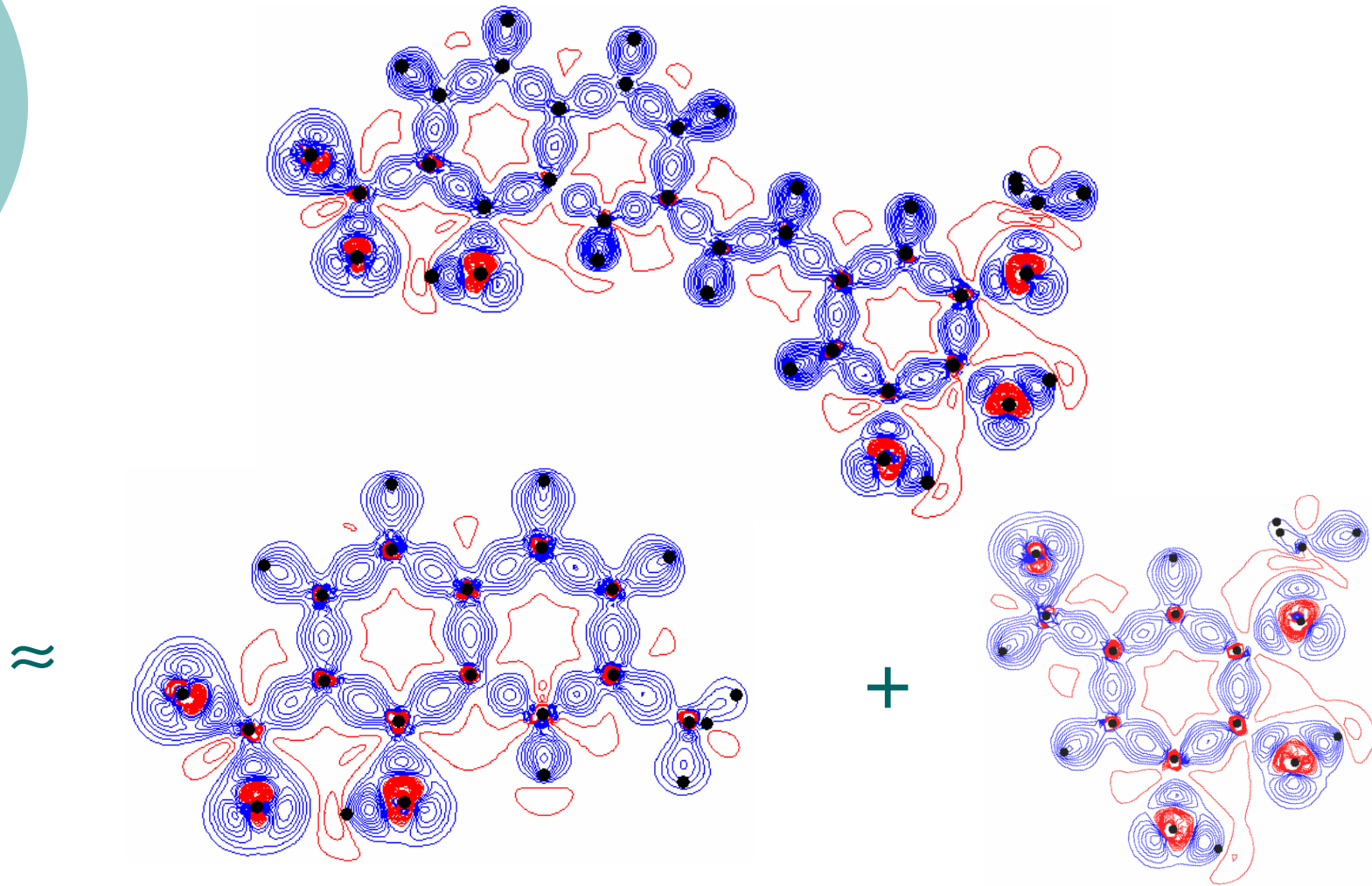


théorie



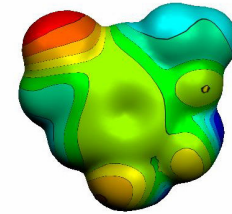
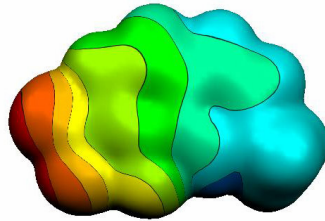
# densité électronique de l'inhibiteur

---

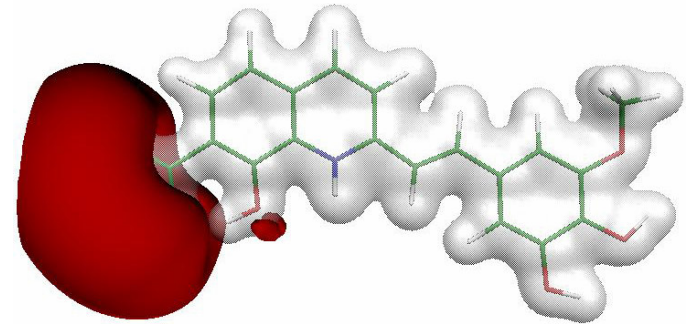
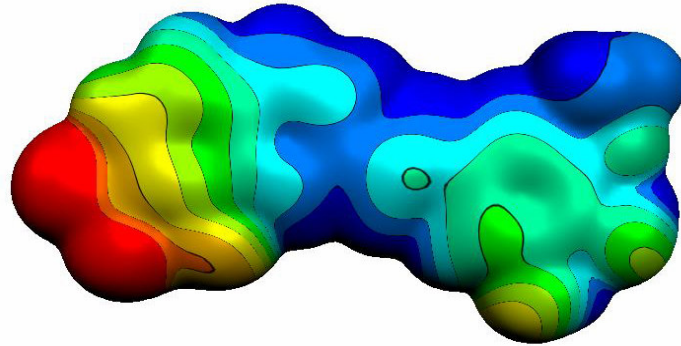


# potentiel électrostatique

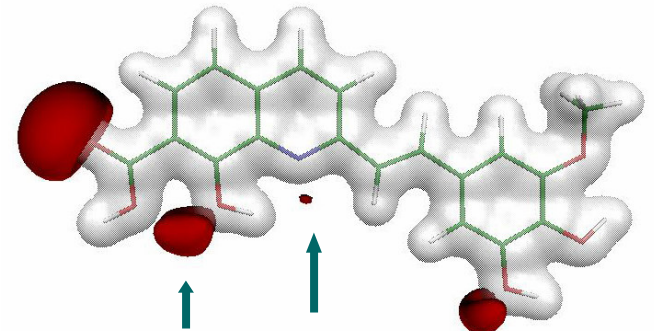
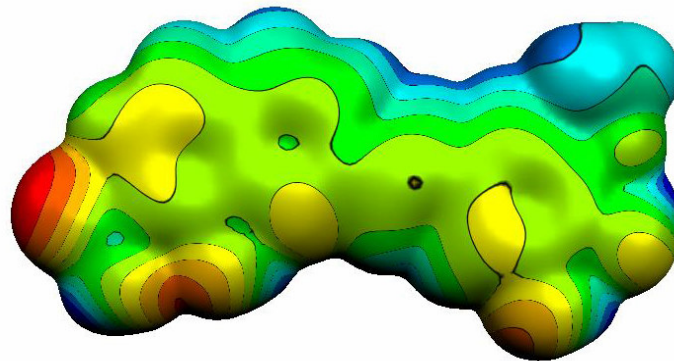
progéniteurs



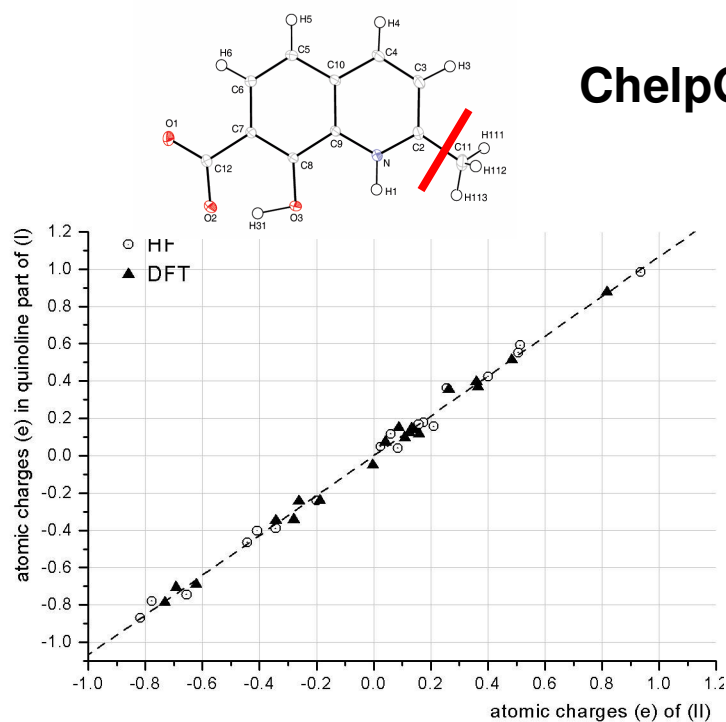
zwitterion



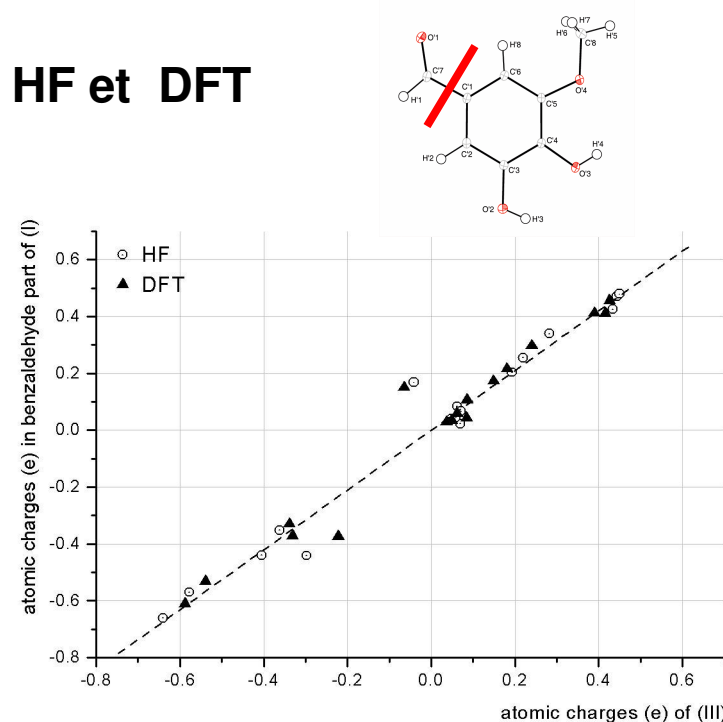
non-zwitterion



# charges atomiques



**R = 99,7 %, RMSD = 0.04, slope = 1.067**  
**Kolbe (quinoléine)**



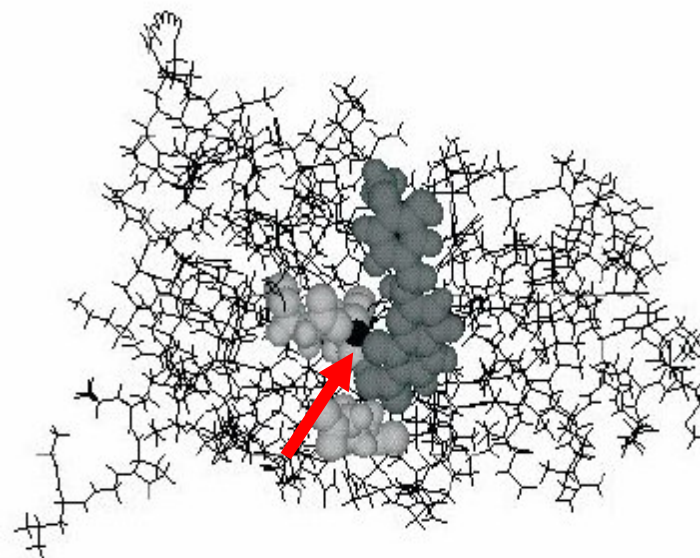
**R = 98,4 %, RMSD = 0.07, slope = 1.052**  
**Benzaldéhyde**

= pas de courant électronique entre les deux parties de la molécule

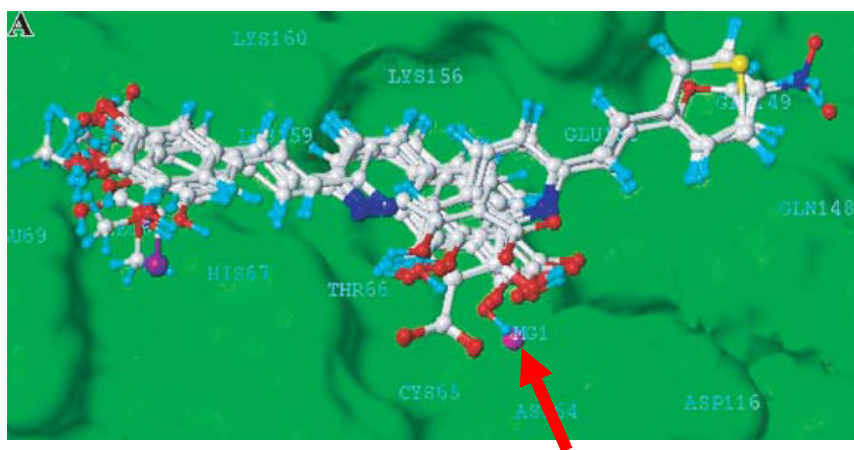
## réactivité de la partie quinoléine (Kolbe)

les complexes métalliques  
Pourquoi ?

Etudes de modélisation et docking  
cofacteur  $Mg^{2+}$



Ouali *et al.*, *Acta Bio. Pol.* 2000



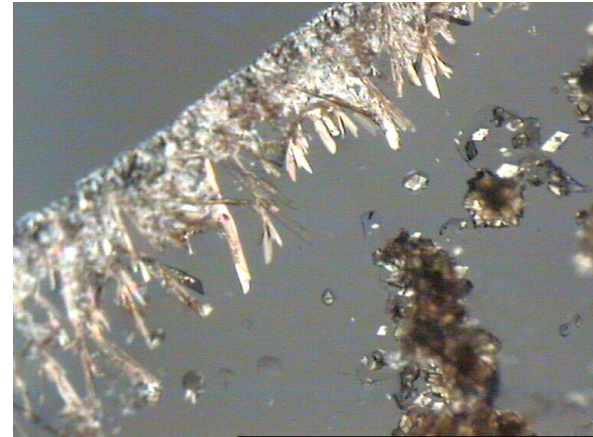
Ma *et al.*, *Acta Pharm. Sin.* 2004



## complexes de la partie quinoléine (kolbe)

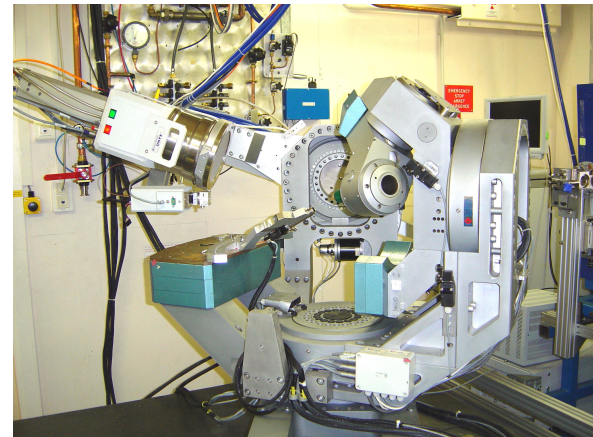
---

Cristallisation:  
Kolbe + NaOH + MgBr<sub>2</sub>

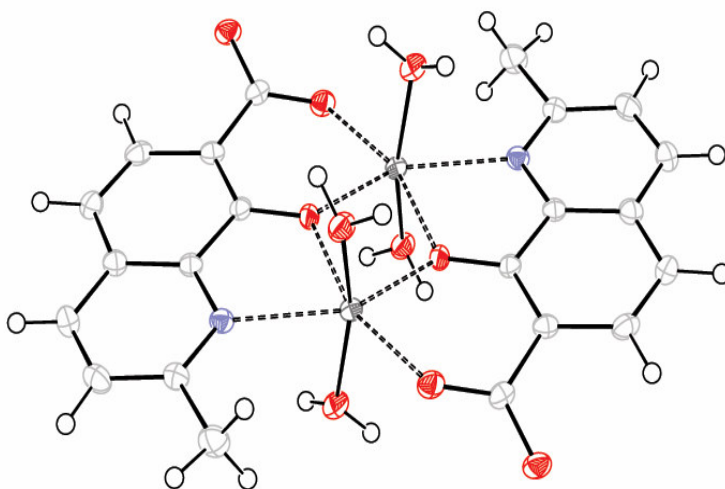


Mesures de diffraction : 120 K  
Synchrotron ESRF (Grenoble)

Ligne Suisse-Norvégienne SNBL  
BM1A (P. Pattison)



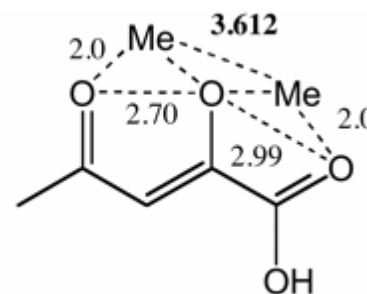
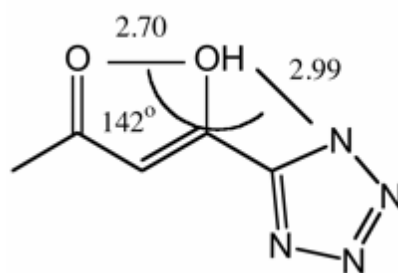
## complexe Mg<sup>2+</sup>- Kolbe



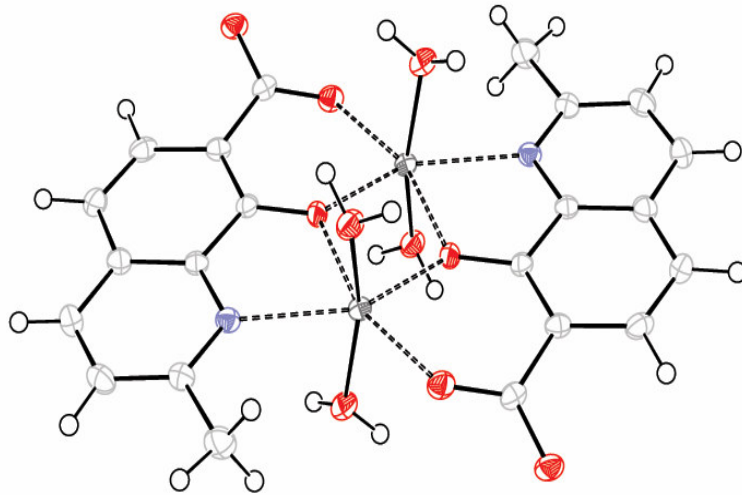
$\text{Mg1} - \text{Mg2} = 3.219 \text{ \AA}$   
 $\text{O}(\text{COO}) - \text{Mg} = 2.074 \text{ \AA}$   
 $\text{O}(\text{OH}) - \text{Mg1} = 2.025 \text{ \AA}$   
 $\text{O}(\text{OH}) - \text{Mg2} = 2.056 \text{ \AA}$   
 $\text{N} - \text{Mg} = 2.326 \text{ \AA}$

$\text{O}(\text{COO}) - \text{O}(\text{OH}) = 2.745 \text{ \AA}$   
 $\text{O}(\text{OH}) - \text{N} = 2.639 \text{ \AA}$

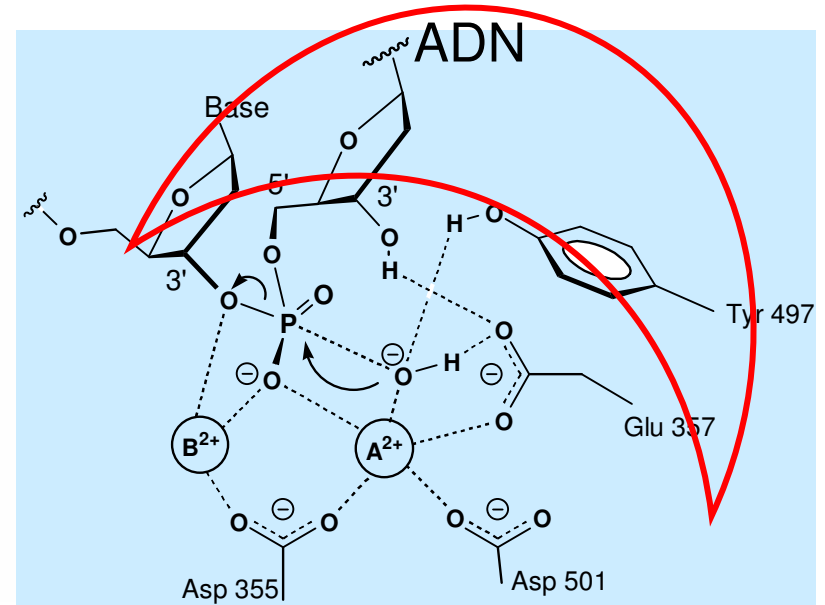
mécanisme d'interaction de la DKA (Glober *et al.*, Biochemistry, 2002) à partir de la structure de la 5CITEP (à gauche)



## relation avec le mécanisme d'inhibition



structure RX

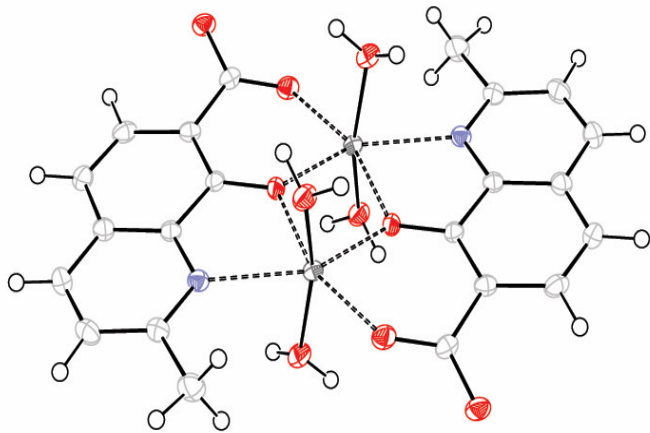


mécanisme admis

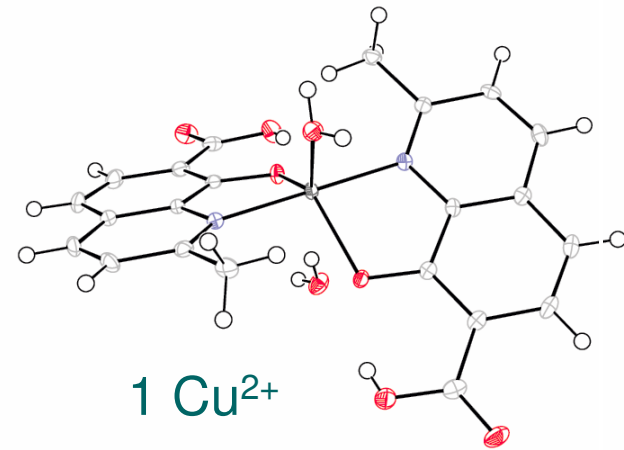
(Beese, L. S.; Steitz, T. A. *EMBO J.* **1991**, 10, 25-33)

Peut-être deux types de cations: cristallisation mixte en cours  $Mg^{2+}$  + second messenger :  $Zn^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  etc.

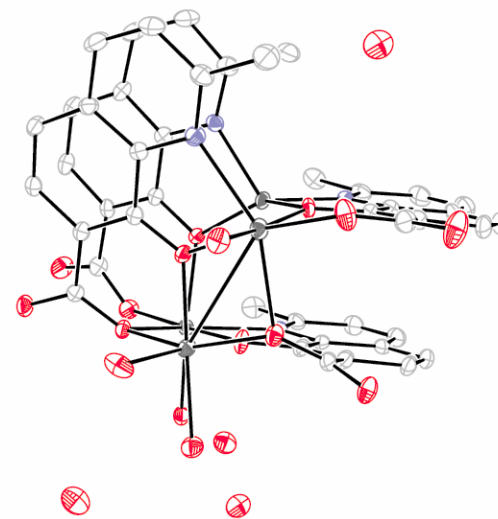
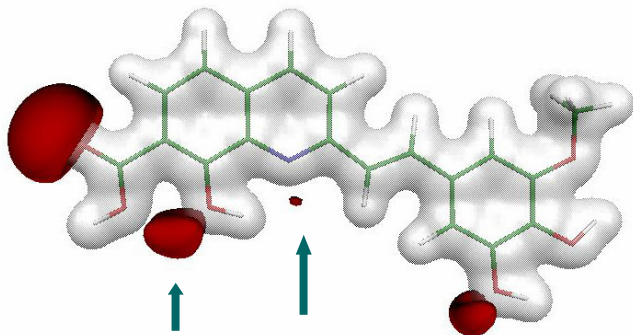
# chélations multiples du progéniteur



2 Mg<sup>2+</sup>



1 Cu<sup>2+</sup>



3 Mg<sup>2+</sup> & 1 Cu<sup>2+</sup>



## V- Conclusions

---

- cristallographie HR = méthode de développement et de prédiction (densité électronique et propriétés électrostatique)
- la cristallographie HR peut intervenir de la synthèse de nouvelles molécules aux interactions biologiques
- avancée des techniques et des grands instruments (synchrotron, réacteurs) permettra d'aller encore plus loin



# Remerciements

---

- **SPMS** Ecole Centrale Paris:
  - P. Becker, J-M Gillet, A. Spasojevic, B. Fraisse
  - D. Firley, B. Courcot
  
- Faculté de pharmacie (Paris XI):
  - S. Geiger, F. Bonhomme (**PPB**)
  - J. d'Angelo, F. Zouhiri, F. Dumas, D. Desmaële (**BioCis**)