

Texte de la 618e conférence de l'Université de tous les savoirs donnée le 25 juin 2006

Françoise Guéritte : « Plantes, organismes marins, micro-organismes : Sources de médicaments anticancéreux »

Cette conférence est dédiée à la mémoire de Monsieur Pierre Potier, Membre de l'Académie des Sciences, directeur de l'Institut de Chimie des Substances Naturelles du CNRS pendant de nombreuses années, primé de nombreuses fois pour ses travaux sur l'impact des substances naturelles, notamment en chimiothérapie anticancéreuse. Pierre Potier aimait dire : « la chimie est à la biologie ce que le solfège est à la musique ». Je pense qu'il voulait dire par là que bien comprendre la biologie nécessite une connaissance intime des réactions chimiques intervenant dans les interactions entre molécules et cibles biologiques que sont les enzymes et les protéines, éléments essentiels mais quelquefois délétères, de nos cellules. Une autre maxime complétant celle de Pierre Potier est celle de Jean-Marie Lehn, prix Nobel de chimie : « la chimie forge la clé qui ouvre la porte aux merveilles ». Les clés, ce sont les « petites » molécules naturelles ou synthétiques qui se lient aux différentes cibles (enzymes, protéines), interactions qui peuvent conduire à une activité biologique et potentiellement thérapeutique.

Découvrir de nouvelles molécules qui deviendront des médicaments pour soigner telle ou telle maladie est une quête de tous les jours, effectuée par les industries pharmaceutiques et des laboratoires publics. Les substances naturelles sont une des sources majeures de médicaments. En médecine générale, environ 50% des médicaments proviennent de substances naturelles, et dans certains domaines thérapeutiques, comme en chimiothérapie anticancéreuse, près de 60% des médicaments sont d'origine naturelle. Par molécules d'origine naturelle, il faut entendre celles directement isolées de plantes, d'organismes marins ou de micro-organismes, mais aussi celles qui proviennent de modifications structurales de produits naturels et également les molécules de synthèse dont la structure est basée sur celle de produits naturels. Il y a donc là toute une richesse à exploiter, d'autant plus que très peu de plantes, organismes marins et micro-organismes ont été étudiés d'un point de vue chimique et biologique.

Depuis l'Antiquité, de nombreux extraits de plantes ont été utilisés pour soigner certaines maladies liées à une croissance cellulaire anormale (verruques, tumeurs ou carcinomes). Les tablettes d'argile de la médecine babylonienne et sumérienne (III^e millénaire av. J.-C.), les papyrus égyptiens (papyrus Ebers 1600 ans av. J.-C.), les manuscrits de la médecine chinoise (Pen T'saos), grecque, romaine ou arabe, ainsi que ceux, plus récents, provenant de l'occident, décrivent de nombreuses espèces de plantes utilisées en médecine traditionnelle pour traiter ce type d'affections. Dans les années soixante, Jonathan L. Hartwell du National Cancer Institute répertorie environ trois mille espèces de plantes mentionnées dans différents écrits depuis le début de l'écriture, indiquant les parties utilisées pour traiter tumeurs, polypes, indurations, etc.. Certaines de ces plantes, étudiées bien plus tard pour leur activité biologique, ont montré une activité cytotoxique réelle sur des lignées de cellules cancéreuses, et leur étude chimique a conduit à l'isolement de produits antitumoraux plus ou moins performants. Par exemple, une petite plante herbacée semi-aquatique du nom d'*Alisma plantago*, plus connu sous le nom de plantain d'eau, a été décrite par Avicenne, Galien et Dioscoride comme étant utilisée pour soigner des tumeurs. Récemment, des terpènes inducteur d'apoptose (mort cellulaire) ont été isolés de cette plante. L'indigotier ou *Indigofera tinctoria* qui fournit l'indigotine, colorant bleu, et l'indirubine, colorant rouge, était utilisé en médecine chinoise pour traiter des leucémies. Cette activité antileucémique pourrait être due à l'indirubine, inhibiteur de cyclines dépendantes kinase. La « podophylline », résine obtenue par extraction des racines et rhizomes de *Podophyllum peltatum*, plante herbacée connue sous le nom de pomme de Mai, était

utilisée en médecine traditionnelle pour soigner des verrues et excroissances. Des analogues structuraux (non naturels) de la podophyllotoxine, composé majoritaire de la podophylline, sont des antitumoraux efficaces utilisés dans certains cancers du poumon et les leucémies. On pourrait ainsi citer bon nombre de plantes ayant eu un impact direct dans le traitement d'excroissances cellulaires souvent cancéreuses. Mais l'avancée majeure dans la découverte d'anticancéreux naturels provient des recherches effectuées par le National Cancer Institute (NCI), aux Etats-Unis. Dans les années soixante et pendant une vingtaine d'années, le NCI a développé, dans le monde entier, un programme de collecte d'environ 35.000 plantes, afin d'évaluer l'activité anticancéreuse potentielle des extraits provenant de différentes parties de ces espèces. De cette première étude systématique, plusieurs extraits ont montré une activité cytotoxique sur certaines lignées cancéreuses. Certains des produits isolés à partir de ces extraits, comme le taxol ou la camptothécine, ont conduit à des médicaments efficaces. Dans cette revue, nous présenterons les substances provenant de plantes, de micro-organismes ou du milieu marin, utilisées en clinique dans le traitement de divers types de cancers, ainsi que certaines d'entre elles étudiées pour leur potentialité anticancéreuse.

1- Composés antitumoraux à partir de plantes.

L'histoire du rôle des substances naturelles en chimiothérapie anticancéreuse débute dans les années quarante avec l'isolement de la podophyllotoxine 1, à partir des rhizomes d'une plante de la famille des Berberidaceae (*Podophyllum peltatum* L.). Cette espèce était utilisée, il y a plus de 100 ans, pour ses propriétés verrucides, et pour soigner les chancres vénériens. La podophyllotoxine, cytotoxique sur de nombreuses lignées cellulaires, s'est révélée trop toxique pour être utilisée directement en chimiothérapie. Mais, des études chimiques réalisées sur ce composé ont conduit plus tard à l'obtention d'analogues, le teniposide (Vehem®) et l'étoposide (VP-16®, Vépéside®), inhibiteurs de la topo-isomérase II, enzyme altérant la topologie de l'ADN et induisant de ce fait la mort cellulaire. Ces deux médicaments sont utilisés dans le traitement de certains cancers (cancer du poumon à petites cellules, cancer du sein, des testicules, de l'ovaire, maladie de Hodgkin...).

Une autre plante, *Catharanthus roseus* ou pervenche de Madagascar, produit une famille chimique complexe, les « vinca-alcaloïdes ». La vinblastine (Velbe®) 4 et la vincristine (Oncovin®) 5 sont isolées en faible quantité de la Pervenche de Madagascar *Catharanthus roseus* G. DON. Ces deux alcaloïdes, recommandés dans les cas de lymphomes et leucémies, peuvent être préparés par hémisynthèse à partir d'alcaloïdes naturels plus simples, la catharanthine 7 et la vindoline 8, présentes en quantités plus importantes dans la plante. La vinorelbine (Navelbine®) 6, analogue synthétique de la vinblastine utilisée dans le traitement des cancers du poumon et du sein, a également été obtenu à partir de catharanthine 7 et de vindoline 8.

Ces composés appartiennent à la classe des poisons du fuseau mitotique : ils inhibent l'assemblage d'une protéine, la tubuline, en microtubules. Tubuline et microtubules sont des constituants essentiels de la cellule aux fonctions variées. Notamment, ce sont sur les microtubules que les chromosomes migrent lors de la division cellulaire, conduisant ainsi à deux cellules-filles à partir de la cellule-mère. Le bon fonctionnement cellulaire est régi, entre autres, par l'équilibre existant entre tubuline et microtubules. Tout composé perturbant cet équilibre inhibera la division cellulaire, en particulier celle des cellules cancéreuses. La tubuline et les microtubules représentent ainsi une des cibles biologiques importantes de produits potentiellement anticancéreux.

- Une autre famille de composés d'origine naturelle, importants en tant qu'agents anticancéreux, agit également sur cette cible. Ce sont les taxoïdes, inhibiteurs du désassemblage des microtubules en tubuline. Le paclitaxel (Taxol®) 9 a été isolé initialement des écorces de tronc de l'if du pacifique *Taxus brevifolia* Nutt..

Alors que le paclitaxel était retrouvé en faible quantité dans les écorces de tronc de l'if européen, *Taxus baccata* L., l'examen des autres parties de cette même espèce a conduit à l'isolement de la 10-désacétylbaccatine III 11 à partir des feuilles. Ce composé, isolé en relativement grande quantité, peut être transformé en paclitaxel 9, ce qui résout ainsi le problème de son approvisionnement. Ces travaux d'hémisynthèse se sont révélés d'autant plus intéressants que l'un des intermédiaires obtenus (Taxotère® ou docetaxel 10) s'est montré deux fois plus actif sur la tubuline que le paclitaxel. Taxol® et Taxotère® sont utilisés dans le traitement du poumon non à petites cellules, de l'ovaire, du sein et de la prostate.

- Une quatrième classe de produits d'origine végétale utilisée en chimiothérapie anticancéreuse dérive de la camptothécine, alcaloïde extrait d'un arbre ornemental chinois, *Camptotheca acuminata* (Nyssaceae). Par hémisynthèse et synthèse totale, plusieurs analogues, inhibiteurs de topo-isomérase I, ont été préparés. Parmi ceux-ci, l'irinotecan (Camptosar®) et le topotecan (Hycamptin®) sont indiqués dans le traitement de certaines tumeurs solides.

Les podophyllotoxines, vinca-alcaloïdes, taxoïdes et camptothécines, molécules de structure complexe provenant de plantes variées, représentent les premiers anticancéreux d'origine végétale ayant montré une efficacité certaine dans le traitement de différents types de cancers. Ces produits agissent sur des cibles dites « classiques », tubuline et topo-isomérase I et II, mais ils ont malheureusement des effets néfastes sur les cellules normales entraînant des toxicités d'ordre neurologique. Pour essayer de remédier à ces problèmes, plusieurs analogues structuraux de ces composés ont été synthétisés pour obtenir des produits plus performants et moins toxiques. Une autre stratégie consiste à rechercher d'autres produits naturels d'origine végétale possédant des mécanismes d'action différents. À titre d'exemple, le flavopiridol 12,

dont la structure a été imaginée à partir d'un alcaloïde naturel isolé d'une Meliaceae, *Amoora rohituka*, la rohitukine 13, est un inhibiteur de kinases cycline-dépendantes.

Les combrétastatines, isolées d'un arbre du bush sud-africain, *Combretum caffrum* (famille des Combretaceae), représentent également une famille très intéressante de molécules possédant des propriétés antimétaboliques et agissant également sur la vascularisation de la tumeur. Un phosphate de combrétastatine A4 14 est actuellement en essai clinique pour ces propriétés. Une étude réalisée dans les années soixante avait montré la cytotoxicité sur cultures de cellules tumorales de l'acronycine 15, alcaloïde découvert dans une Rutaceae australienne, *Acronychia baueri*, arbuste nommé aujourd'hui par les botanistes, *Sarcomelicope simplicifolia*.

L'analyse de la composition chimique de dix autres espèces du même genre croissant en Nouvelle-Calédonie, a facilité un examen détaillé des relations entre la structure chimique de nombreuses molécules proches et de dérivés de synthèse et l'activité biologique de ceux-ci. Cette étude classique de chimie médicinale a abouti à la synthèse d'un analogue, la benzo[b]acronycine 16 qui est actuellement en étude clinique de phase I. Bien d'autres composés, actifs sur des tumeurs expérimentales, ont suscité des espoirs, comme l'harringtonine et l'homoharringtonine, alcaloïdes isolés de diverses espèces de *Cephalotaxus*, *Cephalotaxaceae* chinoises. Ces substances, qui agissent expérimentalement sur diverses leucémies, en inhibant la synthèse protéique au ribosome, font toujours l'objet d'études visant à améliorer leur potentiel antitumoral.

2- Composés antitumoraux issus de micro-organismes

Les micro-organismes présents dans le sol représentent une source importante de produits antitumoraux. L'intérêt clinique des anthracyclines a émergé dans les années soixante avec la découverte de la daunomycine puis de la doxorubicine, isolées d'Actinomycètes du genre *Streptomyces*. Ces composés agissent comme intercalants et interfèrent avec la topoisomérase II. Plusieurs anthracyclines sont sur le marché, indiquées dans le traitement de leucémies, lymphomes ou tumeurs solides. Des études de vectorisation et de ciblage spécifique des tumeurs se poursuivent afin d'améliorer le profil thérapeutique de cette famille de composés et surtout de diminuer leur toxicité cardiaque.

Les bléomycines, actinomycines et mitomycines sont d'autres exemples de molécules anticancéreuses issues de souches microbiennes, mais la découverte la plus récente et spectaculaire de ce monde infiniment petit est sans doute l'isolement, en très faible quantité, des épothilones à partir d'une Mycobactérie, *Sorangium cellulosum*. La découverte de ces molécules de structure complexe (épothilone B 17) miment les effets du paclitaxel sur la tubuline. Quelques-unes d'entre elles, plus hydrosolubles et puissantes que les taxoïdes, sont en essai clinique pour une utilisation possible dans le traitement de tumeurs solides. Un intérêt supplémentaire réside dans le fait qu'elles agissent sur les cellules tumorales résistantes à d'autres cytotoxiques.

3- Composés antitumoraux d'origine marine

La première découverte importante d'un composé bioactif d'origine marine a été celle de la spongo-uridine extraite d'une éponge des Caraïbes, *Cryptothya crypta*. Des études chimiques réalisées sur ce composé aux propriétés antivirales ont conduit au développement du cytosine arabinoside ou cytarabine 18 (Ara-C®). La cytarabine agit par inhibition des ADN-polymérase. Elle est utilisée dans le traitement de leucémies. Les études systématiques du milieu marin, délicates et difficiles pour des raisons pratiques évidentes, ont débuté dans

les années soixante-dix. Les dolastatines, comme la dolastatine 10 30, ont été initialement isolées d'un mollusque de l'Océan indien, le "lièvre de mer" *Dolabella auricularia* (26). Ce sont des poisons du fuseau mitotique, inhibiteur de l'assemblage de la tubuline en microtubules.

L'ecteinascidine 743 20, métabolite produit par un tunicier, *Ecteinascidia turbinata*, est un agent alkylant sélectif des résidus guanine de l'ADN du petit sillon. La bryostatine-1, l'aplidine, la didemnine B sont d'autres exemples de substances antitumorales provenant également de sources marines. Parmi ces produits, certains sont en étude clinique et conduiront peut-être à enrichir l'arsenal thérapeutique existant.

4- Composés antitumoraux d'origines végétale-marine-microbienne

Il existe certaines substances naturelles bioactives appartenant tout à la fois aux domaines végétal, marin et microbien. De nombreux microorganismes vivent en symbiose avec les organismes marins et les plantes et représentent une source importante de molécules d'intérêt biologique. Le paclitaxel et la podophyllotoxine ont, par exemple, été décrits comme étant produit par des champignons endophytes, isolés des genres *Podophyllum* et *Taxus*, respectivement.

5- Découverte de nouvelles substances naturelles anticancéreuses

Dans les années soixantes, les premiers anticancéreux d'origine naturels ont été découverts par hasard ou par criblage systématique. C'est en étudiant les propriétés antidiabétiques potentielles de *Catharanthus roseus*, plante utilisée empiriquement comme coupe-faim par les navigateurs polynésiens qu'une activité antitumorale a été mise à jour. Le criblage de milliers d'extraits de plantes sur des lignées cellulaires cancéreuses ont permis la découverte de la camptothécine et du paclitaxel. Ces études ont été longues et fastidieuses, les composés recherchés étant présents dans les organismes en faible quantité. Aujourd'hui, les progrès importants réalisés en biologie moléculaire, biotechnologie, robotique et miniaturisation permettent une étude systématique des activités potentielles présentes dans les extraits de différents organismes, menant à la détection rapide des produits actifs minoritaires.

L'extraction automatisée de plantes, organismes marins ou microorganismes conduit à la constitution d'extractothèques (bibliothèques d'extraits). La sélection des extraits actifs est réalisée par un criblage à haut débit de ces bibliothèques sur de nouvelles cibles biologiques, enzymes ou protéines intervenant dans le phénomène de cancérisation. Après fractionnement automatisé des extraits, les fractions sont directement analysées automatiquement par chromatographie liquide haute performance combinée avec la spectrométrie de masse ou résonance magnétique nucléaire. Ces technologies permettent de déterminer les structures les plus complexes d'infime quantité de produits composants ces fractions, et conduire ainsi à la caractérisation des substances actives.

La biodiversité représente ainsi une des bases fondamentales de la découverte de nouvelles molécules de structures diverses, précurseurs potentiels d'outils biologiques et de médicaments et notamment de nouveaux composés anticancéreux. C'est pourquoi, la protection de notre environnement est d'une importance capitale. L'étude des plantes, microorganismes et organismes marins doit se faire de manière concertée, transparente et équitable avec les partenaires des différents pays possesseurs de ces richesses non encore explorées. Dans ces conditions et avec l'aide aujourd'hui des nouvelles technologies permettant la découverte et l'évaluation biologique rapide de nouvelles molécules, il est certain que de nouveaux médicaments de plus en plus spécifiques verront le jour.

Post-scriptum : Je tiens à remercier Pierre Potier, disparu trop tôt, pour m'avoir communiqué sa passion des substances naturelles. Sa façon de poser les problèmes sur la naissance de telle molécule naturelle complexe au sein de l'organisme vivant conduisait forcément à la solution. Monsieur Potier était une personne de qualité! Je tiens également à remercier Thierry Sévenet qui m'a transmis « son virus » des plantes. Grâce à lui, de nombreuses collaborations avec des pays étrangers où existe une biodiversité riche en plantes différentes de nos contrées, se sont concrétisées par des travaux de recherche sur des espèces bioactives.