

Les substances naturelles végétales et l'industrie pharmaceutique

Résumé Grâce à leur bioactivité intrinsèque et à leur grande diversité chimique, les substances naturelles végétales ont fourni l'essentiel des médicaments depuis la nuit des temps. À la fin du XX^e siècle, près de 50 % des traitements anticancéreux utilisés étaient d'origine végétale. Dans les années 1980, les progrès de l'automatisme, de la miniaturisation et de la robotisation ont conduit les sociétés pharmaceutiques à lancer des programmes de bioprospection et de criblage extensif. Cette ruée vers l'or vert s'est terminée au début des années 2000. De nouvelles approches alternatives au criblage à haut débit d'extraits végétaux sont apparues telles que le criblage virtuel, le repositionnement de molécules naturelles connues, l'approche fragments naturels, sans oublier la valorisation d'extraits standardisés et purifiés.

Mots-clés Substances naturelles, produits naturels, phytochimie, industrie pharmaceutique.

Abstract **Vegetal natural substances and the pharmaceutical industry**

Due to their intrinsic bioactivity and high chemical diversity, plant secondary metabolites have provided the majority of drugs since the dawn of time. At the end of the 20th century, almost 50% of cancer treatments used were of plant origin. In the 1980s, advances in automatism, miniaturization and robotization led pharmaceutical companies to initiate extensive bio-prospecting and screening programs. This green gold rush ended in the early 2000s. New alternative approaches to high throughput screening of extracts have emerged such as virtual screening, repositioning of known molecules from plants and the natural products fragment approach, without forgetting the valorization of standardized and purified vegetal extracts.

Keywords Natural substances, natural products, phytochemistry, pharmaceutical industry.

Les substances naturelles, produits naturels encore appelés métabolites secondaires car fruits terminaux de l'expression des gènes des végétaux, sont le résultat de millions d'années d'évolution et d'adaptation aux conditions de vie et à divers stress. Ces molécules sont donc naturellement formatées pour être bioactives, pour interagir avec le vivant, avec la plante elle-même et les autres organismes comme ses parasites, ses prédateurs, etc.

Évolution de l'utilisation des plantes en thérapeutique

L'utilisation actuelle des plantes par les hommes va du simple aliment jusqu'à la molécule de synthèse thérapeutique inspirée d'un composé naturel, en passant par des extraits médicinaux plus ou moins purifiés (figure 1, d'après [1]).

Pendant très longtemps, animaux et humains ont utilisé instinctivement les plantes pour se soigner. Ce savoir s'est transmis oralement puis, lors de l'apparition de l'écriture concomitante avec l'émergence des premières cités et la spécialisation des métiers, ces connaissances ont été consignées par écrit. Le savoir s'est ensuite affiné et a été validé par l'usage. L'isolement des premières molécules naturelles actives au début du XIX^e siècle et les travaux de François Magendie (1783-1855) et Claude Bernard (1813-1878) marquent le début de l'« evidence based medicine » avec l'approche scientifique de l'effet dose et de l'action pharmaco-clinique. Les molécules naturelles serviront ensuite de modèles aux chimistes médicinaux, qui vont les améliorer, s'en inspirer, pour préparer des principes actifs plus actifs, plus spécifiques, avec moins d'effets secondaires. Cependant, comme dans d'autres domaines de la recherche, le hasard heureux joue un rôle important à qui sait le repérer.

La part du hasard dans les découvertes

Les chemins qui mènent à la découverte de molécules candidats-médicaments ne suivent pas systématiquement l'orthodoxie des procédures de recherche [2]. La sérendipité, c'est-à-dire le rôle du hasard, est loin d'y être négligeable ; ce mot signifie le fait de réaliser une découverte, une invention de manière inattendue suite à des travaux portant sur un sujet sans rapport. Le terme a été créé par le romancier anglais Horace Walpole dans un courrier du 28 janvier 1754 à son cousin Horace Mann, diplomate en Italie. Walpole indique qu'il vient de résoudre fortuitement une énigme sur l'alliance entre deux familles en consultant un registre d'armoiries. Il s'inspire du titre d'un vieux conte oriental qu'il a lu enfant, « Voyages et aventures des trois princes de Serendip », Serendip étant le nom en vieux persan de l'île de Ceylan. Dans ce conte, par accident et sagacité, les trois princes réalisent toutes sortes de découvertes en exploitant des indices sans lien avec leur mission. Comme l'a écrit Claude Bernard : « J'ai dit, en effet, qu'il ne faut jamais rien négliger dans l'observation des faits, et je regarde comme une règle indispensable de critique expérimentale de ne jamais admettre sans preuve l'existence d'une cause d'erreur dans une expérience, et de chercher toujours à se rendre raison de toutes les circonstances anormales qu'on observe. Il n'y a rien d'accidentel, et ce qui pour nous est accident n'est qu'un fait inconnu qui peut devenir, si on l'explique, l'occasion d'une découverte plus ou moins importante » [3].

Sérendipité avec la pervenche tropicale, en trois épisodes

Dans le domaine de la phytothérapie, l'exemple de la pervenche tropicale ou pervenche de Madagascar,

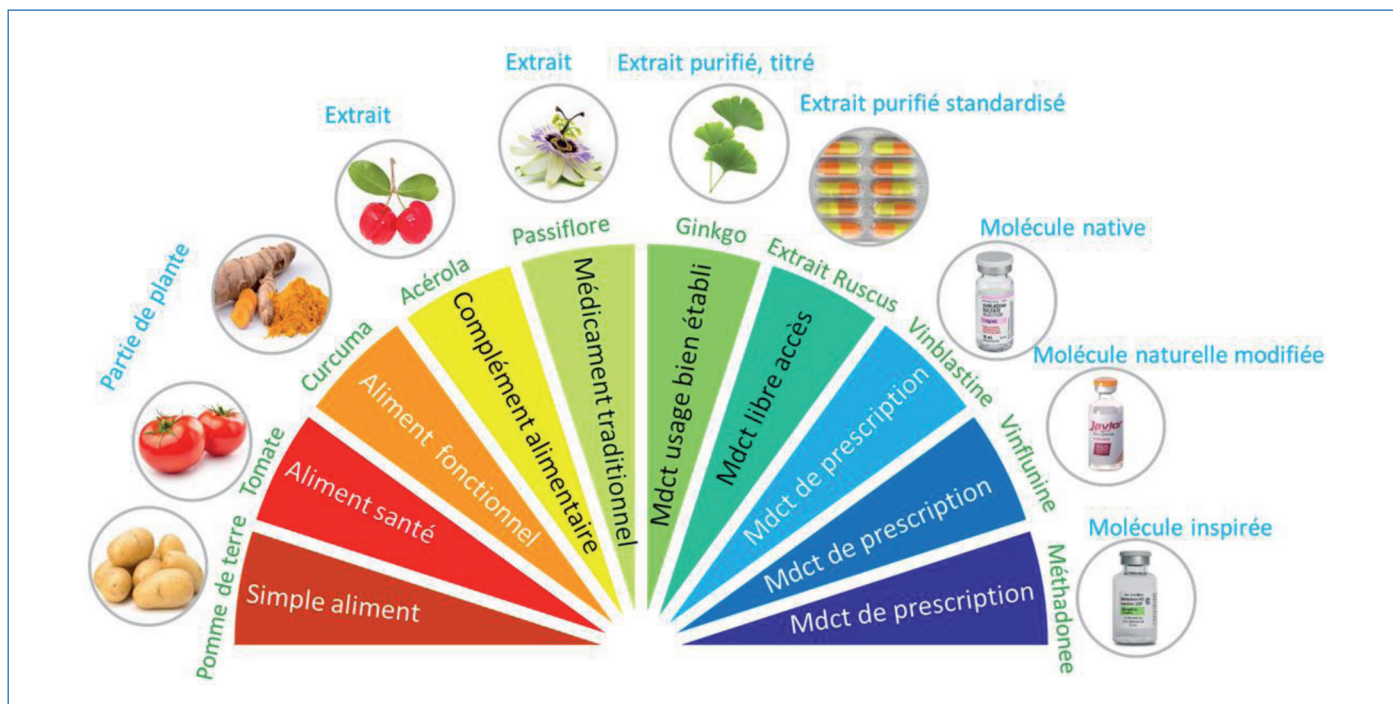


Figure 1 - Palette d'utilisation des végétaux, du simple aliment au principe actif de synthèse inspiré de la nature (d'après [1]).

Catharanthus roseus G. Don (Apocynaceae) (figure 2), illustre parfaitement le rôle de la sérendipité dans la découverte de médicaments. Cette petite plante tropicale, récoltée en 1645 par Étienne de Flacourt à Fort Dauphin (sud-est de Madagascar), est décrite dans son *Histoire de la grande île Madagascar* (1658). Dès le XVIII^e siècle, elle est disséminée dans la plupart des pays tropicaux, où ses indications en médecine traditionnelle sont innombrables : problèmes cardiaques, empoisonnements, coupe-faim, règles douloureuses, diarrhées, antidiabétique, hypotenseur, abortif, vermifuge, fébrifuge ou encore anti-inflammatoire.

En 1949, Robert Noble (1910-1990) et Charles Beer (1915-2010) étudient l'activité antidiabétique de nombreuses substances sur des rats à la Western Ontario University au Canada. À cette période, la communauté scientifique recherche activement des molécules antidiabétiques actives par voie orale afin de s'affranchir des injections d'insuline. Noble reçoit une lettre de son frère aîné Clark, médecin généraliste en Jamaïque, contenant cinq feuilles d'une plante

locale : la pervenche tropicale. L'administration par voie orale à des rats d'un extrait de feuille n'indique aucun effet antidiabétique. L'injection dans l'abdomen entraîne la mort des animaux en cinq jours suite à des abcès multiples dus à une infection généralisée par *Pseudomonas* [4]. Les extraits ayant été stérilisés, nos chercheurs pensent avoir mis la main sur un dérivé corticoïde car la cortisone produit les mêmes effets. Très rare à l'époque, cette dernière fait l'objet d'une active recherche de nouvelles sources, mais Noble et ses collègues ne trouvent aucun dérivé de cortisone. En revanche, ils constatent qu'une simple injection de pervenche induit une diminution considérable des lymphocytes, conséquence d'une action sur la moelle osseuse. Par sérendipité, Noble déduit que cette plante contient un ou plusieurs composés utilisables pour traiter les leucémies, où justement le nombre de globules blancs croît de manière totalement incontrôlée.

Afin d'identifier les produits actifs, Beer étudie l'action de fractions d'extrait brut sur la moelle osseuse où sont produits les globules blancs. Au prix d'un travail fastidieux, il repère que l'activité provient d'un mélange d'alcaloïdes indoliques. De ce mélange complexe, il parvient en 1957 à isoler 100 mg de vinblastine et décelé la présence d'un produit minoritaire également leucopéniant. En parallèle des études des Canadiens, lors d'une recherche systématique d'antitumoraux dans le laboratoire pharmaceutique Eli Lilly à Indianapolis (États-Unis), Gordon Svoboda isole la vincristine, la deuxième substance active entrevue par Beer. Pour parvenir à ce résultat, Eli Lilly a testé plus de 5 000 substances par an sur différents modèles de tumeurs animales. En 1958, lors du congrès de cancérologie à l'Académie des sciences de New York, les deux équipes découvrent mutuellement leurs travaux et décident de collaborer.

Le génie de Robert Noble et de Charles Beer est d'étudier les propriétés inattendues de la pervenche vis-à-vis des multiplications de globules blancs caractéristiques des leucémies plutôt que de s'acharner à chercher un antidiabétique. La vinblastine et la vincristine (figure 3) seront commercialisées respectivement dès 1961 et 1963 dans le traitement des



Figure 2 - La pervenche tropicale ou pervenche de Madagascar.

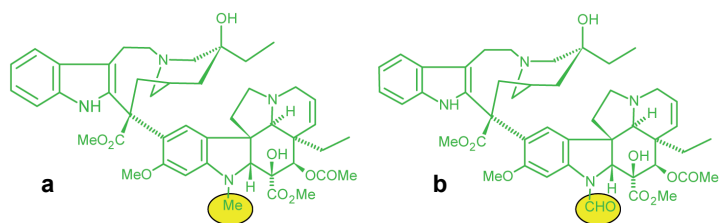


Figure 3 - Vinblastine (a) et vincristine (b) diffèrent respectivement par un groupe méthyle ou formyle.

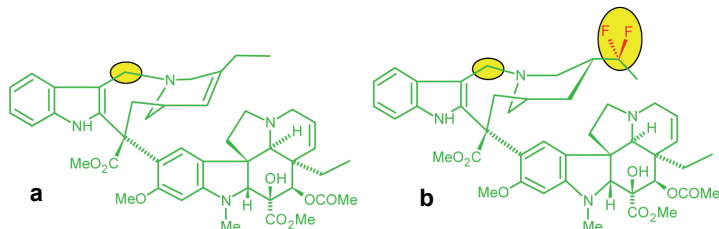


Figure 4 - Vinorelbine (a) et vinflunine (b).

leucémies. Curieusement, l'accès difficile à la littérature scientifique dans ces années pré-Internet leur a porté chance : une publication australienne dès 1928 indiquait que la pervenche tropicale ne possède aucune propriété antidiabétique. Aucun effet diabétique notable n'a d'ailleurs pu être prouvé scientifiquement à ce jour. En effet, l'usage des plantes en médecine traditionnelle ne correspond pas toujours à l'activité scientifiquement démontrée.

Le deuxième épisode concerne la production industrielle de vinblastine et de vincristine, qui pose dès le départ des problèmes d'approvisionnement, la teneur étant extrêmement faible dans le végétal. Il faut en effet plusieurs tonnes de feuilles sèches pour extraire quelques milligrammes de ces deux précieuses molécules anticancéreuses. Une compétition s'engage entre les chimistes du monde entier pour reproduire ces structures complexes. Le chimiste Pierre Potier (1936-2006) et son équipe de l'Institut de Chimie des Substances Naturelles (ICSN) du CNRS à Gif-sur-Yvette parviennent à réaliser les délicates molécules par hémisynthèse, à partir de deux précurseurs présents en quantité relativement élevée dans la plante. De plus, au cours de ce travail de chimie, en utilisant la nouvelle réaction qu'ils viennent de mettre au point, ils repèrent grâce à son activité biologique *in vitro* sur le test « tubuline » un produit minoritaire non naturel, inattendu. Les molécules anticancéreuses de la pervenche agissent sur la tubuline, une protéine constituant du fuseau mitotique. Ce nouveau produit minoritaire présente une activité sur la tubuline, cible biologique de ces composés. La vinorelbine (figure 4a) est développée avec succès par le groupe pharmaceutique Pierre Fabre [5] et devient une spécialité majeure dans le traitement des cancers du poumon et du sein. Cette substance possède l'énorme avantage d'être beaucoup moins toxique que la vinblastine et la vincristine et d'être très active sur les cancers solides. C'est l'un des anticancéreux les plus prescrits, avec plus d'un million de patients traités depuis sa mise sur le marché en 1989. Sa forme orale, d'administration plus facile que la voie injectable, est mise sur le marché depuis 2002.

Troisième épisode, en 1988, les chercheurs des Laboratoires Pierre Fabre décident de soumettre les alcaloïdes de la pervenche à une nouvelle réaction utilisant le fluorure d'hydrogène. L'idée est osée car ces molécules sont fragiles et le milieu réactionnel, qualifié de « superacide » qu'étudie

Jean-Claude Jacquesy du CNRS à Poitiers, est extrêmement agressif. Les conditions sont des milliards de fois plus acides que les acides connus jusqu'alors. L'approche vise à modifier ces molécules sur des positions non accessibles par la chimie classique. Surprise ! Le milieu superacide ne dégrade pas tout et la fragile molécule traitée conduit à un produit nouveau, inaccessible par la chimie classique car gem-fluoré sur le CH_2 de chaîne éthyle. Ce produit se révèle original dès les premiers essais biologiques [6]. L'activité lors des essais *in vitro* est modeste mais bien supérieure *in vivo* sur les modèles tumoraux. La vinflunine est née (figure 4b). Des travaux de développement chimique innovants et des investigations cliniques permettent d'obtenir l'autorisation de mise sur le marché en 2009 pour l'indication cancer de la vessie.

En définitive, dans le domaine de la recherche sur les substances naturelles, la sérendipité peut conduire à des résultats au-delà de toute attente. Selon l'expression malicieuse de Pierre Potier, la sérendipité amène parfois à « découvrir la fille du fermier dans la meule de foin alors que l'on n'y recherchait qu'une aiguille ! ». Toutefois, elle peut certainement être favorisée par une recherche disposant d'un cadre tolérant pour sortir à bon escient des sentiers battus, encourageant les esprits préparés, car comme le soulignait Louis Pasteur le 7 décembre 1854 à Douai à l'occasion de l'inauguration de la Faculté des sciences de Lille : « Dans les champs de l'observation, le hasard ne favorise que les esprits préparés » [7].

Criblage systématique au NCI

L'approche systématique qui repose sur le hasard lié aux grands nombres peut également conduire à des résultats. Créé en 1937 aux États-Unis, le National Cancer Institute (NCI) démarre en 1960 un vaste programme de criblage qui, dans la première phase, étudie plus de 35 000 extraits végétaux sur des lignées cellulaires *in vitro*. Parmi les résultats, nous pouvons citer le paclitaxel, extrait de l'écorce de l'if du Pacifique (*Taxus brevifolia* Nutt.), et la camptothécine, extraite de l'arbre du bonheur (*Camptotheca acuminata* Decne).

Les taxoïdes

Dans le cadre de ce vaste programme de criblage du NCI, des échantillons d'écorce d'if du Pacifique sont initialement collectés le 21 août 1962 par Arthur Barclay du Département américain de l'agriculture (USDA), sous contrat avec le NCI. Les extraits bruts destinés à être testés sur une lignée cellulaire tumorale sont préparés dans le Wisconsin, puis Monroe Wall et Mansukh Wani, du Research Triangle Institute de Caroline du Nord, découvrent l'activité cytotoxique significative des extraits. Wall décide en 1965 de nommer la substance active « taxol », en pensant qu'il s'agit d'un alcool. La molécule étant en faible concentration, complexe avec onze centres asymétriques, la structure chimique n'est finalement publiée qu'en 1971. Le nom du taxol est désormais paclitaxel (figure 5a).

En août 1978, Susan Horwitz, du Collège de médecine Albert Einstein de New York, étudie le mécanisme d'action du paclitaxel et découvre qu'il inhibe la division cellulaire en stabilisant fortement les microtubules, composants du fuseau mitotique.

La faible teneur dans les écorces, les difficultés de récolte, l'impossibilité d'une synthèse totale et la faible hydrosolubilité ralentissent le développement clinique. Néanmoins, le médicament s'étant révélé efficace sur le cancer de l'ovaire et les tumeurs mammaires, les chercheurs isolent de grandes

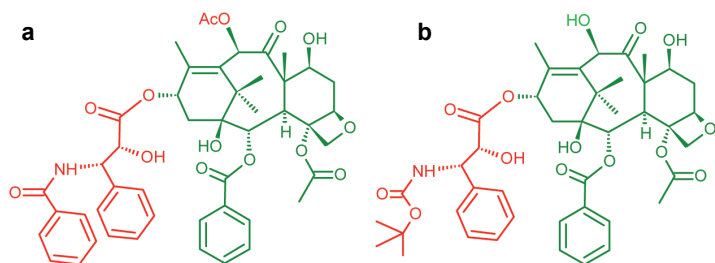


Figure 5 - Paclitaxel (a) et docétaxel (b) (10-DAB III en vert).

quantités de paclitaxel en abattant des dizaines de milliers d'ifs centenaires pour poursuivre le développement clinique. La solution au problème d'approvisionnement en paclitaxel viendra une fois de plus du groupe de Pierre Potier à l'ICSN qui, grâce au test tubuline, identifie un potentiel précurseur du paclitaxel dans les feuilles de l'if européen. Ce précurseur, la 10-desacétylbaccatine III (10-DAB III), peut par hémisynthèse conduire au précieux paclitaxel. La 10-DAB III est présente en grande quantité dans les feuilles qui sont de plus renouvelables, contrairement aux écorces qui nécessitent l'abattage de l'arbre. Elle avait échappé aux chercheurs américains car elle n'est pas cytotoxique et seulement légèrement active sur le test tubuline *in vitro*. Lors des études pour accéder par hémisynthèse au paclitaxel à partir de la 10-DAB III, le test tubuline permet d'identifier en 1985 un intermédiaire actif sur la tubuline qui sera développé par Rhône-Poulenc Rorer sous le nom de docétaxel (figure 5b). Le paclitaxel hémisynthétique est commercialisé à partir de 1995, ce qui permet de s'affranchir des écorces et de l'abattage des arbres ; le docétaxel (molécule non naturelle) est mis sur le marché en 1996 [8].

La camptothécine

Un extrait de fruits de *Camptotheca acuminata* Decne de la famille des Nyssaceae est identifié comme potentiellement anticancéreux en 1958 par Jonathan Hartwell. L'espèce est appelée arbre du bonheur en Chine 喜树 (xǐshù) car cette plante est appréciée pour ses propriétés médicinales (asthme, maux de tête...) par les minorités ethniques du sud-ouest de la Chine [9] (figure 6).



Figure 6 - Rameau de l'arbre du bonheur en fruits.

Suite à l'observation d'Hartwell, la camptothécine isolée par Wani et Wall démontre des résultats prometteurs sur des modèles animaux et des essais cliniques débutent au NCI dans les années 1970. Cependant, elle démontre une toxicité vésicale sévère et les études cliniques sont interrompues. Lorsque son activité pharmacologique très spécifique en tant

qu'inhibiteur de la topoisomérase I est découverte dans les années 1980, une série de dérivés semi-synthétiques plus hydrosolubles et moins toxiques est préparée. Deux dérivés, le topotécan et l'irinotécan, sont développés et commercialisés, notamment pour les cancers ovariens et colorectaux (figure 7).

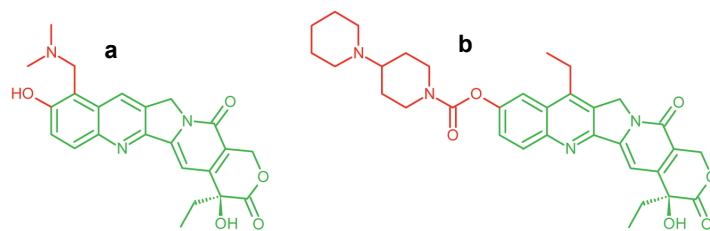


Figure 7 - Topotécan (a) et irinotécan (b), dérivés hémisynthétiques de la camptothécine (en vert).

Le criblage à haut débit : de la molécule au chevet du patient

Depuis les années 1980, grâce aux progrès de la miniaturisation, de l'automatisation et de la robotisation des essais biologiques, il est possible d'évaluer des centaines de milliers de molécules par criblage à haut débit. Le principe de ce « high throughput screening » (HTS) est de réaliser les essais biologiques dans des plaques de microtitration sur des enzymes, des récepteurs ou des canaux ioniques avec les substances à évaluer.

Contrairement à l'approche historique qui part des effets cliniques observés sur le patient et descend dans l'infiniment petit pour comprendre la justification au niveau moléculaire, l'approche criblage à haut débit recherche des effecteurs au niveau moléculaire pour ensuite remonter vers le patient. Depuis les années 2005, une nouvelle approche holistique est venue compléter les stratégies précédentes avec la médecine translationnelle [10] qui exploite les données à tous les niveaux, depuis l'échelle moléculaire jusqu'au niveau clinique au chevet du patient (figure 8).

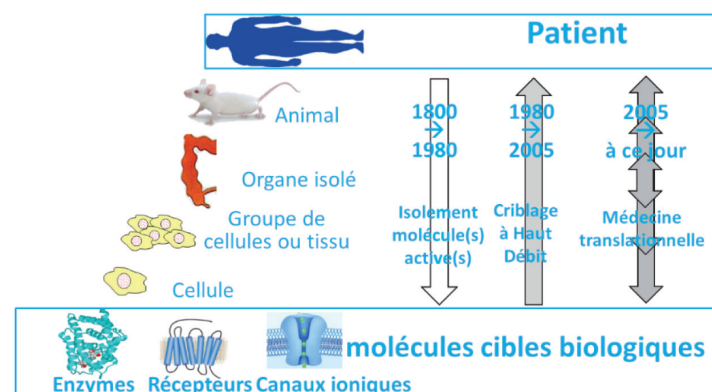


Figure 8 - Évolution des approches.

La recherche de candidats-médicaments à partir des plantes présente de nombreux avantages. Le nombre et la chimiodiversité des métabolites secondaires dans les végétaux sont considérables – plus de 200 000 structures différentes ont été décrites. Ces substances utilisées depuis des temps immémoriaux en thérapeutique ont apporté la preuve de concept [11] et démontré leur intérêt et efficacité. Les molécules naturelles sont produites avec de nombreux dérivés parents, ce qui facilite l'étude des relations structure-activité quantitatives. Ces composés sélectionnés par l'évolution sont produits par

le vivant pour être actifs sur le vivant ; ils sont donc formatés pour être bioactifs et ont ainsi un avantage sur des molécules fabriquées au hasard par des chimistes organiciens. Ils sont tridimensionnels, possèdent une proportion de carbones sp^3 élevée (F_{sp^3} élevé) et de nombreux centres chiraux, paramètres d'importance pour les principes actifs.

Par contre, plusieurs inconvénients compliquent le travail des phytochimistes. Il est impossible d'isoler et d'évaluer chaque molécule une à une : nous devons étudier des mélanges, ce qui entraîne des interactions biologiques entre les composés et la cible pharmacologique. Les polyphénols par exemple réagissent de manière non spécifique avec les protéines, donc avec les enzymes, récepteurs et canaux ioniques. Quand un extrait ou une fraction se révèle actif, des analyses complémentaires (fractionnement bioguidé/déréplication) sont nécessaires pour identifier les molécules responsables de l'activité. De plus, la composition chimique d'individus végétaux de la même espèce peut varier en fonction de la saison, du sol et de divers paramètres, dont la présence d'autres organismes au sein du végétal comme des champignons endophytes. L'approvisionnement en végétaux n'est

pas simple. Les aspects juridiques liés aux réglementations nationales récentes d'accès aux ressources génétiques sont à prendre en compte [12] et peuvent être complexes. Ces obligations – partage des avantages en contrepartie de l'accès au matériel végétal – résultent de la Convention sur la diversité biologique (Rio de Janeiro, Brésil, juin 1992) et du Protocole de Nagoya (Nagoya, Japon, octobre 2010). L'identification univoque des collectes nécessite la présence de fleurs ou de fruits, ce qui n'est pas toujours le cas. L'expertise des botanistes identificateurs est menacée car généralement peu enseignée et peu valorisée. Les collectes et recollectes du végétal en plus grandes quantités sont souvent aléatoires et complexes, ainsi que la production des substances actives en quantités industrielles. Les substances naturelles doivent être optimisées car les plantes ne les ont pas sélectionnées pour leur capacité à apporter des solutions thérapeutiques pour les pathologies humaines. Enfin, la protection intellectuelle des produits naturels assurant un indispensable retour sur investissement de la recherche et du développement n'est pas simple. Tout cela explique le recul de cette approche au début des années 2000.

L'expérience du Groupe Pierre Fabre

Le groupe Pierre Fabre est né dans une officine pharmaceutique à Castres en 1961, où le jeune pharmacien Pierre Fabre (1926-2013) imagine et développe son premier médicament, un veinotonique extrait du petit houx *Ruscus aculeatus* L. (Asparagaceae) qui pousse dans les sous-bois de la région. Une innovation pour tous ses patients souffrant de troubles veineux. Sa commercialisation est un succès immédiat, qui perdure encore aujourd'hui et a permis à son officine de devenir un groupe de taille internationale avec plus de 11 000 collaborateurs*. À côté de la vinorelbine et de la vinflumine, parmi les grands médicaments de ce groupe, nous pouvons également citer l'extrait de drupes de *Serenoa repens* (W. Bartram) Small (Arecaceae), le palmier scie de Floride, indiqué dans le traitement de l'hyperplasie bénigne de la prostate. Pour les Laboratoires Pierre Fabre, les végétaux sont toujours importants et représentent près de 40 % du chiffre d'affaires (secteurs médical et dermo-cosmétique).

Un grand programme de criblage d'extraits végétaux a été mené de 1998 à 2015 avec le CNRS et dans les premières années avec l'Institut de recherche pour le développement (IRD). L'objectif était d'isoler des molécules candidats-médicaments à travers des campagnes d'essais biologiques réalisées sur un très grand nombre et une très grande diversité d'extraits végétaux ; la bibliothèque de parties de plantes sèches étant la plus grande collection privée au monde avec plus de 17 000 échantillons végétaux**.

Le bilan du programme de criblage est important : environ 65 campagnes de criblage à haut débit réalisées ; plus de 2 000 molécules naturelles actives isolées et identifiées par différents moyens d'analyse structurale (spectrométrie de masse et résonance magnétique nucléaire mono et bidimensionnelle) ; plus de 100 molécules évaluées en préclinique, mais aucune étude clinique n'a été engagée (voir figure).



Les différentes étapes de l'échantillon végétal à l'identification des « hits », en passant par le criblage à haut débit (HTS).

* www.pierre-fabre.com/fr

** B. David, F. Ausseil, High throughput screening of vegetal natural substances (chap. 44), in *Handbook of Chemical and Biological Plant Analytical Methods*, K. Hostettmann (ed.), John Wiley & Sons, 2014, p. 987-1010, <https://doi.org/10.1002/9780470027318.a9944>

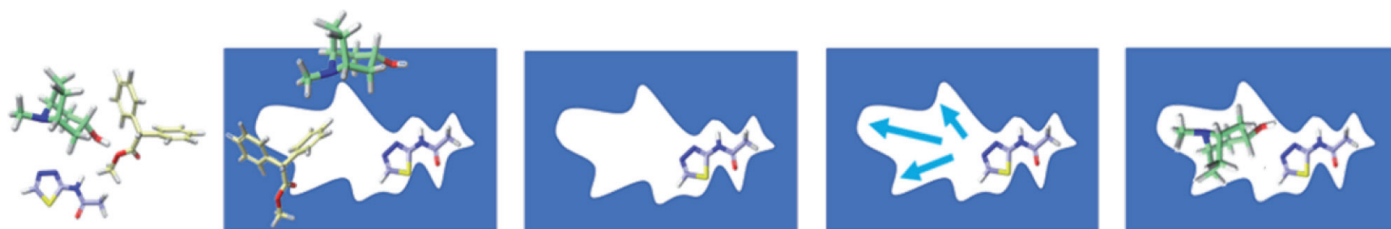


Figure 9 - Principe de l'approche des fragments naturels.

Du « hit » au principe actif

L'approche fragments naturels

L'approche des fragments naturels (« fragment based drug discovery », FBDD) consiste à rechercher des sous-parties de ligand avec une haute affinité relative à leur petite taille pour ensuite les combiner et les faire grossir pour optimiser les interactions avec le site global de fixation. C'est une démarche originale car contrairement au criblage à haut débit qui recherche des effecteurs prêts à l'emploi avec une haute affinité, une masse moléculaire d'environ 500 Da, on recherche ici des briques (entre 150 et 250 Da : les fragments) utiles pour un bon ancrage pharmacophorique global. Pour donner une image, au lieu de chercher la clé qui correspond à la serrure que l'on veut ouvrir, on agit en combinant des sous-parties de clés (figure 9). La détection de l'interaction se fait par des méthodes biophysiques : résonance magnétique nucléaire (RMN) du récepteur protéique ou du ligand, spectrométrie de masse haute résolution, cristallographie rayons X ou résonance plasmonique de surface.

Le potentiel de croissance d'un fragment de 150 Da est considérable (figure 10). Par criblage à haut débit, le nombre de grosses molécules potentielles à préparer et évaluer pour couvrir l'espace de diversité chimique est impossible à atteindre ($> 10^{60}$ composés). De plus, les touches (« hits ») doivent être optimisées, ce qui impose une déconstruction et une reconstruction car la chimie médicinale fonctionne surtout par addition d'éléments. L'approche fragments au contraire est directe (figure 11), et a démontré son efficacité et sa rapidité. Deux molécules issues de cette stratégie sont sur le marché en oncologie : le vemurafenib (Roche) depuis 2011, développé en six ans seulement par Plexikon, et le vénétoclax (Abbvie, Genentech) depuis 2016. Plusieurs dizaines de composés sont actuellement en phase clinique.

L'approche FBDD, à partir de fragments végétaux, est particulièrement originale [13]. Cette stratégie a été développée entre 2017 et 2018 en collaboration entre l'Institut de Recherche Pierre Fabre et NovAliX (<https://novalix.com>). Les fragments naturels combinent les avantages des fragments et ceux des produits naturels : bioactivité, tridimensionnalité, possibilité de croissance, faible aromaticité, grande chimio-diversité, etc. Les résultats préliminaires utilisant des fragments naturels végétaux confirment la démarche et offrent des perspectives pour le développement de nouveaux candidats-médicaments.

D'autres approches, d'autres découvertes

Le statut « botanical drugs », c'est-à-dire des extraits végétaux avec des indications médicales majeures, laisse entrevoir la fin de la vision dominante d'un principe actif unique pour une cible pharmacologique unique. Pour la Food and Drug Administration (FDA) américaine, l'identification précise des constituants

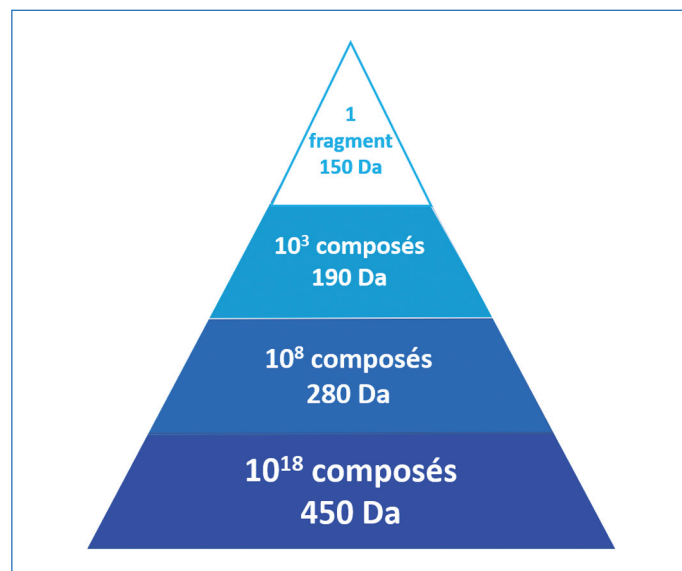


Figure 10 - Potentiel de croissance d'un fragment de 150 Da.

actifs d'un extrait végétal n'est pas une condition préalable au développement de médicaments sous ce statut. C'est le cas de l'extrait de thé vert riche en sinécatechines (des tanins), reconnu par les agences de santé pour son efficacité dans le traitement des verrues génitales. Autre exemple, le crofelemer, un extrait également riche en tanins d'un arbre sud-américain, le « sang de dragon » (*Croton lechleri* Müll. Arg.), est autorisé pour le traitement des diarrhées associées aux médicaments anti-VIH et des diarrhées des patients atteints du syndrome du côlon irritable [14].

Les molécules d'origines naturelles peuvent comme les autres principes actifs trouver d'autres indications, c'est ce que l'on appelle le repositionnement, ce qui offre de nombreuses perspectives. Les évolutions de l'ingénierie métabolique des végétaux ouvrent également des champs nouveaux en « drug discovery ». De nouvelles techniques, comme la métabolomique qui utilise des réseaux moléculaires et de grosses bases de données, permettent une meilleure et rapide connaissance des molécules naturelles présentes dans les plantes [15].

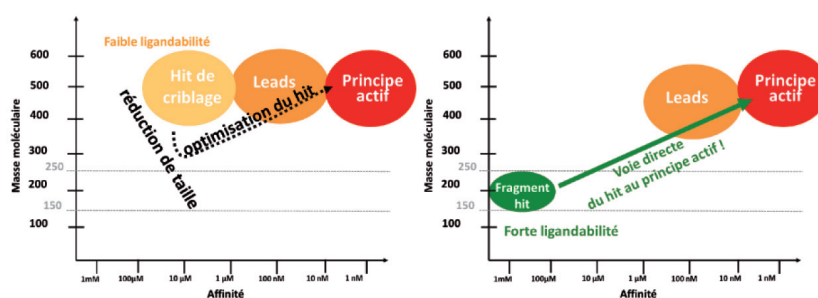


Figure 11 - Comparaison des stratégies criblage haut débit et fragments (FBDD).

Malgré les progrès technologiques récents en phytochimie, de nombreux composés d'intérêt thérapeutique ont déjà été découverts et la productivité semble se tarir. Quelques résultats apparaissent cependant de temps en temps. Par exemple, le tiglolate de tigilanol, isolé récemment de *Fontainea picrosperma* C.T. White, une Euphorbiaceae australienne, est un composé prometteur dans le domaine de l'oncologie [16]. Cette molécule est issue d'une campagne de bioprospection dans les forêts tropicales pluviales du Queensland, une zone de biodiversité végétale encore relativement peu étudiée d'un point de vue phytochimique. En raison du grand nombre d'espèces endémiques présentes, un criblage systématique aurait été trop lourd. Ainsi, pour sélectionner les plantes à étudier, il a été décidé d'introduire des critères bioécologiques. *Fontainea picrosperma* est un petit arbre endémique d'une zone (environ 20 km²) des plateaux d'Atherton dans le nord du Queensland. Sa population est estimée à seulement 20 000 individus environ. L'arbre produit des fruits charnus de la taille d'un abricot contenant une seule graine protégée par une enveloppe. Pour disperser ses graines, cet arbre compte sur la collaboration d'animaux (oiseaux, mammifères, marsupiaux) qui, en échange de la dispersion des fruits, consomment la pulpe charnue, mais la graine est efficacement protégée par une double défense physique et chimique : enveloppe lignifiée et composés chimiques dissuasifs. Lorsqu'un animal consomme la pulpe, il recrache immédiatement la graine très âcre. L'espèce a été bien nommée par les botanistes car « *picrosperma* » signifie « graine âcre ». Ainsi, la plante qui a besoin des animaux pour assurer la dispersion des graines a développé une stratégie intéressante : les animaux transportent le fruit, et en contrepartie, ils peuvent en consommer la partie charnue mais doivent absolument laisser intacte la graine. La graine et ses réserves sont efficacement protégées par un poison redoutablement dissuasif : des esters de phorbol en concentration jamais rapportée dans la nature. Les esters de phorbol sont répandus dans la famille des Euphorbiaceae, mais leur concentration dépasse rarement 10 ppm. La graine de *Fontainea picrosperma* en contient jusqu'à 6 % ; le composé majoritaire d'intérêt en thérapeutique est le tiglolate de tigilanol (figure 12).

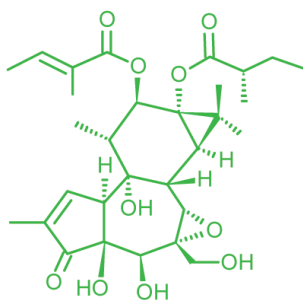


Figure 12 - Le tiglolate de tigilanol.

D'un point de vue structural, ce composé est un hybride entre les tiglianes et les daphnanes. Cette molécule injectée dans la tumeur cutanée génère une inflammation qui entraîne un effet immunitaire favorable avec le recrutement de neutrophiles, de macrophages et une réduction de l'apport sanguin conduisant à l'apoptose. Les résultats des études cliniques en cours sont très prometteurs. Des observations d'écologie chimique sur le terrain peuvent donc être déterminantes en « drug discovery ».

Vers les molécules minoritaires

Les substances naturelles végétales, en dépit de plusieurs siècles d'études et de vastes programmes de recherche systématiques, présentent toujours un intérêt considérable en santé humaine. De nombreuses substances d'intérêt thérapeutique restent à découvrir dans les végétaux, mais il y a urgence car les milieux naturels régressent très rapidement. Les molécules actives abondantes dans les plantes ayant été découvertes, les chercheurs doivent se tourner désormais vers les molécules minoritaires. Gardons en tête que les molécules naturelles n'ayant pas été sélectionnées par l'évolution pour traiter des pathologies humaines, elles doivent être optimisées par chimie médicinale.

N'opposons pas naturel et chimique, la naturalité ne rime pas avec l'innocuité, les pires poisons sont dans la nature.

La valorisation de la biodiversité devrait être un outil synergique de développement durable grâce aux réglementations nationales d'accès aux ressources génétiques [12] qui assureront la sécurité juridique dont les chercheurs académiques et industriels ont besoin pour mener leurs recherches.

Cet article fait suite à l'intervention lors du colloque « Les substances naturelles : la panacée ? » le 27 novembre 2019 à la Maison de la Chimie (<https://actions.maisondelachimie.com/colloque/substances-naturelles>).

- [1] M. Heinrich *et al.*, Unlocking high-value botanical value chains: is there a role for blockchain systems?, *Front. Pharmacol.*, **2019**, *10*, 396, <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00396>
- [2] C. Bohuon, C. Monneret, *Fabuleux hasards. Histoire de la découverte de médicaments*, EDP Sciences, **2009**; C. Monneret, La sérendipité, un chemin de traverse à suivre..., *L'Act. Chim.*, **2014**, *385*, p. 7-8.
- [3] C. Bernard, *Introduction à l'étude de la médecine expérimentale*, Garnier-Flammarion, Paris, **1865** (réédition 1971).
- [4] R.L. Noble, C.T. Beer, J.H. Cutts, Role of chance observations in chemotherapy: *Vinca rosea*, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **1958**, *76*, p. 882-94.
- [5] P. Potier, Synthesis of the antitumor dimeric indole alkaloids from *Catharanthus* species (vinblastine group), *J. Nat. Prod.*, **1980**, *43*, p. 72-86.
- [6] J. Fahy *et al.*, Vinca alkaloids in superacidic media: a method for creating a new family of antitumor derivatives, *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**, *119*, p. 8576-77.
- [7] L. Pasteur Vallery-Radot, *Œuvres de Pasteur*, tome 7, Masson, Paris, **1939**.
- [8] D. Guénard, F. Guéritte, P. Potier, Produits naturels anticancéreux : la Navelbine® et le Taxotère®, *L'Act. Chim.*, **2003**, *265*, p. 89-92.
- [9] S.Y. Li, W.L. Zhang, Ethnobotany of *Camptotheca* Decaisne: new discoveries of old medicinal uses, *Pharm. Crop.*, **2014**, *5* (suppl. 2), p. 140-45.
- [10] F. Chassagne, G. Cabanac, G. Hubert, B. David, G. Marti, The landscape of natural product diversity and their pharmacological relevance from a focus on the *Dictionary of Natural Products*®, *Phytochem. Rev.*, **2019**, *18*, p. 601-22.
- [11] D.J. Newman, G.M. Cragg, Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019, *J. Nat. Prod.*, **2020**, *83*, p. 770-803.
- [12] B. David, L'accès et le Partage des Avantages (APA) : point sur les récentes réglementations d'accès aux ressources génétiques, *La Phytothérapie Européenne*, **2019**, *112*, p. 5-12.
- [13] B. David, A. Grondin, P. Schambel, M. Vitorino, D. Zeyer, Renewed interest in natural products with a natural fragment library, a new and disruptive approach for innovative drug discovery, *Phytochem. Rev.*, **2020**, *19*, p. 1141-56.
- [14] B. David, J.-L. Wolfender, D. Diaz, The pharmaceutical industry and natural products: historical status and new trends, *Phytochem. Rev.*, **2015**, *14*, p. 299-315.
- [15] J.-L. Wolfender, M. Litaudon, D. Touboul, E. Ferreira Queiroz, Innovative omics-based approaches for prioritisation and targeted isolation of natural products: new strategies for drug discovery, *Nat. Prod. Rep.*, **2019**, *36*, p. 855-68.
- [16] B.J. Panizza *et al.*, Phase I dose-escalation study to determine the safety, tolerability, preliminary efficacy and pharmacokinetics of an intratumoral injection of tigilanol tiglate (EBC-46), *EBioMedicine*, <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2019.11.037>

Bruno DAVID,

Ancien directeur Phytochimie et Biodiversité, Green Mission Pierre Fabre, Laboratoires Pierre Fabre, et membre de l'Académie nationale de pharmacie.

* brunoxdavid@gmail.com