

Produits naturels anticancéreux

La Navelbine[®] et le Taxotère[®]

Daniel Guénard, Françoise Guéritte et Pierre Potier

Summary

Anticancer natural products: Navelbine[®] and Taxotère[®]

Research on natural substances extracted from the Madagascar periwinkle (*Catharanthus roseus*) and the European yew tree (*Taxus baccata*) led to the discovery of two major anticancer drugs: Navelbine[®] and Taxotère[®]. Phytochemical studies on these plants, mastery of an appropriate biochemical assay (tubulin assay) together with efficient semisynthesis allowed to select these two compounds which have then been developed by two French pharmaceutical companies.

Mots-clés

Taxus, Catharanthus, vinorelbine, docetaxel, tubuline.

Key-words

Taxus, Catharanthus, vinorelbine, docetaxel, tubulin.

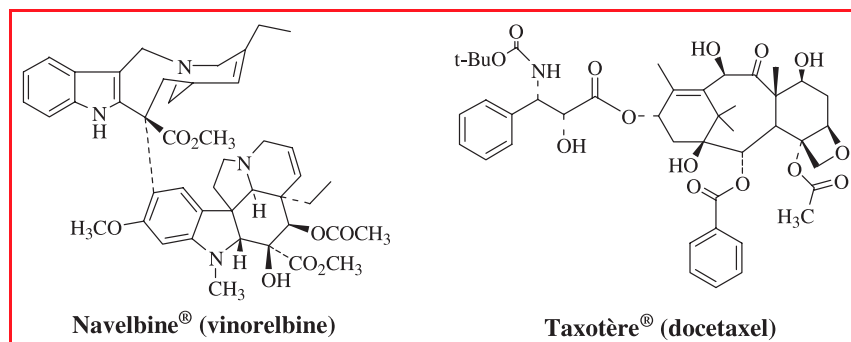


Schéma 1 - La Navelbine[®] et le Taxotère[®].

Les études chimiques portant sur les substances naturelles ont été l'un des principaux axes de recherches développés à l'Institut de Chimie des Substances Naturelles depuis sa création en 1960. Progressivement, l'activité biologique liée à ces substances s'est imposée comme un moteur essentiel de ces travaux. Ceci s'est particulièrement vérifié dans les études menées dans les années 70 sur les composés de type Vinblastine, alcaloïde bis-indolique antitumoral isolé de *Catharanthus roseus* [1], et dans les années 80-90, sur les diterpènes de type Taxol[®], taxoïde extrait, à l'origine, des écorces de l'if du Pacifique, *Taxus brevifolia* [2].

Dans ces deux exemples, l'hypothèse biogénétique de la formation *in vivo* (dans la plante) des composés naturels a été d'une importance capitale dans la réalisation de synthèses biomimétiques efficaces conduisant non seulement à la Vinblastine[®] et au Taxol[®], mais aussi à de nombreux analogues non naturels dans chacune de ces deux familles. De plus, la juxtaposition de ce savoir-faire en synthèse chimique et les études réalisées sur un modèle biologique impliqué dans la division cellulaire, le système tubuline-microtubule, ont naturellement conduit à la mise en évidence d'autres

composés actifs susceptibles de développement thérapeutique.

Grâce à des collaborations efficaces entre le CNRS et l'industrie pharmaceutique, la Navelbine[®] (vinorelbine) et le Taxotère[®] (docetaxel) (schéma 1) ont ainsi pu être développés en tant que médicaments anticancéreux, respectivement par les Laboratoires Pierre Fabre et Rhône-Poulenc Rorer (RPR), devenu Aventis après sa fusion avec Hoechst.

La Navelbine[®] ou vinorelbine D.C.

Dans les années 70, plusieurs équipes se sont intéressées à la synthèse de la vinblastine (schéma 2), composé naturel isolé des feuilles de *Catharanthus roseus*, et utilisé, notamment, dans le traitement de la maladie de Hodgkin et de lymphomes. Les études réalisées à l'ICSN (équipe de Nicole et Yves Langlois) sur la synthèse

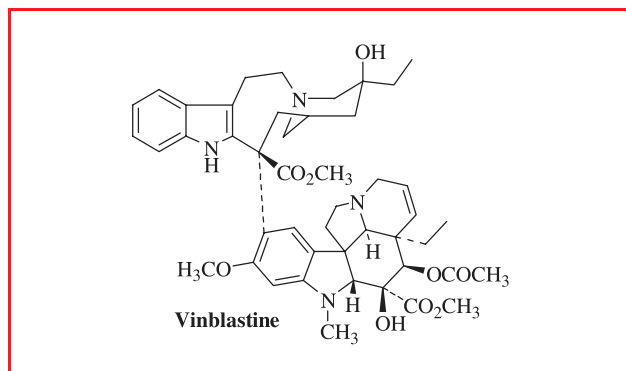


Schéma 2 - La vinblastine.

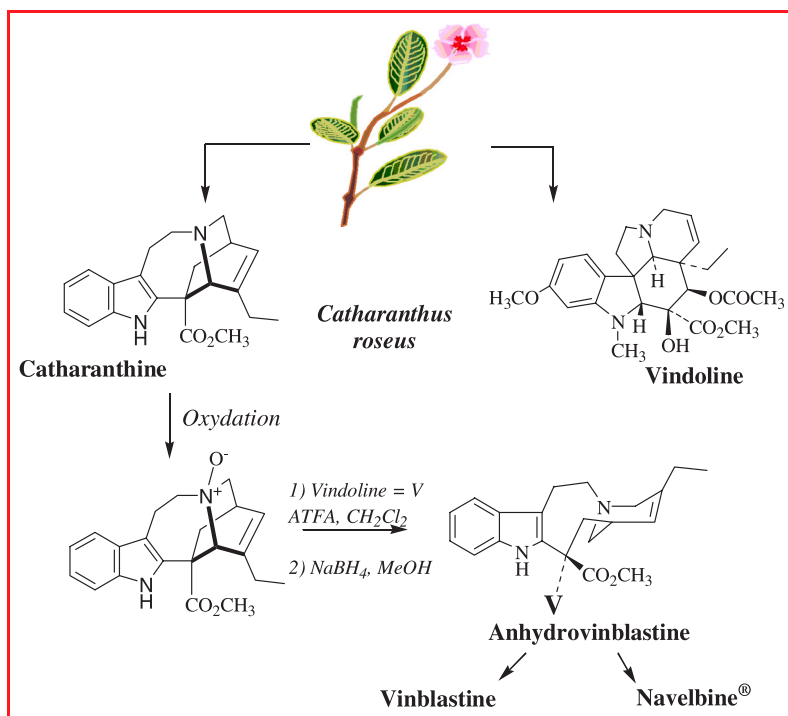


Schéma 3 - Synthèse de l'anhydrovinblastine.

biomimétique de cet alcaloïde ont conduit à l'obtention du premier alcaloïde de type vinblastine : l'anhydrovinblastine. Cette synthèse (schéma 3) fait intervenir le couplage de deux alcaloïdes majoritaires isolés de *Catharanthus roseus* (la catharanthine et la vindoline) [3]. Dans un premier temps, la catharanthine est oxydée pour conduire au N₅-oxyde correspondant ; puis, par traitement dans les conditions de la réaction de Polonovski-Potier et réduction, l'anhydrovinblastine, correspondant à l'une des formes déshydratées de la vinblastine, est obtenue. Des études biosynthétiques ont démontré plus tard que ce nouveau composé était bien un produit naturel formé dans la plante à partir de catharanthine et de vindoline [4] : la « paillasse » avait précédé la Nature ! Ce procédé de synthèse et les modifications chimiques réalisées sur l'anhydrovinblastine ont ensuite conduit à la vinblastine [5], ainsi qu'à de nouvelles séries chimiques, inaccessibles jusqu'alors et « non naturelles » [6].

Dans les années 70, la cible biologique responsable de l'activité anticancéreuse de la vinblastine était identifiée [7] : il s'agissait de la tubuline, protéine hétérodimérique d'environ 100 000 Da., responsable, sous sa forme polymérisée (le microtubule), de la constitution du fuseau mitotique. Ces études ont montré que la vinblastine et les composés de cette famille sont des inhibiteurs de la polymérisation de la tubuline en microtubules. Ce système biologique pouvait, de plus, être facilement préparé à partir de cervelles de mammifères et constituer un test assez simple de prédiction d'activité. L'application de ce test aux dérivés de la vinblastine a permis d'avoir une connaissance rapide et assez fiable de l'intérêt de ceux-ci. L'observation fine de l'interaction de ces composés avec la tubuline a montré que, parmi tous les analogues synthétisés, un dérivé (la Navelbine®), produit secondaire d'une réaction [6], possédait un comportement un peu différent de celui des produits de référence [8]. Après de multiples efforts, aussi bien chimiques que pharmacologiques, la Navelbine® fut commercialisée par les Laboratoires Pierre Fabre et utilisée

en chimiothérapie anticancéreuse, notamment dans le traitement des cancers du sein et du poumon non à petites cellules.

Le Taxotère® (docetaxel)

C'est à la fin des années 70 que le Taxol® a été décrit en tant que nouveau poison du fuseau avec un mécanisme d'action original sur la tubuline : inhibition de la dépolymérisation des microtubules en tubuline. Cette substance avait été sélectionnée au cours d'une campagne mondiale, organisée par le NCI, de prospection de nouveaux agents anticancéreux dans le monde végétal. Le Taxol® (schéma 4), extrait en très faible quantité des écorces de l'if du Pacifique (*Taxus brevifolia*) [2], présentait une forte cytotoxicité et une activité de type antimittotique. En 1979, Susan Horwitz mettait en évidence le mécanisme d'action original du Taxol® [9].

Compte-tenu de l'origine naturelle du Taxol® et de l'activité biologique *in vitro* que nous maîtrisons, il nous était possible d'entreprendre une étude complète sur cette famille de produits en tenant compte des directions suivantes : i) l'étude chimique serait conduite sur l'if commun européen (*Taxus baccata*), dont de nombreux spécimens croissaient autour du

laboratoire, afin de trouver des substances bioactives analogues au Taxol® ou pouvant servir de base à la synthèse du Taxol® et de ses dérivés, et ii) l'activité biologique des composés naturels isolés et synthétiques serait suivie systématiquement par le test tubuline. Parallèlement, une relation était établie entre un laboratoire pharmaceutique, Rhône-Poulenc Santé, et nous-mêmes de manière à assurer les évaluations biologiques *in vivo* et un éventuel développement.

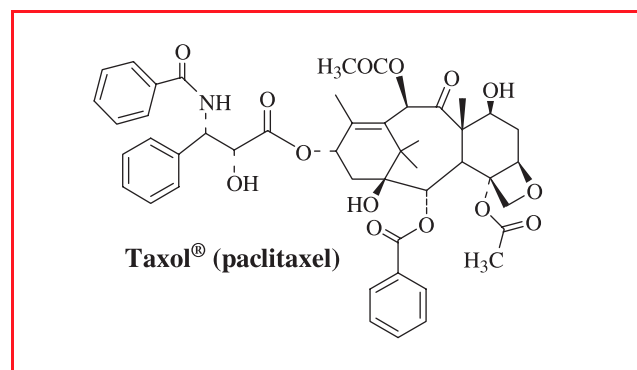


Schéma 4 - Le Taxol®.

Le test tubuline s'est révélé tout à fait prédictif puisque le Taxol®, ainsi que d'autres taxoïdes actifs, ont été isolés rapidement des écorces de l'if [10]. De plus, la sensibilité du test tubuline permet de déceler la présence, dans les feuilles de *Taxus baccata*, de la 10-désacétylbaccatine III (DAB) atoxique sur les lignées cellulaires cancéreuses [10]. Ce produit naturel, isolé en plus grandes quantités que le Taxol®, d'une source naturelle renouvelable (les feuilles d'if), représentait une excellente matière première pour une synthèse biomimétique du Taxol® et d'autres analogues structuraux. En effet, si la 10-désacétylbaccatine III peut être isolée facilement des feuilles de l'if avec des rendements

satisfaisants (environ 1 g/kg de feuilles sèches), l'obtention du Taxol® à partir des écorces est laborieuse, peu rentable (environ 100 mg/kg d'écorces sèches), et nécessite l'abattage des arbres.

La mise au point d'une synthèse biomimétique du Taxol® et d'analogues structuraux a été immédiatement envisagée. Compte tenu de la structure de la 10-désacétylbaccatine III, et de sa réactivité chimique, les groupements en C-7 et C-10, plus réactifs que l'hydroxyle en C-13, ont tout d'abord été protégés afin d'estérifier ce dernier par un acide correspondant à la chaîne latérale du Taxol® (schéma 5, voie b), ou par un acide précurseur de cette chaîne (schéma 5, voie a). Dans un premier temps, l'estérification par l'acide cinnamique commercial permettait l'accès à l'ester *trans*-cinnamate susceptible de conduire au dérivé 2'-hydroxy-3'-aminé de type Taxol®. Ainsi, en appliquant une réaction d'hydroxyamination selon Sharpless sur cet ester, les atomes d'azote et d'oxygène ont été correctement placés pour conduire à un dérivé présentant un groupement BOC (choisi pour sa déprotection aisée permettant l'accès au 10-désacétyltaxol) sur l'azote en 3' et une fonction hydroxyle libre en 2' [11]. Le test tubuline révéla l'activité supérieure au Taxol® de ce composé après déprotection en C-7 et C-10. Ce produit, dénommé Taxotère®, a été immédiatement breveté [12] et son intérêt biologique étudié *in vivo* par le groupe de François Lavelle (directeur du département Oncologie des Laboratoires RPR) [13]. L'hémisynthèse du Taxol® fut également mise au point par cette stratégie à partir de la baccatine III [14], autre taxoïde isolé du bois de *Taxus baccata* (schéma 5, voie b).

Si, historiquement, l'application de la réaction d'hydroxyamination a été à l'origine de la première hémisynthèse du Taxol® et du Taxotère®, elle ne constitue pas le procédé de choix pour la préparation à l'échelle industrielle de ces deux composés ou d'analogues. Seule une synthèse convergente utilisant le couplage direct d'une chaîne complète avec la 10-désacétylbaccatine III protégée est applicable à un développement industriel. Grâce à la disponibilité de quantités plus importantes de 10-désacétylbaccatine III, nous avons pu, après préparation de l'acide correspondant à la chaîne latérale du docetaxel, greffer avec de bons rendements les deux molécules [15] (schéma 6, voie a). En collaboration avec l'équipe d'Andrew Greene du Laboratoire d'études dynamiques et structurales de la sélectivité du CNRS à

Grenoble, nous avons également réalisé la première synthèse convergente du paclitaxel à partir de 10-désacétylbaccatine III et d'un dérivé protégé de la N-benzoyl-3-phényl-isosérine [16] (schéma 6, voie b).

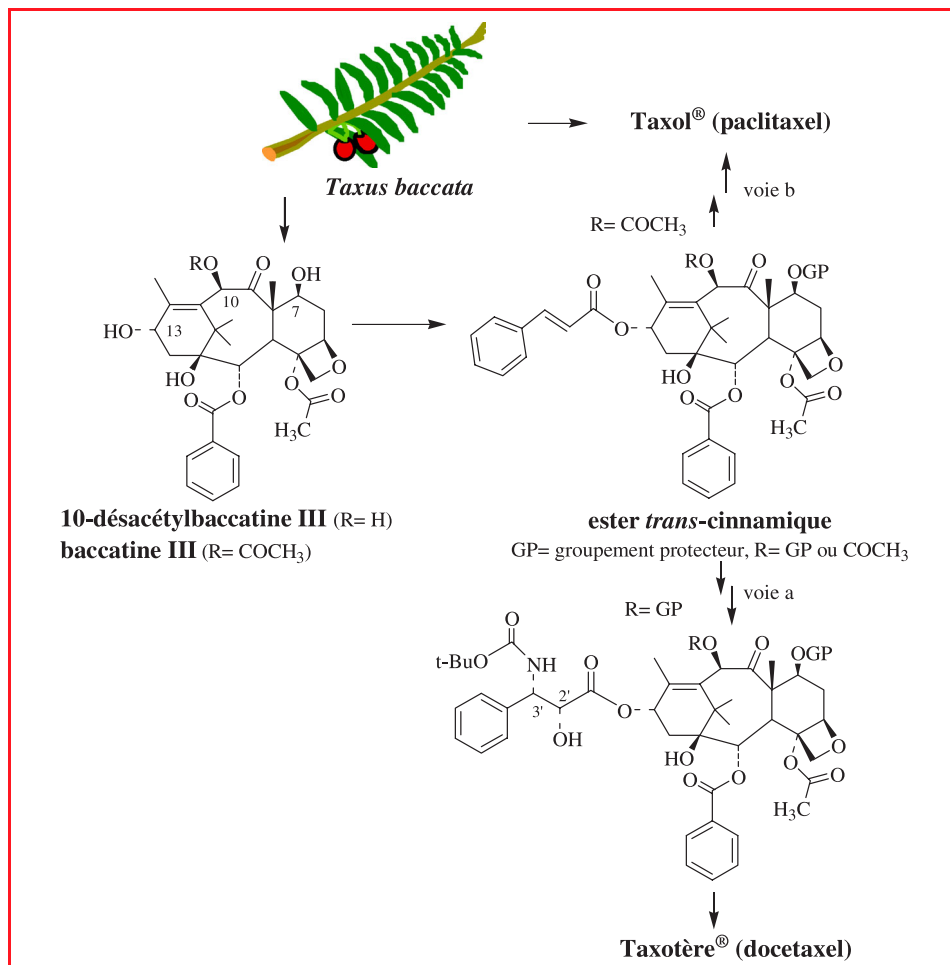


Schéma 5.

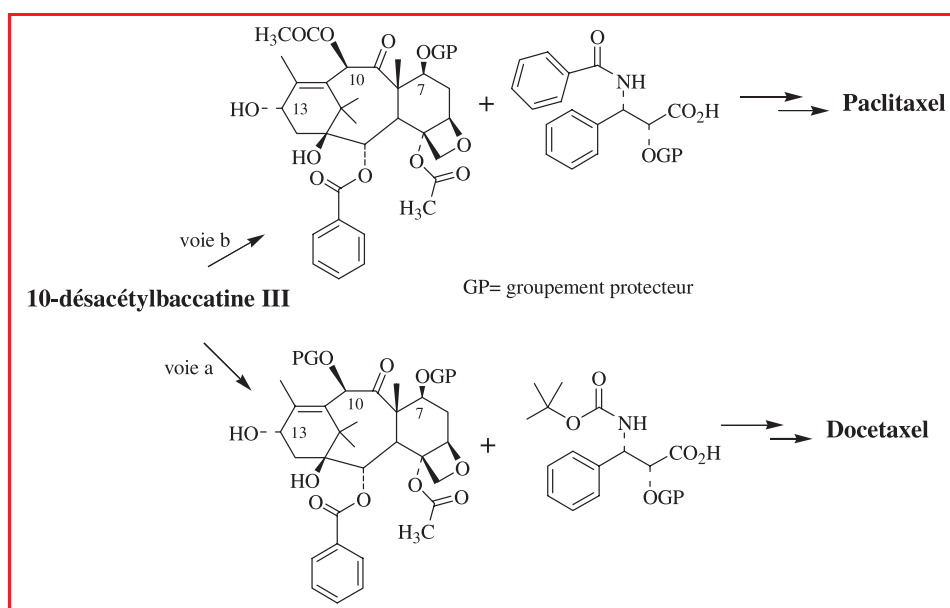


Schéma 6.

De manière complémentaire à nos recherches, les laboratoires Rhône-Poulenc Rorer entreprenaient un programme de synthèse d'analogues et d'essais *in vivo* pour amener le docetaxel vers la phase I d'évaluation clinique.

Le Taxotère® ou docetaxel, mis sur le marché depuis 1995, est utilisé en chimiothérapie anticancéreuse, notamment, dans le traitement des cancers du sein et du poumon non à petites cellules. Ce produit antitumoral connaît un développement rapide au niveau mondial.

Conclusion

De nombreux médicaments sont issus de la Nature : plantes, animaux, microorganismes d'origine terrestre ou marine. C'est, en effet, près de 80 % des médicaments utilisés actuellement qui proviennent de la Nature, la Navelbine® et le Taxotère® en sont deux excellents exemples. Or, on peut chiffrer à environ 10 % l'inventaire de la Nature par rapport aux ressources estimées. Il y a donc encore beaucoup de travail à réaliser pour préparer des produits utiles à l'Homme.

Références

- [1] a) Noble R.L., Beer C.T., Cutts J.H., *Ann. Acad. Sci.*, **1958**, 76, p. 882 ;
b) Svoboda G.H., *J. Am. Pharm., Assoc. Sci. Ed.*, **1958**, 47, p. 834.
- [2] Wani M.C., Taylor H.L., Wall M.E., Coggon P., McPhail A.T., *J. Am. Chem. Soc.*, **1971**, 93, p. 2325.
- [3] Langlois N., Guéritte F., Langlois Y., Potier P., *J. Am. Chem. Soc.*, **1976**, 98, p. 7017.
- [4] Scott A.I., Guéritte F., Lee S.L., *J. Am. Chem. Soc.*, **1978**, 100, p. 6253.
- [5] Mangeney P., Andriamialisoa R.Z., Langlois N., Langlois Y., Potier P., *J. Am. Chem. Soc.*, **1979**, 8, p. 2243.
- [6] a) Mangeney P., Andriamialisoa R.Z., Langlois N., Langlois Y., Potier P., *J. Org. Chem.*, **1979**, 44, p. 3765 ; b) Mangeney P., Andriamialisoa R.Z., Lallemand J.-Y., Langlois N., Langlois Y., Potier P., *Tetrahedron*, **1979**, 35, p. 2175.
- [7] Borisy G.G., Taylor E.W., *J. Cell. Biol.*, **1967**, 34, p. 549.
- [8] Potier P., Guénard D., Zavala F., *C. R. Soc. Biol.*, **1979**, 173, p. 414.
- [9] Schiff P.B., Fant S., Horwitz S.B., *Nature*, **1979**, 277, p. 655.
- [10] Senilh V., Colin M., Guénard D., Picot F., Potier P., Varenne P., *J. Nat. Prod.*, **1984**, 47, p. 131.
- [11] Mangatal L., Adeline M.-T., Guénard D., Guéritte-Voegelein F., Potier P., *Tetrahedron*, **1989**, 45, p. 4177.
- [12] Colin M., Guénard D., Guéritte-Voegelein F., Potier P., *FR. Appl.* 86/10,400 (17/7/86).
- [13] Bissery M.C., Guénard D., Guéritte-Voegelein F., Lavelle F., *Cancer Research*, **1991**, 51, p. 4845.
- [14] Colin M., Guénard D., Guéritte-Voegelein F., Potier P., *FR Appl.* 86/10,401, (17/7/86).
- [15] Colin M., Guénard D., Guéritte-Voegelein F., Potier P., *FR Appl.* 884513 (6/04/88).
- [16] Denis J.N., Greene A., Guénard D., Guéritte F., Mangatal L., Potier P., *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, 110, p. 5917.



De gauche à droite : P. Potier, F. Guéritte et D. Guénard.

Daniel Guénard¹ et **Françoise Guéritte**² sont directeurs de recherche à l'Institut de chimie des substances naturelles*.

Pierre Potier³ est directeur émérite de cet Institut, membre de l'Académie des sciences.

* Institut de Chimie des Substances Naturelles, CNRS, avenue de la Terrasse, 91198 Gif-sur-Yvette.

E-mails :

¹ guenard@icsn.cnrs-gif.fr

² gueritte@icsn.cnrs-gif.fr

³ potier@icsn.cnrs-gif.fr