



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

UNIVERSITE HENRI POINCARÉ – NANCY I
2000

FACULTE DE PHARMACIE



**MOLECULES CYTOSTATIQUES D'ORIGINE NATURELLE,
SITUATION ACTUELLE, PERSPECTIVES D'AVENIR**

THESE

*Présentée et soutenue publiquement
Le 14 décembre 2000*

pour obtenir

le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

par Jean-Etienne CHABRIER

Président du jury

Monsieur François MORTIER
Professeur

Membres du jury

Madame Martine ULMER
Pharmacien d'officine
Docteur en nutrition

Monsieur Philippe GASPARD
Pharmacien hospitalier temps partiel
Docteur en pharmacie

BU PHARM. ODONTOL.



D 104 054758 1

UNIVERSITE HENRI POINCARE – NANCY I
2000

FACULTE DE PHARMACIE



DB 24026

**MOLECULES CYTOSTATIQUES D'ORIGINE NATURELLE,
SITUATION ACTUELLE, PERSPECTIVES D'AVENIR**

THESE

*Présentée et soutenue publiquement
Le 14 décembre 2000*

pour obtenir

le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

par Jean-Etienne CHABRIER

Président du jury

Monsieur François MORTIER
Professeur

Membres du jury

Madame Martine ULMER
Pharmacien d'officine
Docteur en nutrition

Monsieur Philippe GASPARD
Pharmacien hospitalier temps partiel
Docteur en pharmacie

FACULTE DE PHARMACIE

UNIVERSITE Henri Poincaré - NANCY I

Membres du personnel enseignant

Doyen : Mme Chantal FINANCE

Vice Doyen : Mme Anne ROVEL

DOYENS HONORAIRES

M. BERNANOSE André
M. VIGNERON Claude

PROFESSEURS HONORAIRES

Mle BESSON Suzanne
Mle GIRARD Thérèse
M. LECTARD Pierre

M. MIRJOLET Marcel
M. PIERFITTE Maurice

PROFESSEUR EMERITE

M. LOPPINET Vincent

PROFESSEURS

M.	ASTIER Alain	Pharmacie Clinique
M.	ATKINSON Jeffrey	Pharmacologie
M.	BAGREL Alain	Biochimie fondamentale et clinique, Biotechnologies
Mle	BATT Anne Marie	Toxicologie
M.	BLOCK Jean Claude	Santé et Environnement
M.	BONALY Roger	Biochimie microbienne
Mme	CAPDEVILLE-ATKINSON	Pharmacologie Cardiovasculaire
Mme	FINANCE Chantal	Microbiologie moléculaire
Mme	FRIANT-MICHEL Pascale	Biomathématiques, Biophysique et Audioprothèse
Mle	GALTEAU Marie Madeleine	Biochimie
M.	HENRY Max	Biologie végétale
M.	HOFFMAN Maurice	Pharmacie clinique
M.	JACQUE Michel	Pharmacodynamie
M.	LABRUDE Pierre	Physiologie
M.	LALLOZ Lucien	Chimie organique
M.	LEROY Pierre	Physico-chimie appliquée à la formulation pharmaceutique
M.	MAINCENT Philippe	Pharmacie galénique
M.	MARSURA Alain	Chimie thérapeutique
M.	MARTIN Jean Armand	Chimie minérale et Minéralogie
M.	MORTIER François	Pharmacognosie
M.	NICOLAS Alain	Chimie analytique et Bromatologie
M.	REGNOUF DE VAINS Jean Bernard	Chimie Thérapeutique
Mme	SCHWARTZBROD Janine	Bactériologie - Parasitologie
M.	SCHWARTZBROD Louis	Virologie - Immunologie
M.	SIEST Gérard	Chimie Biologique
M.	SIMON Jean Michel	Droit et Economie de la Santé
M.	VIGNERON Claude	Hématologie

MAITRES DE CONFERENCES

Mme	ALBERT Monique	Bactériologie - Virologie
M.	BONNEAUX François	Chimie Thérapeutique
M.	CATAU Gérald	Pharmacodynamie
M.	CHEVIN Jean Claude	Chimie minérale
M.	CHILLON Jean Marc	Pharmacologie
M.	COLLIN Jean François	Pôle européen
Mme	COLLOMB Jocelyne	Parasitologie
M.	COULON Joël	Biochimie
M.	DECOLIN Dominique	Chimie analytique
M.	DUCOURNEAU Joël	Biophysique, Audioprothèse, Acoustique
Mme	FAIVRE-FIORINA Béatrice	GBM - Hématologie
M.	FERRARI Luc	Biochimie
Mle	FONS Françoise	Biologie Végétale et Mycologie
Mme	FUZELLIER Marie Claude	Pharmacognosie
M.	GANTZER Christophe	Virologie
M.	GIBAUD Stéphane	Pharmacie Clinique
Mme	HASENFRATZ-SAUDER Marie Paule	Biologie Végétale
Mle	HINZELIN Françoise	Biologie végétale et Pharmacognosie
M.	HUMBERT Thierry	Interactions moléculaires
Mle	IMBS Marie Andrée	Bactériologie - Virologie et Parasitologie
M.	JORAND Frédéric	Santé et Environnement
Mme	KEDZIEREWICZ Francine	Pharmacie Galénique
Mme	LARTAUD-IDJOUADIENE Isabelle	Pharmacologie
Mme	LEININGER-MULLER Brigitte	Biochimie
Mme	LETOT Michèle	Bactériologie - Virologie et Parasitologie
Mme	LIVERTOUX Marie Hélène	Toxicologie
Mme	MARCHAL-HEUSSLER Emmanuelle	Chimie Analytique
Mme	MARCHAND-ARVIER Monique	Immunologie - Hématologie
M.	MENU Patrick	Physiologie
M.	MONAL Jean Louis	Chimie Thérapeutique
M.	NOTTER Dominique	Biologie cellulaire
Mme	PAULUS Francine	Informatique
Mme	PERDICAKIS Christine	Chimie organique
Mme	PICHON Virginie	Biophysique
Mme	POCHON Marie France	Chimie analytique
Mme	ROVEL Anne	Immunologie - Hématologie
M.	VISVIKIS Athanase	Toxicologie
Mme	WELLMAN-ROUSSEAU Maria Monika	Biochimie
Mme	ZINUTTI Colette	Pharmacie galénique

ASSISTANTS

Mme	BEAUD Mariette	Biologie Cellulaire
Mme	BERTHE Marie-Catherine	Biochimie
M.	DANGIEN Bernard	Botanique
Mme	MOREAU Blandine	Pharmacognosie
Mme	PAVIS Annie	Parasitologie
M.	TROCKLE Gabriel	Pharmacodynamie

PROFESSEUR ASSOCIE

Mme	GRISON Geneviève	Pratiques officinales
-----	------------------	-----------------------

PROFESSEUR ACREEGE

M.	COCHAUD Christophe	Anglais
----	--------------------	---------

SERMENT DES APOTHICAIRES



Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

D'e ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.



« LA FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE APPROBATION,
NI IMPROBATION AUX OPINIONS EMISES DANS LES
THESES, CES OPINIONS DOIVENT ETRE CONSIDEREES
COMME PROPRES A LEUR AUTEUR ».

REMERCIEMENTS

Monsieur François MORTIER

Professeur de pharmacognosie à la faculté de pharmacie de l'Université Henry Poincaré

Nous lui adressons toute notre reconnaissance et notre plus profond respect pour sa disponibilité et l'intérêt accordé à notre travail. Ses compétences en matière de pharmacognosie et sa connaissance des plantes médicinales nous sont très précieuses pour le jugement de ce travail. Qu'il soit assuré de toute notre gratitude pour la qualité de son cours et pour l'honneur qu'il nous fait d'assurer la présidence de cette thèse.

Madame Martine ULMER

Pharmacien d'officine, Docteur en nutrition

Qu'elle soit remerciée pour l'accueil chaleureux et amical au sein de son officine lors de notre stage de sixième année. Elle nous a fait découvrir le métier de pharmacien et nous a fait acquérir l'expérience nécessaire à son bon exercice. Par sa patience et sa rigueur, elle a su efficacement nous préparer à l'examen de stage. Nous lui adressons ici notre plus profonde gratitude et nos remerciements les plus intenses.

Monsieur Philippe GASPARD

Pharmacien hospitalier temps partiel, Docteur en pharmacie

Nous avons apprécié la valeur de son enseignement lors des travaux dirigés de première année. Ses compétences et son dévouement ont été ensuite une aide sans précédent pour la bonne pratique de la pharmacie d'officine à ses côtés. Qu'il soit ici remercié pour le plaisir et pour l'immense privilège qu'il nous a fait d'accepter de participer au jugement de cette thèse.

A mes parents, pour la qualité de l'éducation qu'ils m'ont conférée et les vertus qu'ils ont cherché à développer en moi. Je leur exprime ici toute mon affection et toute ma gratitude pour m'avoir encouragé et soutenu tout au long de mes études. Qu'ils voient en ce travail l'aboutissement de leurs efforts.

A mon frère Jean-Yves et ma sœur Marie-Laure. Pour tous les moments de bonheur partagés avec eux.

A l'ensemble de ma famille, qu'ils soient assurés de ma plus profonde sympathie.

A tous mes proches et amis, particulièrement Rémy, Jérôme, Audrey, Philippe, Christophe, Virginie, Anne-Sophie, Damien, Karine, Michaël, Nicolas et Damien pour les instants de joie partagés en leur compagnie, leur gentillesse et tous les sentiments qu'ils me témoignent. Qu'ils soient assurés de toute ma reconnaissance et de mon amitié la plus sincère.

A Séverine, à qui je dois beaucoup. Je lui exprime ici ma plus profonde gratitude pour les moments intenses partagés avec elle. Elle m'a fait le privilège de m'apporter son soutien moral et la qualité de sa compagnie. Son attention, sa tendresse et toutes ses vertus ont été pour moi une véritable source de joie et de réconfort tout au long de mon parcours universitaire. Je la remercie à nouveau et lui renouvelle tout mon amour.

La nature constitue cet incroyable univers physique où coexistent et interagissent la substance inerte et l'étonnante matière organique qui compose tout organisme vivant. Or si l'Homme contemporain la considère en simple environnement structural tel qu'un acteur le ferait avec le décor où il joue, il oublie trop souvent qu'il en fait partie intégrante et qu'elle est source d'une extraordinaire richesse à l'origine de son évolution et de son bien-être. L'Homme a su, au fil des siècles, exploiter chacun des éléments que, dans son infinie générosité, la nature daignait lui proposer. Ayant appris à la connaître, il croit aujourd'hui en être devenu le maître et la considère parfois avec dédain. Mais la réalité est tout autre : la destinée de la nature est à jamais liée à celle de l'Homme, et ce dernier en est indubitablement dépendant. Il lui doit en effet chacune des substances qui le nourrissent, chacun des matériaux qui constituent sa maison et ses outils, chacune des sources d'énergie qui fait marcher ses machines, et la plupart des médicaments qui guérissent ses maladies...

Sommaire

Introduction.....	5
Première partie : le cancer, fléau de notre temps.....	6
1. Le cancer, grande cause de mortalité.....	7
2. Un combat éternel.....	9
1.1 La prévention.....	9
1.2 Le dépistage.....	10
1.3 La chirurgie.....	10
1.4 La radiothérapie.....	10
1.5 La chimiothérapie.....	11
Deuxième partie : la nature au service de la chimiothérapie : la situation actuelle.....	13
1. Place des substances naturelles dans les protocoles de chimiothérapie actuels.....	14
2. Du poison de flèche à la chimiothérapie antitumorale.....	23
2.1 La mise en place d'un criblage naturel.....	23
2.1.1 <i>La chimintaxonomie</i>	23
2.1.2 <i>La pharmacotaxonomie</i>	23
2.1.3 <i>La pharmacologie d'orientation</i>	24
2.1.4 <i>L'ethnopharmacologie</i>	24
2.2 L'isolement du principe actif et l'élaboration d'un nouveau médicament.....	25
3. La cellule et le cancer.....	27
4. L'arsenal antinéoplasique actuel.....	30
4.1 L'actinomycine D.....	30
4.1.1 <i>Historique</i>	30
4.1.2 <i>Structure moléculaire</i>	31
4.1.3 <i>Mécanisme d'action</i>	32
4.1.4 <i>Utilisation actuelle</i>	32
4.1.5 <i>Chronologie</i>	33
4.2 La colchicine.....	33
4.2.1 <i>Historique</i>	33
4.2.2 <i>Structure moléculaire</i>	36
4.2.3 <i>Mécanisme d'action</i>	36
4.2.4 <i>Utilisation actuelle</i>	37

4.3 Les alcaloïdes de la pervenche.....	38
4.3.1 <i>Historique</i>	38
4.3.2 <i>Structure moléculaire</i>	39
4.3.3 <i>Mécanisme d'action</i>	41
4.3.4 <i>Utilisation actuelle</i>	42
4.3.5 <i>Chronologie</i>	43
4.4 L'ellipticine.....	43
4.4.1 <i>Historique</i>	43
4.4.2 <i>Structure moléculaire</i>	44
4.4.3 <i>Mécanisme d'action</i>	45
4.4.4 <i>Utilisation actuelle</i>	46
4.4.5 <i>Chronologie</i>	46
4.5 La bléomycine.....	47
4.5.1 <i>Historique</i>	47
4.5.2 <i>Structure moléculaire</i>	47
4.5.3 <i>Mécanisme d'action</i>	48
4.5.4 <i>Utilisation actuelle</i>	49
4.5.5 <i>Chronologie</i>	49
4.6 La spongithymidine.....	50
4.6.1 <i>Historique</i>	50
4.6.2 <i>Structure moléculaire</i>	50
4.6.3 <i>Mécanisme d'action</i>	51
4.6.4 <i>Utilisation actuelle</i>	51
4.6.5 <i>Chronologie</i>	51
4.7 La podophyllotoxine.....	52
4.7.1 <i>Historique</i>	52
4.7.2 <i>Structure moléculaire</i>	54
4.7.3 <i>Mécanisme d'action</i>	54
4.7.4 <i>Utilisation actuelle</i>	55
4.7.5 <i>Chronologie</i>	55
4.8 L'épipodophyllotoxine (étoposide).....	55
4.8.1 <i>Historique</i>	55
4.8.2 <i>Structure moléculaire</i>	56
4.8.3 <i>Mécanisme d'action</i>	57
4.8.4 <i>Utilisation actuelle</i>	58
4.8.5 <i>Chronologie</i>	58
4.9 Les anthracyclines.....	58
4.9.1 <i>Historique</i>	58
4.9.2 <i>Structure moléculaire</i>	61
4.9.3 <i>Mécanisme d'action</i>	61
4.9.4 <i>Utilisation actuelle</i>	61
4.9.5 <i>Chronologie</i>	62
4.10 Les taxoïdes.....	62
4.10.1 <i>Historique</i>	62
4.10.2 <i>Structure moléculaire</i>	65
4.10.3 <i>Mécanisme d'action</i>	66
4.10.4 <i>Utilisation actuelle</i>	66
4.10.5 <i>Chronologie</i>	67

4.11 La camptothécine.....	67
4.11.1 Historique.....	67
4.11.2 Structure moléculaire.....	68
4.11.3 Mécanisme d'action.....	68
4.11.4 Utilisation actuelle.....	70
4.11.5 Chronologie.....	71
 Troisième partie : les perspectives d'avenir des cytotoxiques d'origine naturelle.....	 72
1. Les anciennes campagnes de criblage naturel à nouveau au goût du jour.....	73
2. Années 90, le renouveau du criblage naturel.....	74
3. Les espèces marines enfin exploitées.....	77
4. Les différents essais cliniques.....	78
4.1 Les essais précliniques.....	79
4.2 Les essais cliniques proprement dits.....	80
4.3 Les types d'essais cliniques.....	82
5. Les molécules anticancéreuses de demain.....	83
5.1 Source végétale.....	83
5.2 Source marine.....	84
5.3 Source microbiologique.....	84
5.4 Les molécules les plus prometteuses.....	86
5.4.1 <i>La bryostatine 1</i>	86
5.4.2 <i>Les dolastatines</i>	89
5.4.3 <i>L'ecteinascidine 743</i>	92
5.4.4 <i>Le flavopiridol</i>	94
5.4.5 <i>Le FR 901228</i>	96
5.4.6 <i>Le KRN 5500</i>	97
5.4.7 <i>La rapamycine</i>	99
5.4.8 <i>La rebeccamycine</i>	102
5.4.9 <i>L'UCN-01</i>	104
 Conclusion.....	 106
 Bibliographie.....	 107

Introduction

Face à la maladie, l'Homme a naturellement cherché à se défendre en utilisant les substances directement disponibles dans son environnement. Il en est ainsi venu à utiliser des extraits d'origine animale ou plus souvent végétale, de façon empirique tout d'abord, puis de manière de plus en plus construite et réfléchie. Chaque ethnie, chaque civilisation a ainsi composé sa propre pharmacopée, qui répertorie les drogues traditionnellement utilisées. Or, parmi ces molécules médicamenteuses, certaines possèdent des propriétés qui leur confèrent une cytotoxicité exploitable à l'égard de cellules cancéreuses. La plupart des protocoles de chimiothérapie, en effet, utilise aujourd'hui de grandes familles d'agents antinéoplasiques issues de plantes, de bactéries voire même d'organismes animaux. Mais à cette approche chimique naturelle s'oppose une chimie de synthèse qui est restée entre 1970 et 1990 au devant de la scène pharmaceutique aux dépens de molécules découvertes dans la nature pas toujours commodes à obtenir. Depuis le début des années 90 pourtant, les progrès technologiques, ont permis le renouveau de la recherche de molécules issues d'organismes vivants particulièrement pour l'acquisition de nouveaux agents antitumoraux. Dans cette optique nous allons le voir, les substances anticancéreuses peuvent être extraites, puis modifiées chimiquement ou servir de référence pour l'élaboration de produits synthétiques.

Nous allons donc tenter ici de dresser un bilan général concernant la place que représente la nature parmi les cytostatiques utilisés dans les protocoles de chimiothérapie. Pour cela, après une première partie constituant un bref rappel sur la maladie cancéreuse, nous allons en second lieu détailler les investigations requises pour l'élaboration de médicaments antitumoraux et rappeler sous forme de synthèse les propriétés de chacune des molécules antinéoplasiques d'origine naturelle disponible actuellement sur le marché. Enfin, en troisième partie, nous envisagerons de nous intéresser aux nouveaux axes de recherche actuellement à l'étude et aux substances issues d'organismes vivants les plus prometteuses dans un avenir proche.

PREMIERE PARTIE

Le cancer, fléau de notre temps

Première partie : le cancer, fléau de notre temps

On regroupe sous le terme général « Cancer » un ensemble de pathologies caractérisées par une prolifération cellulaire anarchique, incontrôlée et incessante. Ces maladies sont cataloguées selon les tissus et les cellules atteints [1]. Or, le cancer fait aujourd'hui partie intégrante des grandes maladies occidentales modernes. En France par exemple, il constitue la deuxième cause de mortalité, juste derrière les maladies d'ordre cardio-vasculaire. Pour cela, le cancer demeure dans l'esprit général une maladie mystérieusement sournoise, qui peut toucher spécifiquement n'importe quel tissu et le détériorer avant de s'étendre et de s'emparer subrepticement d'autres organes essentiels.

1. Le cancer, grande cause de mortalité

Les différentes tumeurs représentent une part extrêmement importante de la mortalité des pays industrialisés et particulièrement de la France. Mais il faut dire que si le cancer fait partie des grandes afflictions de nos temps modernes, c'est qu'il subit l'influence favorable de nombreux facteurs propres à notre vie actuelle. Ainsi le stress, le tabac, l'alcool, les graisses animales, le vieillissement de la population et d'une façon plus générale, l'altération de l'hygiène de vie et l'exposition à de nombreux éléments agressifs contribuent à l'établissement insidieux du développement tumoral. Depuis longtemps, il s'avère que l'ensemble des cancers représente la seconde cause de mortalité en France juste derrière les maladies circulatoires. Si on décompose ensuite ces données par sexe, il apparaît même que les différentes tumeurs répertoriées sont responsables du plus grand nombre de morts chez les hommes, avec une prépondérance notable des cancers des voies respiratoires, conséquences dévastatrices du tabagisme (fig.1).

A titre comparatif, et pour l'année 1997 par exemple, les cancers ont été responsables de 27,7 % de la totalité des décès, de 32,5 % des décès d'hommes et de 22,6 % des décès de femmes [2].

PRINCIPALES CAUSES DE DECES EN 1997

	Ensemble		Hommes		Femmes	
	Nombre	Taux %	Nombre	Taux %	Nombre	Taux %
Tumeurs	146837	27,7	88703	32,5	58134	22,6
Tumeur maligne de l'intestin	16409	3,1	8610	3,2	7799	3,0
Tumeur maligne de la trachée et des poumons	24417	4,6	20635	7,6	3782	1,5
Tumeur maligne du sein	10955	2,1	124	0,0	10831	4,2
Tumeur maligne de l'utérus	2975	0,6	0	0,0	2975	1,2
Tumeur maligne de la prostate	9345	1,8	9345	3,4	0	0,0
Autres tumeurs	82736	15,6	49989	18,3	32747	12,7
Maladies circulatoires	169727	32,0	78213	28,7	91514	35,5
Cardiopathies ischémiques	45430	8,5	25198	9,2	20232	7,9
Maladies vasculaires cérébrales	42473	8,0	17646	6,5	24827	9,6
Autre maladies circulatoires	81824	15,4	35369	13,0	46455	18,0
Maladies respiratoires	43319	8,2	22114	8,1	21205	8,2
Pneumonies et gripes	18438	3,5	8460	3,1	9978	3,9
Bronchites chroniques	14957	2,8	8740	3,2	6217	2,4
Autres maladies respiratoires	9924	1,9	4914	1,8	5010	1,9
Morts violentes	43388	8,2	26345	9,7	17043	6,6
Accidents de la circulation	7629	1,4	5596	2,1	2033	0,8
Suicides	11139	2,1	8099	3,0	3040	1,2
Autres traumatismes	24620	4,6	12650	4,6	11970	4,6
Sida	1287	0,2	1036	0,4	251	0,1
Autres causes	125761	23,7	56398	20,7	69363	26,9
TOTAL	530319	100,0	272809	100,0	257510	100,0

*Fig.1 Place du cancer dans les principales causes de décès en 1997
(Source : SC8-Inserm [2])*

2. Un combat éternel

Néanmoins, en dépit de la gravité de ces maladies, la médecine d'aujourd'hui dispose de nombreux moyens permettant d'enrayer l'évolution cancéreuse. Ainsi, le grand espoir pour le XXI^e siècle résulte directement de l'immense progrès accompli dans la compréhension du cancer, dans la connaissance des mécanismes intimes qui expliquent comment une cellule se cancérisé, comment elle s'organise dans les tissus et acquiert la capacité de se déplacer pour donner des métastases. A chacune de ces étapes on peut identifier une possibilité thérapeutique. Or si la recherche médicale actuelle s'oriente vers de nouvelles méthodes comme l'immunologie, la thérapie génique, ou les médicaments antiangiogéniques, la thérapeutique anticancéreuse contemporaine repose essentiellement sur cinq grandes méthodes [3].

1.1 La prévention

La prévention du cancer est sûrement la méthode la plus importante et la plus facile à réaliser pour lutter efficacement contre cette maladie. Elle repose tout d'abord sur l'évitement des facteurs prédisposant à l'apparition de tumeurs, et nécessite pour cela le respect d'une certaine hygiène de vie. A ce titre, les éléments les plus impliqués sont:

- **Le tabac :** il est responsable de 30 % de la totalité des décès par cancer, et de 90 % des cancers bronchopulmonaires et aérodigestifs.
- **L'alcool :** souvent associé au tabac, il joue le rôle de cofacteur amplificateur de risques pour les cancers des voies aérodigestives supérieures.
- **L'alimentation :** lorsqu'elle est riche en graisses saturées et en protéines, et pauvre en fibres, elle multiplie le risque de cancers digestifs et de cancers hormonodépendants. Les aliments fumés majorent le risque de cancer de l'estomac.
- **D'autres facteurs de risque,** comme l'exposition prolongée au soleil, ou les infections par certains virus, provoquent également l'apparition de tumeurs locales.

Ainsi, éradiquer ou diminuer les facteurs de risque de cancer permet de réduire considérablement la fréquence de la maladie cancéreuse. Il convient en effet de ne pas oublier que le mode de vie et le comportement individuel sont en cause dans plus de 80 % des cancers.

1.2 Le dépistage

Le dépistage consiste en la recherche et la mise en évidence d'un cancer par un examen systématique, avant l'apparition des premiers signes fonctionnels ou cliniques. Il peut être effectué de façon individuelle ou, selon un système d'organisation complexe, intervenir sur une population donnée. Même s'il peut consister en de simples gestes (autopalpation des seins par exemple), le dépistage précis d'un cancer réclame le plus souvent un appareillage perfectionné, fondé sur des examens cliniques (biopsie, recherche de marqueurs tumoraux...) et sur des méthodes d'imagerie médicale (radiologie, endoscopie, scanner...). Un dépistage efficace est très important car un cancer se soigne d'autant mieux qu'il est pris en charge tôt.

1.3 La chirurgie

En cancérologie, la chirurgie intervient le plus souvent en tant que premier geste thérapeutique puisqu'elle consiste en l'ablation de la tumeur de manière à retirer de l'organisme le tissu néoplasique. Malheureusement, une cellule a le pouvoir de se propager rapidement pour contaminer sournoisement les tissus environnants tout d'abord, puis des organes plus éloignés, ne se limitant ainsi pas à la tumeur originelle. Aussi a-t-on recours ensuite à des thérapeutiques beaucoup plus contraignantes.

1.4 La radiothérapie

Grâce à la radiothérapie, on soigne une tumeur en exposant celle-ci à l'effet agressif de rayonnements ionisants. En général, la source de rayonnements est extérieure au malade et produit un faisceau qui atteint les tissus profonds après avoir traversé la peau. On utilise, pour cela des rayonnements électromagnétiques (Rayons X, Rayons gamma), ou des rayonnements de particules à base d'électrons, protons ou neutrons. Leur émission est générée par des isotopes radioactifs (Co^{60}), ou par des accélérateurs de particules. On peut ainsi localement détruire les structures chromosomiques des cellules cancéreuses et entraîner leur mort, tandis que les cellules saines, bénéficiant d'une capacité de restauration plus importante, sont beaucoup moins malmenées. On associe souvent la radiothérapie à l'administration de médicaments antitumoraux chimiothérapeutiques.

1.5 La chimiothérapie

D'une façon générale une cellule devient cancéreuse lorsque par mutation ou par déficience de certains mécanismes de régulation, elle se met à se développer et à proliférer de façon anarchique et incontrôlée. Le tissu tumoral ainsi formé peut alors donner naissance en d'autres endroits de l'organisme, à des tumeurs secondaires ou métastases. Pour combattre cela, on répertorie aujourd'hui une cinquantaine de substances antinéoplasiques employées en chimiothérapie anticancéreuse. Ces produits cytotoxiques sont utilisés selon des protocoles précis qui définissent qualitativement et quantitativement les médicaments à associer, ainsi que les modalités et les fréquences d'administration. Ainsi, ces médicaments anticancéreux atteignent les cellules ayant commencé un cycle cellulaire pour finalement subir une mitose et, selon un mode d'action précis le plus souvent spécifique à une phase de ce cycle, ils s'opposent à la division des cellules cancéreuses et les détruisent par la même occasion. Or, pris dans leur globalité, les molécules médicamenteuses utilisées en chimiothérapie divergent énormément de par leur hétérogénéité de structure, d'origine, et de mécanisme d'action. C'est d'ailleurs ce dernier qui permet en général leur classification. On distingue donc :

- **Les antimétabolites** : ils bloquent la synthèse d'ADN en agissant sur les systèmes enzymatiques impliqués dans la synthèse des bases puriques et pyrimidiques, ou en s'opposant aux mécanismes de réplication de l'acide nucléique. On peut par exemple citer : fluorouracile (ou 5FU), méthotrexate, 6-mercaptopurine, nitroso-urées... Ces agents sont pratiquement tous issus de la chimie de synthèse.
- **Les médicaments agissant sur l'ADN préformé** : agents alkylants (cyclophosphamide, moutardes à l'azote, nitroso-urées, sels de platine, mitomycine C...), et agents scindants (Bléomycine) qui altèrent la structure moléculaire de l'acide nucléique par alkylation ou par hydrolyse de celle-ci.
- **Les médicaments antimitotiques** : alcaloïdes de la pervenche (vincristine, vinblastine, vindésine, vinorelbine) et taxoïdes (dérivés de l'if), appelés poisons ou stabilisants du fuseau. Ils n'agissent pas sur l'ADN cellulaire mais empêchent la mitose cellulaire en bloquant les protéines structurellement impliquées dans ce processus. Ils se démarquent par un mécanisme d'action très spécifique et une origine strictement végétale.
- **Les inhibiteurs des topo-isomérases** : leur action mécanique consiste à altérer l'agencement en hélice de l'A.D.N. Ils s'agit d'agents inhibiteurs de la topo-isomérase II souvent intercalants (anthracyclines, épipodophyllotoxines, ellipticines, actinomycine D...), ou de substances s'opposant à l'action des topo-isomérases I (dérivés de la camptothécine). Là encore on retrouve essentiellement des molécules provenant de plantes ou de micro-organismes bactériens.

Comme expliqué précédemment, ces produits n'ont pharmacologiquement en commun que leur propriété anticancéreuse, et demeurent tous d'origine et de mécanismes d'action divers. Leur hétérogénéité permet ainsi de les associer dans des protocoles de chimiothérapie de manière à agir sur différents terrains vis à vis de la tumeur. Or, si certaines molécules sont purement synthétiques et ne doivent leur existence qu'aux prouesses de la chimie organique, d'autres comme nous allons le voir sont obtenues par hémisynthèse c'est-à-dire qu'elles s'inspirent de molécules naturelles, mais subissent une restructuration chimique de façon artificielle, d'autres enfin sont physiologiquement élaborées par des organismes naturels, le plus souvent d'origine végétale ou micro-organique.

DEUXIEME PARTIE

**La nature au service de la chimiothérapie :
la situation actuelle**

Deuxième partie : la nature au service de la chimiothérapie : la situation actuelle

Les traitements anticancéreux se prêtent particulièrement aux recherches s'appuyant sur des organismes vivants. Si beaucoup de ces produits antinéoplasiques sont aujourd'hui exclusivement synthétiques, il n'en demeure pas moins que l'ensemble des médicaments constitué de molécules purement naturelles, de substances hémisynthétiques dérivées d'organismes vivants et chimiquement modifiées, ou de produits totalement synthétisés mais fondés sur des modèles naturels ; représentent une part non négligeable parmi la totalité des médicaments disponibles. Ainsi, l'analyse du nombre et de l'origine des agents anticancéreux et antiinfectieux répertoriés dans le périodique américain *Annual Reports of Medicinal Chemistry* de 1983 à 1994 indique que près de 60 % des drogues reconnues ont une origine naturelle [4]. De plus, ces 10 dernières années ont vu un regain d'intérêt vis à vis des substances chimiothérapeutiques naturelles puisque de nouvelles investigations ont pu être menées grâce aux progrès de la chimie combinatoire et des modèles moléculaires informatisés. Pour l'année 1994 par exemple, sur 87 drogues anticancéreuses, cytotoxiques ou non, répertoriées, 15 sont extraites telles quelles au sein d'organismes vivants, 25 sont issues de l'hémisynthèse, et 14 sont des produits artificiels mais s'inspirant de modèles naturels ; tandis que 33 d'entre elles sont totalement synthétiques. Ces quelques chiffres témoignent donc de l'importance que représente la nature dans la découverte de nouvelles substances antinéoplasiques qu'il s'agisse de composés hormonaux de reproduction humaine destinés à être employés contre des tumeurs hormonodépendantes (cancers du sein, de l'endomètre ou de la prostate), de traitements d'appoint anticancéreux ou, comme c'est souvent le cas, de molécules dont le potentiel cytotoxique les destine à une utilisation dans les protocoles de chimiothérapie. Il convient donc d'emblée de préciser que chacune des substances qui seront évoquées par la suite possède une propriété cytostatique doublée d'une structure spécifique et qu'elle découle de l'anabolisme particulier d'un organisme végétal, animal ou micro-organique, tout en étant indépendante de tout processus métabolique humain.

1. Place des substances naturelles dans les protocoles de chimiothérapie actuels

Pour se défendre, la plupart des organismes vivants produisent des molécules cytotoxiques qui leur sont propres. Ces substances sont logiquement essentiellement produites par des organismes dans l'impossibilité de se déplacer devant un agresseur éventuel (organismes végétaux, invertébrés marins) ou par des êtres vivants qui évoluent en général dans des milieux extrêmement menaçants en présence d'autres espèces potentiellement dangereuses (bactéries, micromycètes). En se reposant sur cette propriété, de nombreux scientifiques ont vu le moyen d'obtenir des médicaments anticancéreux susceptibles d'être utilisés en chimiothérapie. Par l'étude structurée de pharmacopées parfois empiriques et traditionnelles, ou par le criblage aléatoire (*screening*) d'abondantes espèces animales et surtout végétales, de nombreux médicaments ont ainsi pu voir le jour. La place qu'ils représentent aujourd'hui parmi la totalité des

spécialités cytostatiques est loin d'être négligeable (fig.2) et comme nous allons le mentionner, certaines sont désormais commercialisées depuis longtemps, tandis que d'autres constituent un réel espoir parmi les progrès récents de la chimiothérapie. Aussi allons-nous considérer ici les grandes molécules antinéoplasiques naturelles disponibles actuellement en étudiant leur origine et leur intérêt, selon leur mécanisme d'action.

*Fig.2 Spécialités cytotoxiques utilisées à ce jour en cancérologie
(En gras apparaissent les médicaments dérivés du métabolisme d'organismes vivants) [5,6]*

ANTIMETABOLITES

LEDERTREXATE®, METHOTREXATE®, TOMUDEX®, LEUSTATINE®, FLUDARA®, PURINETHOL®, NIPENT®, **ARACYTINE®**, CYTARBEL®, FLUOROURACILE®, GEMZAR®, HYDREA®, EFUDIX®

AGENTS INTERAGISSANT AVEC L'A.D.N.

ALKERAN®, CARYOLYSINE®, CHLORAMINOPHENE®, AMETYCINE®, ENDOXAN®, HOLOXAN®, MYLERAN®, TEMODAL®, VERCYTE®, BICNU®, GLIADEL®, MUPHORAN®, ZANOSAR®, DETICENE®, NATULAN®, CISPLATINE®, CISPLATYL®, PARAPLATINE®, ELOXATINE®, **BLEOMYCINE®**, THIOTEPA®

ANTIMITOTIQUES

ONCOVIN®, VINCristine®, VELBE®, ELDISINE®, NAVELBINE®, TAXOL®, TAXOTERE®

INHIBITEURS DES TOPO-ISOMERASES

CAMPTO®, HYCAMTIN®, ADRIABLASTINE®, CAELYX®, CERUBIDINE®, DAUNOXOME®, DOXORUBICINE®, FARMORUBICINE®, THEPRUBICINE®, ZAVEDOS®, NOVANTRONE®, CELLTOP®, ETOPOPHOS®, ETOPOSIDE®, VEPESIDE®, AMSIDINE®, CELIPTIUM®, COSMEGEN-LYOVAC®

AUTRES CYTOTOXIQUES

KIDROLASE®, CONDYLINE®, MITHRACINE®, METHYL-GAG®, MABTHERA®, PHOTOFRIN®, METASTRON®

Ainsi, parmi les soixante-six spécialités cytotoxiques actuellement commercialisées on en compte trente qui possèdent une origine naturelle directe [5,6]. Quinze d'entre elles dérivent de végétaux supérieurs, tandis que quinze autres proviennent de micro-organismes ou d'invertébrés marins. Tous ces médicaments sont administrés selon des normes définies qui précisent selon l'atteinte cancéreuse, les molécules à associer, leurs posologies et les modes d'administrations. Chacun de ces protocoles répond à un code lettré (fig.3).

*Fig.3 Protocoles de chimiothérapie les plus classiquement utilisés
(en gras apparaissent les molécules d'origine naturelle) [6]*

ABVD	Cure toutes les 4 semaines (1 à 6 cures) : Adriamycine IV : 30 mg/m ² à J1 et J8 ou J15 Bléomycine IV : 10 mg/m ² à J1 et J8 ou J15 Vinblastine IV : 6 mg/m ² à J1 et J8 ou J15 Dacarbazine IV : 200 mg/m ² à J1 et J8 ou J15 Indications : maladie de Hodgkin, carcinomes naso-pharyngés
ACE ou CAE	Cure toutes les 3 à 4 semaines : Adriamycine IV : 45 mg/m ² à J1 Cyclophosphamide IV : 1000 mg/m ² à J1 Etoposide IV : 50 mg/m ² à J1 Indications : Cancer du poumon à petites cellules
ACOMLA	Cure tous les 3 mois (3 cures) : Adriamycine IV : 40 mg/m ² à J1 Cyclophosphamide IV : 1000 mg/m ² à J1 Vincristine IV : 2 mg/m ² à J1 Méthotrexate IV : 120 mg/m ² à J22, J29, J35, J43, J50, J57, J64, J71 Acide folinique 8 heures après le méthotrexate Cytarabine IV : 300 mg/m ² à J22, J29, J35, J43, J50, J57, J64, J71 Indications : lymphome non hodgkinien
ACVBP	Cure toutes les 2 semaines (3 à 4 cures) : Adriamycine IV : 75 mg/m ² à J1 Cyclophosphamide IV : 1200 mg/m ² à J1 Vindésine IV : 2mg/m ² à J1 et J5 Bléomycine IV : 10 mg/m ² à J1 et J5 Prednisone per os : 60 mg/m ² de J1 à J5 Indications : lymphome non hodgkinien
BACOP ou BACOD	Cure toutes les 3 semaines : Bléomycine IV : 15 mg/m ² à J1 Adriamycine IV : 50 mg/m ² à J1 Cyclophosphamide IV : 750 mg/m ² à J1 Vincristine IV : 2 mg/m ² à J1 et J5 Prednisone per os : 100 mg/m ² de J1 à J5 ou Dexaméthasone per os / 6 mg/m ² de J1 à J5 Indications : lymphome non hodgkinien
BCDV	Cure toutes les 9 semaines : Bléomycine IV : 10 mg/m ² à J1, J2, J3 Cyclophosphamide IV : 500 mg/m ² à J1, J2, J3 Dactinomycine IV : 0,5 mg/m ² à J1, J2, J3 Vincristine IV : 1,5 mg/m ² à J1 et J8 Indications : sarcome d'Ewing
BEP	Cure toutes les 3 semaines (3 à 4 cures) : Bléomycine IV : 30 mg/m ² à J1 Etoposide IV : 100 mg/m ² à J1, J2, J3, J4, J5 Cisplatin IV : 20 mg/m ² à J1, J2, J3, J4, J5 Indications : cancer du testicule, tumeurs naso-pharyngées
CAMP	Cure toutes les 4 semaines : Cyclophosphamide IV : 300 mg/m ² à J1 et J8 Adriamycine IV : 20 mg/m ² à J1 et J8 Méthotrexate IV : 15 mg/m ² à J1 et J8 Procarbazine per os : 100 mg/m ² de J1 à J10 Indications : cancer du poumon non à petites cellules

CAP ou CAC	Cure toutes les 3 à 4 semaines (8 cures) : Cyclophosphamide IV : 200 à 600 mg/m ² à J1 Adriamycine IV : 30 à 50 mg/m ² à J1 Cisplatine IV : 40 à 90 mg/m ² à J1 Indications: cancers ORL, du poumon, de l'ovaire, du sein, de l'utérus, de la vessie, myélome multiple
CAPV	Cure toutes les 3 semaines : Cyclophosphamide per os : 100 mg/m ² à J1, J2, J3, J4 Adriamycine IV : 25 mg/m ² à J1 Prednisone per os : 60 mg/m ² à J1, J2, J3, J4 Vincristine IV : 1 mg/m ² à J1 Indications : Myélome multiple
CAV ou VAC	Cure toutes les 3 semaines : Cyclophosphamide IV : 750 à 1200 mg/m ² à J1 Adriamycine IV : 45 à 50 mg/m ² à J1 Vincristine IV : 1,4 mg/m ² à J1 Indications : cancer du poumon à petites cellules, cancer de l'utérus
CDOP	Cure toutes les 4 semaines pendant 6 mois, puis 1 fois par trimestre : Cyclophosphamide IV : 750 mg/m ² à J1 Adriamycine IV : 50 mg/m ² à J1 Vincristine : 1,4 mg/m ² à J1 Prednisone per os : 100 mg/m ² de J1 à J14 Indications : leucémie lymphoïde chronique, lymphome non hodgkinien
CEV	Cure toutes les 3 semaines : Cyclophosphamide IV : 1000 mg/m ² à J1 Epirubicine IV : 60 mg/m ² à J1 ou Etoposide IV : 50 mg/m ² à J1 Vincristine IV : 1 mg/m ² à J1 Indications : cancer du poumon à petites cellules
CHAP	Cure toutes les 4 semaines : Cyclophosphamide per os : 150 mg/m ² de J2 à J8 Hexaméthylmélamine per os : 150 mg/m ² de J2 à J8 Adriamycine IV : 30 mg/m ² à J1 Cisplatine IV : 50 mg/m ² à J1 Indications : carcinome ovarien
CHOP et CHOP-Bléo	Cure toutes les 3 semaines : Cyclophosphamide IV : 750 mg/m ² à J1 Adriamycine IV : 50 mg/m ² à J1 Vincristine : 1,4 mg/m ² à J1 (2 mg maximum) Prednisone per os : 40 mg/m ² de J1 à J5 (Bléomycine IV : 15 mg/m ² à J1 et J5) Indications : lymphome non hodgkinien
CISCA 1	Cure toutes les 3 à 4 semaines Cisplatine IV : 100 à 120 mg/m ² à J3 Cyclophosphamide IV : 1000 mg/m ² à J1 et J2 Adriamycine IV : 80 à 90 mg/m ² à J1 et J2 Indications : cancer du testicule
CISCA 2 ou PAC	Cure toutes les 3 semaines : Cisplatine IV : 50 mg/m ² à J1 Cyclophosphamide : 600 mg/m ² à J1 Adriamycine IV : 75 mg/m ² à J1 Indications : cancer de la vessie

CMF	Cure toutes les 3 à 5 semaines (6 cures) : Cyclophosphamide IV : 600 mg/m ² Méthotrexate IV : 40 mg/m ² Fluorouracile IV : 600 mg/m ² Indications : cancer du sein	à J1 et J8 à J1 et J8 à J1 et J8
CMF-VP	Cure toutes les 4 semaines : Cyclophosphamide per os : 2 à 2,5 mg/kg Méthotrexate IV : 25 à 50 mg/m ² Fluorouracile IV : 300 à 500 mg/m ² Vincristine IV : 0,6 à 1,2 mg/m ² Prednisone per os : 30 mg/m ² Indications : cancer du sein	chaque jour chaque semaine chaque semaine chaque semaine de J1 à J10
CMV	Cure toutes les 3 semaines : Cisplatin IV : 100 mg/m ² Méthotrexate IV : 30 mg/m ² Vinblastine IV : 4 mg/m ² Indications : cancer de la vessie	à J2 à J1 et J3 à J1 et J3
COMP	Cure toutes les 3 semaines : Cyclophosphamide IV : 600 mg/m ² Vincristine IV : 1,2 mg/m ² Méthotrexate IV : 30 mg/m ² Prednisone per os : 60 mg/m ² Indications : lymphome non hodgkinien	à J1 et J8 à J1 et J8 à J1 et J8 de J1 à J14
CYTA-BOM après PROMACE en alternance avec MOPP	Cure toutes les 3 semaines : Cytarabine IV : 300 mg/m ² Bléomycine IV : 5 mg/m ² Vincristine IV : 1,4 mg/m ² Méthotrexate IV : 120 mg/m ² Indications : lymphome non hodgkinien	à J8 à J8 à J8 à J8
CYVADIC	Cure toutes les 3 semaines : Cyclophosphamide IV : 500 mg/m ² Vincristine IV : 1,5 mg/m ² Adriamycine IV : 50 mg/m ² Dacarbazine IV : 250 mg/m ² Indications : sarcome des tissus mous, sarcome d'Ewing	à J2 à J1, J8, J15 à J2 à J1, J2, J3, J4, J5
DAVE	Cure toutes les 3 à 4 semaines Dactinomycine IV : 0,6 mg/m ² Adriamycine IV : 30 mg/m ² Vincristine IV : 0,8 mg/m ² Cyclophosphamide IV : 200 mg/m ² Indications : néphroblastome, tumeur de Wilms	à J1 et J8 à J1 et J8 à J1 et J8 à J1 et J8
DUP	Cure toutes les 4 semaines (3 cures) : Dacarbazine IV : 200 mg/m ² Vindésine IV : 5 mg/m ² Cisplatin IV : 100 mg/m ² Indications : mélanome malin	à J1, J2, J3, J4, J5 à J2 à J2 et J3
EAP	Cure toutes les 4 semaines : Etoposide IV : 120 mg/m ² Adriamycine IV : 20 mg/m ² Cisplatin IV : 40 mg/m ²	à J3, J4, J5 à J1 et J7 à J2 et J8

EBVP et EBVVP	Cure toutes les 3 semaines : Epirubicine IV : 75 mg/m ² Bléomycine IV : 6 mg/m ² Vinblastine IV : 6 mg/m ² Prednisolone per os : 40 mg/m ² (Etoposide IV : 200 mg/m ² à J1) Indications : maladie de Hodgkin	à J1 à J1 à J1 à J1, J2, J3, J4, J5
EC	Cure toutes les 2 à 3 semaines : Epirubicine IV : 40 mg/m ² Cyclophosphamide IV : 600 mg/m ² Indications : cancer du sein	à J1 à J1
ECVBP	Cure toutes les 2 semaines (3 à 4 cures) : Epirubicine IV : 120 mg/m ² Cyclophosphamide IV : 2000 mg/m ² Vindésine IV : 2mg/m ² Bléomycine IV : 10 mg/m ² Prednisone per os : 60 mg/m ² Indications : lymphome non hodgkinien	à J1 à J1 à J1 et J5 à J1 et J5 de J1 à J5
ELF	Cure toutes les 4 semaines : Etoposide IV : 120 mg/m ² Leucovorine IV : 300 mg/m ² Fluorouracile IV : 500 mg/m ² Indications : cancer de l'estomac avancé	à J1, J2, J3 à J1, J2, J3 à J1, J2, J3
FAC	Cure toutes les 3 semaines Fluorouracile IV : 500 mg/m ² Adriamycine IV : 50 mg/m ² Cyclophosphamide per os : 500 mg/m ² Indications : cancer du sein	à J1 et J2 à J1 et J2 à J1
FACOP	Cure toutes les 4 semaines : Fluorouracile IV : 600 mg/m ² Adriamycine IV : 40 mg/m ² Cyclophosphamide IV : 400 mg/m ² Vincristine IV : 1,4 mg/m ² Cisplatin IV : 80 mg/m ² Indications : adénocarcinome, cancer du poumon	à J1 et J2 à J1 à J1 et J2 à J1 à J1
FAM ou MAF	Cure toutes les 8 semaines : Fluorouracile IV : 600 mg/m ² Adriamycine IV : 30 mg/m ² Mitomycine IV : 10 mg/m ² Indications : cancer du poumon non à petites cellules, cancers digestifs, cancer de la prostate	à J1, J2, J29, J36 à J1 et J29 à J1
FAMTX et FEMTX	Cure toutes les 4 semaines : Fluorouracile IV : 1500 mg/m ² Adriamycine IV : 30 mg/m ² ou Epirubicine IV : 60 mg/m ² Méthotrexate IV : 1500 mg/m ² Leucovorine per os : 15 mg/m ² Indications : cancer de l'estomac avancé	à J1 à J1 à J1 à J1 avant fluorouracile à J2, J3, J4
FAP	Cure toutes les 3 à 4 semaines : Fluorouracile IV : 600 mg/m ² Adriamycine IV : 30 mg/m ² Cisplatin IV : 75 mg/m ² Indications : cancer du poumon non à petites cellules cancers de l'oesophage, de l'estomac, de l'utérus, de la vessie	à J1 et J8 à J1 à J1

FEC	Cure toutes les 3 semaines : Fluorouracile IV : 600 mg/m ² Epirubicine IV : 50 mg/m ² Cyclophosphamide IV : 600 mg/m ² Indications : cancer du sein	à J1 et J8 à J1 à J1
5-FU-CDDP	Cure toutes les 3 à 4 semaines : Fluorouracile IV : 1000 mg/m ² (Fluorouracile IV : 750 mg/m ²) Leucovorine : 200 mg/m ² Cisplatine IV : 100 mg/m ² Indications : cancers digestifs et aéro-digestifs	de J1 à J5 à J1
FUFOL	Cure toutes les 3 à 4 semaines pendant 6 mois à 1 an : Fluorouracile IV : 350 à 600 mg/m ² Leucovorine IV : 200 à 500 mg/m ² Indications : cancer colo-rectal	de J1 à J3 ou J5 de J1 à J3 ou J5
IVA	Cure toutes les 4 semaines (1 à 6 cures) : Ifosfamide IV : 1500 mg/m ² Etoposide IV : 150 mg/m ² ou Vincristine IV : 1,5 mg/m ² Adriamycine IV : 60 mg/m ² Indications : hépatome, sarcomes des tissus mous	à J1, J2, J3 à J1, J2, J3 à J1 et J14 à J1 et J2
MAC	Cure toutes les 3 semaines : Méthotrexate IV : 30 mg/m ² Adriamycine IV : 30 mg/m ² Cyclophosphamide IV : 300 mg/m ² Indications : cancer de la vessie	à J1 et J8 à J1 à J1
MACOP-B	Traitement sur 3 mois : Méthotrexate IV : 400 mg/m ² Acide folinique 8 heures après le méthotrexate Adriamycine IV : 50 mg/m ² Cyclophosphamide IV : 350 mg/m ² Vincristine IV : 1,4 mg/m ² Prednisone per os : 75 mg/m ² Bléomycine IV : 10 mg/m ² Indications : lymphome non hodgkinien	à J8, J36, J64 à J1, J15, J29, J43, J57, J71 à J1, J15, J29, J43, J57, J71 à J8, J22, J36, J50, J64, J78 de J1 à J15 à J22, J50, J78
MACOP-VP 16	Cure toutes les 2 semaines : Cycle A : Méthotrexate IV : 450 mg/m ² Acide folinique 8 heures après le méthotrexate Adriamycine IV : 40 mg/m ² Cyclophosphamide IV : 800 mg/m ² Vincristine IV : 1,4 mg/m ² Cycle B : Méthotrexate intrarachidien : 12 mg/m ² Etoposide IV : 150 mg/m ² Cisplatine IV : 80 mg/m ² Indications : lymphome non hodgkinien, cancer du poumon à petites cellules	à J1 à J1 à J1 à J1 à J15 à J15, J16, J17 à J16

M-BACOD	Cure toutes les 3 semaines (8cures): Méthotrexate IV : 200 mg/m ² Bléomycine IV : 10 mg/m ² Adriamycine IV : 45 mg/m ² Cyclophosphamide IV : 600 mg/m ² Vincristine IV : 1 mg/m ² Dexaméthasone per os : 6 mg/m ² Indications : lymphome non hodgkinien	à J8 et J15 à J1 à J1 à J1 à J1 de J1 à J15
MOPP possibilité d'alterner avec ABVD	Cure toutes les 4 semaines : Méchloroéthamine IV : 6 mg/m ² Vincristine IV : 1,4 mg/m ² Procarbazine per os : 90 mg/m ² Prednisone per os : 60 mg/m ² Indications : maladie de Hodgkin	à J1 et J8 à J1 et J8 de J1 à J15 de J1 à J15 (1 cure sur 2 pendant 3 à 6 cycles)
MVAC	Cure toutes les 4 à 5 semaines : Méthotrexate IV : 30 mg/m ² Vinblastine IV : 3 mg/m ² Adriamycine IV : 30 mg/m ² Cisplatin IV : 70 à 100 mg/m ² Indications : cancer de la vessie	à J1, J15, J22 à J2, J15, J22 à J2 à J2
PROMACE suivi par CYTA-BOM ou MOOP	Cure toutes les 4 semaines : Prednisone per os : 60 mg/m ² Méthotrexate IV : 1500 mg/m ² Adriamycine IV : 25 mg/m ² Cyclophosphamide IV : 650 mg/m ² Etoposide IV : 120 mg/m ² Indications : lymphome non hodgkinien	à J14 à J14 à J1 et J8 à J1 et J8 à J1 et J8
PVB	Cure toutes les 3 semaines : Cisplatin IV : 20 mg/m ² Vinblastine IV : 0,2 mg/m ² Bléomycine IV : 10 à 20 mg/m ² Indications : cancer du testicule	de J1 à J5 à J2 à J2, J9, J10
VAC	Cure toutes les 3 à 4 semaines : Vincristine IV : 1,5 à 2 mg/m ² ou Vindésine IV : 3 mg/m ² Adriamycine IV : 40 à 75 mg/m ² Cyclophosphamide IV : 100 mg/m ² Indications : cancer du sein	à J1 à J1 à J1 de J2 à J5
VAD	Cure toutes les 3 à 6 semaines : Vincristine IV : 0,4 mg/m ² Adriamycine IV : 9 mg/m ² Dexaméthasone per os : 40 mg Indications : myélome multiple	de J1 à J4 de J1 à J4 J1 à J4, J9 à J12, J17 à J20
VBAP	Cure toutes les 3 à 6 semaines : Vincristine IV : 1 à 1,5 mg/m ² BCNU ou Carmustine IV : 30 mg/m ² Adriamycine IV : 30 mg/m ² Prednisone per os : 60 mg/m ² Indications : myélome multiples	à J1 à J1 à J1 de J1 à J4
VIP	Cure toutes les 3 à 4 semaines (4 cures) : Vinblastine IV : 6 mg/m ² Ifosfamide IV : 1290 à 1500 mg/m ² Cisplatin IV : 20 mg/m ² Indications : cancer du testicule	à J1 et J2 de J1 à J5 de J1 à J5

2. Du poison de flèche à la chimiothérapie antitumorale

2.1 La mise en place d'un criblage naturel

Nous venons de le voir, la place que représentent les molécules médicamenteuses cytostatiques originaires d'organismes vivants dans le traitement du cancer reste relativement importante. Dans ce domaine en effet, il est sans cesse nécessaire de découvrir de nouvelles substances originales possédant une activité plus intéressante que les anticancéreux utilisés jusqu'alors. Ceci est d'autant plus vrai que des phénomènes de résistance aux traitements peuvent apparaître. Or, s'il est possible de cultiver les micro-organismes en laboratoire afin de les étudier et d'en extraire les précieuses matières, il est beaucoup plus difficile de déterminer qu'elles sont les espèces végétales ou animales potentiellement intéressantes dans la recherche de tels produits. Différentes approches méthodologiques peuvent être abordées dans cette optique. Les critères de sélection du matériel végétal ou animal font ainsi appel aux sciences précises que sont la chimiottaxonomie, la pharmacotaxonomie, la pharmacologie d'orientation ou l'ethnopharmacologie. On regroupe toutes ces méthodes d'investigation sous le terme général de « criblage » naturel [7].

2.1.1 *La chimiottaxonomie*

La chimiottaxonomie permet de répertorier les substances chimiques contenues dans un organisme vivant en fonction de sa classification. Il est ainsi possible dans le cas de plantes, de rechercher la présence d'une famille précise de molécules en fonction de l'appartenance botanique du végétal. On sait par exemple que les Apocynaceae, les Loganiaceae ou les Rubiaceae renferment souvent des alcaloïdes, alors que des diterpènes se retrouvent chez les Lamiaceae. Toutes ces catégories chimiques sont très fréquemment douées d'activité biologiques. Le chercheur de terrain récoltera donc en fonction de la systématique botanique. Après identification, il effectuera ensuite les tests chimiques destinés à préciser la classe moléculaire des constituants.

2.1.2 *La pharmacotaxonomie*

Voisine de la chimiottaxonomie mais d'approche plus précise, la pharmacotaxonomie recherche au sein d'une même famille d'organismes vivants, la présence cette fois-ci de substances chimiquement proches mais possédant surtout une activité pharmacologique commune. C'est ainsi qu'elle conduit par exemple à rechercher dans la famille botanique des Annonaceae, riche en alcaloïdes aporphiniques, des substances agissant sur le comportement comme l'apomorphine ou la bulbocapnine, qui possèdent une structure proche de la dopamine.

2.1.3 La pharmacologie d'orientation

Cette technique consiste à utiliser le plus près possible du terrain des essais biologiques faciles à mettre en œuvre, pour dépister une activité. Ils s'agit en général de tests antibiotiques, antifongiques, insecticides, de tests de cytotoxicité (tests général d'inhibition de la croissance des cellules KB, test sur la germination de grains de blé, ou « test tubuline » pour les poisons du fuseau), ou de certains tests biochimiques. Pour être appliqués, ces tests doivent être naturellement peu onéreux et faciles à utiliser. Utilisés en complément de tests purement chimiques ils permettent de cibler un nombre significatif de plantes et d'avoir une chance de succès.

2.1.4 L'ethnopharmacologie

Pour chaque pays du globe, on retrouve dans la tradition pharmaceutique locale la connaissance des vertus thérapeutiques des plantes et animaux environnants. Ceci s'observe d'autant plus chez les populations peu urbanisées qui se reposent sur une tradition ancestrale et utilisent, pour se soigner, les éléments disponibles dans leur milieu naturel. Pour chaque ethnie, l'ensemble des connaissances dans ce domaine constituent une pharmacopée spécifique, susceptible d'être étudiée pour la découverte de nouveaux médicaments. Les plantes utilisées sont en général fraîches ce qui en garantit le contenu chimique. Le chercheur enquête donc chez différentes tribus et ethnies et récolte les produits qui l'intéressent. Cette méthode comporte néanmoins de nombreuses limites : il arrive souvent que l'utilisation de plantes ou animaux soit liée à un ensemble de croyances religieuses ou de comportements sociaux et de ce fait, qu'elle provoque un effet de suggestion élevé doublé d'un effet placebo. La description de son utilisation doit alors être traduite en termes purement scientifiques. De plus, comme la thérapeutique consiste en général à soigner un symptôme et non la cause d'un mal, il est souvent nécessaire de traduire le langage d'un informateur en cherchant la correspondance pharmacologique (une plante qui soigne un mal au thorax peut avoir des effets cardiaques, digestifs ou respiratoires). Enfin, d'une façon générale de telles recherches sont souvent difficiles, aléatoires et onéreuses. La confirmation de l'effet par les études en laboratoire est souvent laborieuse et il arrive même qu'elle aboutisse à l'isolement de substances déjà connues.

On estime entre 10 et 20 % aujourd'hui le nombre d'espèces végétales et animales inventoriées. Ces espèces ont été essentiellement étudiées dans les pays tempérés. On sait également que la plupart des plantes sont de véritables usines chimiques capables de synthétiser plusieurs milliers de substances différentes. Aussi les forêts des pays tropicaux représentent-elles une formidable réserve d'espèces vivantes potentiellement exploitables, dont certaines d'entre elles sont extrêmement anciennes. Malheureusement les intérêts économiques de ces pays chauds font peu de cas de l'environnement et des forêts primaires qui sont parfois détruites à un rythme accéléré, ce qui impose d'examiner leurs ressources le plus rapidement possible.

Les pays intertropicaux constituent dans cette optique une zone de prospection particulièrement intéressante. Ainsi les forêts amazoniennes, l'Afrique Centrale, Madagascar, le Sud-Est asiatique et les îles du Pacifique sont autant de lieux géographiques dont la faune et la flore sont susceptibles de révéler la présence de molécules encore inconnues. Le choix d'une zone géographique à explorer se fait à partir d'informations bibliographiques de plus en plus complètes grâce aux banques de données informatisées, et par l'endémicité du lieu considéré c'est-à-dire sa spécificité à abriter certaines espèces vivantes dont il a l'exclusivité (Nouvelle-Calédonie, Madagascar...). C'est ainsi que dès les années soixante, de grandes campagnes de criblage naturel destinées à découvrir de nouveaux médicaments ont été lancées par les instituts de recherche pharmaceutique (CNRS français, National Cancer Institute américain ou NCI, Universités japonaises...). De nombreuses substances aux propriétés cytotoxiques ont ainsi pu être découvertes, et même si pour des raisons techniques, beaucoup d'entre elles n'ont pu être exploitées, certaines ont néanmoins abouti aux spécialités anticancéreuses énumérées précédemment.

2.2 L'isolement du principe actif et l'élaboration d'un nouveau médicament

Après la découverte d'une espèce vivante intéressante, un long travail d'exploitation commence. Ce travail dure en général plusieurs années et se divise en différentes étapes (fig.4) [8] :

- **Identification correcte de l'espèce découverte** : cette identification se fait avec l'aide de spécialistes taxonomistes (botanistes, zoologistes) qui détermineront, de façon très précise la famille, le genre, l'espèce et la variété de l'élément à spécifier.
- **Récolte de l'organisme** : il faut s'avoir qu'en général il faut plusieurs dizaines de kilos de matière première pour obtenir quelques milligrammes d'une substance prometteuse. Ceci soulève un certain nombre de problèmes d'ordre écologique. Aussi des conventions internationales ont été créées afin d'éviter le pillage des ressources naturelles des pays du Tiers Monde par les industries de l'hémisphère Nord et d'assurer ainsi leur conservation. Il est également prévu que tout développement d'un médicament à base d'une espèce d'un pays du Tiers Monde aboutisse à des retombées financières pour ce pays. Enfin la rencontre entre un chercheur occidental et un guérisseur traditionnel ne peut se faire qu'avec l'aide de scientifiques ou administrateurs locaux.
- **Préparation d'extraits à l'aide de différents solvants** : l'extrait exhibant une importante activité sera fractionné et analysé ensuite par chromatographie. Ces extraits font alors l'objet de différents tests biologiques afin de localiser l'activité.

- **Purification et fractionnement des extraits** : cette purification se fait en plusieurs étapes faisant appel aux diverses techniques de chromatographie préparative (chromatographie sur colonne, chromatographie de partage centrifuge...). A chaque étape, les fractions actives sont à leur tour soumises à des méthodes séparatives jusqu'à l'obtention d'un constituant pur. Tout ce processus est très laborieux et peut parfois durer plusieurs mois.
- **Vérification de la pureté du produit isolé** : encore une fois interviennent ici diverses méthodes chromatographie à haute sensibilité qui permettent de garantir la seule présence de la substance à étudier.
- **Elucidation de la structure du constituant** : cette détermination de la formule chimique du produit fait appel à toute une panoplie de méthodes spectroscopiques comme la spectrophotométrie dans l'UV ou l'IR, la RMN (résonance magnétique nucléaire), ou la spectrométrie de masse. Plus récemment, la chromatographie liquide à haute performance couplée à la spectrométrie de masse permet une analyse structurale encore plus précise.
- **Modification de structure** : lorsque la spectrométrie n'a pas suffit à déterminer la structure exacte, il est parfois nécessaire de réaliser de nombreuses transformations chimiques en vue de confirmer l'hypothèse de structure émise sur la base des analyses spectroscopiques et d'établir un ensemble de relations structure-activité. Il est également important de consulter les banques de données afin de s'assurer que la molécule n'a jamais été découverte auparavant.
- **Etudes pharmaceutiques** : ces études consistent en la recherche de processus de synthèse ou d'hémi-synthèse du produit naturel, l'élaboration d'essais pharmacologiques et de tests toxicologiques sur des animaux pour enfin aboutir à la mise en place des essais cliniques.

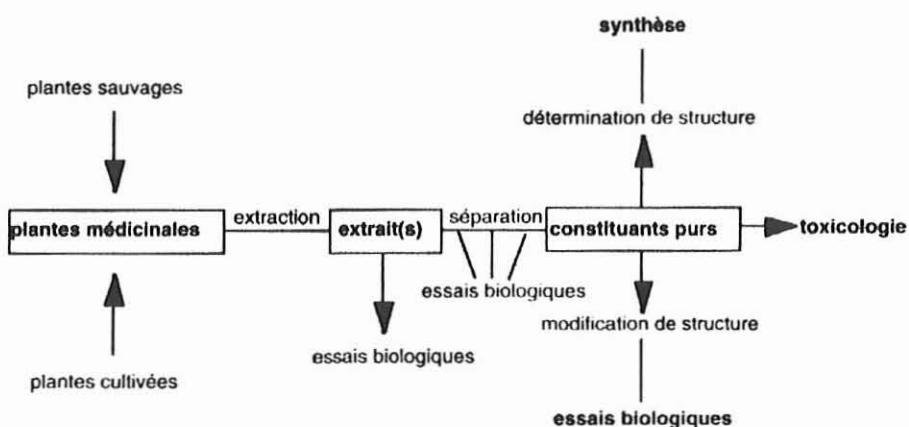


Fig.4 Les différentes étapes de l'isolement des constituants actifs d'une plante [8]

3. La cellule et le cancer

Le cancer naît de la transformation génétique d'une cellule qui acquiert ainsi l'immortalité. Cette cellule va ensuite entamer une série de divisions cellulaires qui se fera de manière anarchique et incontrôlée. A l'état normal en effet, la division d'une cellule a lieu au terme d'un cycle complexe contrôlé par de nombreux facteurs moléculaires. Des inhibiteurs permanents permettent ainsi l'arrêt de cette division lorsque la cellule vient au contact d'autres cellules environnantes, on parle alors d'inhibition de contact. Pour la cellule cancéreuse en revanche, dont les mécanismes intimes de contrôle sont altérés, la prolifération cellulaire est de surcroît, ce qui conduit peu à peu à l'envahissement des tissus avoisinants jusqu'à la détérioration progressive des fonctions physiologiques. Pour être active donc, une substance anticancéreuse devra tuer la totalité des cellules composant la tumeur puisqu'une seule est capable de régénérer la tumeur de départ. Or, cela nécessite un très haut degré de spécificité de la substance, et l'emploi de doses massives ce qui entraîne obligatoirement un effet毒ique pour les cellules saines. Toutes les substances antitumorales employées à ce jour sont non sélectives. Heureusement, la sensibilité moindre des cellules saines fait que le tissu tumoral sera détruit en priorité [1].

Toutes les cellules à l'exception des hématies, des neurones, et des fibres musculaires squelettiques subissent donc un cycle fondamental comprenant des phases de croissance cellulaire, de réplication de l'ADN, et de mitose, pendant lesquelles vont intervenir de nombreux facteurs protéiques dont le rôle est d'assurer le contrôle et la structuration de leur développement. Ce cycle aboutit à la formation de deux cellules-filles qui subiront à leur tour un nouveau cycle, et ainsi assurer la prolifération de leur colonie. Ces deux cellules-filles ont les mêmes caractères morphologiques et physiologiques que leur cellule-mère. On divise communément le cycle de la cellule en deux étapes : l'interphase et la mitose. L'interphase fait essentiellement l'objet d'une modification de son acide nucléique avec notamment la réplication de l'ADN qui permet le passage d'une cellule de $2n$ chromosomes à une cellule de $4n$ chromosomes. La mitose quant à elle, est l'étape physique de division cellulaire qui conduit à la formation des deux cellules-filles. On subdivise l'interphase en une phase G1, une phase S et une phase G2. La mitose constitue, elle, la phase M [9].

On divise ainsi le cycle en quatre phases :

- **La phase G1 :**

C'est la phase de repos postmitotique, à l'issue de laquelle la cellule arrêtera son cycle pour se différencier (on parle de phase G0), ou entrera en phase S pour se diriger vers une nouvelle mitose. Sa durée est très variable (de quelque heures à plusieurs mois) et diminue sensiblement chez les cellules cancéreuses. Elle contient $2n=46$ chromosomes chez l'Homme et sa quantité de chromatine reste constante jusqu'à la fin de la phase G1. La cellule élabore alors toutes les enzymes et les molécules qu'elle possédait avant sa mitose. Elle synthétise également par transcription les molécules d'ARNm, ARNr, et ARNt.

• **La phase S :**

Sous le contrôle de facteurs moléculaires dont la plupart sont enzymatiques, la cellule entame la réplication de son ADN, mécanisme complexe par lequel le matériel génétique se reproduit sous la même forme. De nombreux complexes enzymatiques interviennent alors : l'hélicase provoque la déspiralisation localisée de l'ADN, la topo-isomérase I monomérique compense le surenroulement du double brin de la chaîne d'ADN en sectionnant l'une des chaînes qui se débobine, et en la ressoudant, la topo-isomérase II, quant à elle dimérique, intervient en scindant la totalité de la double hélice, en catalysant le passage d'un segment d'ADN au travers de la brèche ainsi créée, et en permettant sa réparation. Des polymérases assurent ensuite la réplication du brin codant pour l'obtention d'une cellule à $4n$ chromosome. Cette phase S a une durée constante (de 6 à 8 heures).

• **La phase G2 :**

Il s'agit de la phase de repos prémitotique. La cellule contient le double de la quantité d'ADN : c'est une cellule diploïde. Les synthèses moléculaires continuent, ainsi que des facteurs de condensation de chromosomes. Cette phase est relativement courte (4 à 5 heures) et aboutit au déclenchement de la mitose sous l'influence d'un facteur promoteur : le MPF.

• **La phase M :**

La phase M ou mitose, permet la distribution égale de l'ADN entre les deux cellules-filles. On y distingue quatre étapes. La prophase tout d'abord, correspond à la condensation des chromosomes, les rendant visibles au microscope optique. Des protéines, les tubulines s'assemblent pour ériger des microtubules formant des fuseaux liés au centromère du chromosome. En métaphase la condensation chromosomique est maximale, et les fuseaux sont totalement formés. Lors de l'anaphase ensuite, chaque chromosome frère migre vers l'un des deux pôles de la cellule, tandis que la télophase est le siège de l'élaboration des noyaux, et de la formation d'une membrane qui sépare les deux cellules-filles.

Ainsi, chaque molécule anticancéreuse pourra agir sur l'une ou l'autre phase en opérant selon un mode d'action particulier, avec des cibles moléculaires caractéristiques. De même, les molécules anticancéreuses d'origine naturelle ayant, pour la plupart, fait l'objet d'une AMM française et communément utilisées aujourd'hui dans de nombreux protocoles chimiothérapeutiques peuvent également être classées selon la phase cellulaire lors de laquelle leur action s'exerce (fig.5).

Fig. 5 Classification des principales molécules cytotoxiques d'origine naturelle en fonction de la phase du cycle cellulaire sur laquelle elles agissent [3,17]

AGENTS AGISSANT LORS DE LA PHASE G1

Actinomycine D
Anthracyclines

AGENTS AGISSANT LORS DE LA PHASE S

Actinomycine D
Anthracyclines
Cytarabine
Ellipticine

AGENTS AGISSANT LORS DE LA PHASE G2

Bléomycine
Epipodophyllotoxine (Etoposide)
Camptothecines

AGENT AGISSANT LORS DE LA PHASE M

Podophyllotoxine
Colchicine
Alcaloïdes de la pervenche
Taxoïdes

4. L'arsenal antinéoplasique actuel

Les molécules antinéoplasiques issues de plantes ou de micro-organismes n'ont cessé de ponctuer l'histoire de la chimiothérapie tout au long de ces dernières décennies. Nous allons donc ici envisager chacune d'entre elle en nous efforçant de respecter l'ordre chronologique de leur découverte.

4.1 L'actinomycine D (Bactérie *Streptomyces parvullus*)

4.1.1 Historique

En 1939, le docteur Selman A. Waksman de l'université de Rutger commença la recherche d'antibiotiques à partir de micro-organismes du genre *Streptomyces* autrefois nommé *Actinomyces*. *Streptomyces*, est en effet un genre bactérien Gram positif appartenant au groupe des actinomycètes, capable par association de former des filaments ramifiés ou hyphes, ou de se dissocier en éléments bacillaires ou coccoïdes. Il est largement reconnu pour son pouvoir à synthétiser un grand nombre de substances antibiotiques et cytostatiques. Les recherches s'effectuèrent ainsi avec la collaboration scientifique et financière du laboratoire Merck & Co. Inc. Le docteur Waksman et son associé le docteur H. Boyd Woodruff qui deviendra plus tard le directeur de microbiologie du département recherche du laboratoire Merck Sharp & Dohme, isolèrent ainsi l'actinomycine en 1940 [10]. Les premiers tests pharmacologiques dévoilèrent une grande activité à l'encontre d'organismes pathologiques. De ce fait l'actinomycine fut intensément étudiée au laboratoire Merck entre 1940 et 1941. Le docteur Harry Robinson, qui deviendra quant à lui président de Merck Institute, se pencha sur l'aspect pharmacologique de la molécule tandis que l'aspect chimique fut analysé par le docteur Max Tishler. La publication de ces travaux par Waksman en 1941 et 1942, fut ensuite cruciale pour la découverte d'autres dérivés de l'actinomycine. Malheureusement, cet antibiotique d'abord prometteur présenta alors une toxicité marquée aux doses d'efficacité, tandis que les tentatives pour séparer l'effet toxique de l'effet antibactérien échoua par la suite. Waksman et ses collaborateurs décidèrent alors de se tourner vers des substances antibactériennes issues de *Streptomyces* et plus prometteuses : le groupe des streptomycines.

Après la commercialisation de la pénicilline, découverte par Fleming en 1928, et le début de l'âge d'or des antibiotiques, on commença à faire la relation entre l'efficacité antibiotique de certaines substances et leur activité vis à vis de cellules cancéreuses. En effet pourquoi une toxicité employée contre des organismes unicellulaires agissant en inhibant leurs fonctions de développement ne pourrait-elle pas être exploitée pour détruire des cellules tumorales ? Mais cet espoir fut éphémère : la plupart des antibiotiques révélés ne dévoilèrent aucun pouvoir anticancéreux à l'exception de l'actinomycine dont les tests pharmacologiques mirent en avant un effet cytotoxique éventuellement exploitable contre le cancer.

En 1947, sous l'œil bienveillant du docteur Robinson, Merck soumit l'actinomycine à une batterie de tests chimiques et pharmacologiques destinés à définir précisément les effets antitumoraux de cette molécule. Ces tests s'opérèrent au Sloan-Kettering Institute for Cancer. Mais comparée aux autres agents anticancéreux, l'actinomycine ne présenta qu'une activité anticancéreuse modeste et de nombreux effets toxiques. C'est alors qu'en 1949, un curieux rapport issu d'Hoffman-La Roche présenta l'isolement d'une molécule aux propriétés biologiques et chimiques proches de l'actinomycine, mais dont le poids moléculaire et le nombre de carbones différent des données énoncées par Tishler et Waksman en 1942. Ceci ne pouvait s'expliquer que par une erreur dans ces nouveaux travaux ou par l'existence d'un autre type d'actinomycine. Comme une étude britannique confirma par la suite la différence entre les deux molécules, on conclut à la seconde hypothèse en convenant que le genre bactérien *Actinomyces* était capable de produire plus d'une sorte d'actinomycines. En 1952, des scientifiques allemands du Farbenfabriken-Bayer découvrirent à leur tour un troisième type d'actinomycine, de chimie différente des deux premières. A partir de ce moment on s'accorda à nommer l'actinomycine de Waksman et Woodruff actinomycine A, celle d'Hoffman-La Roche actinomycine B, et l'actinomycine de Farbenfabriken-Bayer actinomycine C.

On remarqua dès lors que l'actinomycine C était particulièrement active contre les tumeurs chez l'animal, particulièrement sur le système lymphatique. Ceci confirmait les prédictions du docteur Robinson. En raison de sa toxicité marquée, mais suffisamment faible par comparaison à celle de l'actinomycine A, on commença alors à développer les premiers essais cliniques avec cette molécule. Or, deux ans plus tard, Waksman et ses associés de l'University Institute of Microbiology de Rutger, isolèrent un quatrième type d'actinomycine : l'actinomycine D de *Streptomyces parvullus* (fig.6). Cette ultime molécule fit rapidement l'objet d'essais cliniques et dévoila une activité encore plus prometteuse que l'actinomycine C, particulièrement associée à une irradiation aux rayons X dans les tumeurs de Wilms. Aujourd'hui l'actinomycine est commercialisée à l'étranger sous le nom de COSMEGEN-LYOVAC®, elle n'a encore pas obtenu d'AMM en France, mais reste utilisée en tant que produit importé.

4.1.2 Structure moléculaire

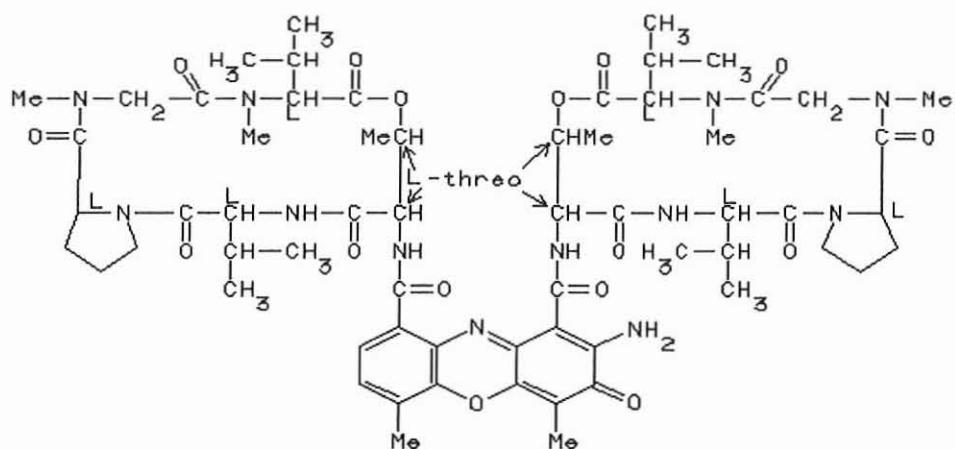


Fig.6 Structure de l'actinomycine D [11]

La structure moléculaire de l'actinomycine D consiste en deux grandes chaînes polypeptidiques symétriques reliées entre elles par une armature tricyclique de type phenozazone [11].

4.1.3 Mécanisme d'action

On sait aujourd'hui que l'actinomycine D agit, grâce à sa structure plane par intercalation entre les bases azotées de l'ADN, puis par inhibition des topo-isomérases de type II, enzymes qui règlent avec les topo-isomérases I la structure dans l'espace de l'ADN en modifiant l'enroulement de sa super-hélice. La topo-isomérase II en effet, équivalent chez les eucaryotes des gyrases bactériennes, est capable de se fixer à la double hélice de l'ADN pour y créer des coupures double brin en vis-à-vis et permettre ainsi la détorsion partielle de la structure. Ce changement de conformation permet au système de réparation d'accéder à la molécule et d'entrer en action. Après réparation, la même enzyme relie l'ADN sous la forme double brin initiale. Pour cela, ces enzymes coupent l'ADN, pour permettre à un double brin de passer par l'ouverture ainsi créée, et ressouder les brins disjoints. L'actinomycine empêche cette dernière reconstitution : elle stabilise le complexe ADN-topo-isomérase II au stade où l'ADN est coupé, ce qui empêche la réPLICATION et la transcription de l'ADN et entraîne la mort de la cellule. De façon plus précise l'actinomycine est un agent intercalant qui exerce son action cytostatique en s'insérant entre les bases azotées de l'acide nucléique, elle s'oppose ainsi spécifiquement à l'action de la topo-isomérase II et stabilise les cassures de chaînes d'ADN et bloque la transmission de l'information génétique en ARN messager. Ce médicament agit donc essentiellement pendant les phases du cycle cellulaire où la réPLICATION et la transcription de l'ADN ont lieu, phases où les topo-isomérases sont le plus mises à contribution : les phases G1 et S [12].

4.1.4 Utilisation actuelle

Egalement appelée dactinomycine, l'actinomycine D est l'un des plus anciens médicaments anticancéreux. Malgré une toxicité digestive (rectite, dysphagie, oesophagite, douleurs abdominales, diarrhée, ulcération gastro-intestinale) et hématologique (agranulocytose, leucopénie, thrombopénie voire aplasie médullaire) très marquées qui font qu'on l'utilise peu, et même si elle n'a pas d'AMM en France, ses indications restent les tumeurs de Wilms (néphroblastome unilatéral) et autres néphroblastomes, les neuroblastomes, les carcinomes du testicule et de l'utérus, les sarcomes d'Ewing, les sarcomes du tissu conjonctif, les rhabdomyosarcomes et les mélanosarcomes. L'actinomycine a de plus l'avantage de n'interagir avec aucune autre drogue [6]. En dépit de ses indications variées, l'actinomycine continue aujourd'hui à faire l'objet de quelques études protocolaires en matière de chimiothérapie. On la retrouve notamment toujours à l'essai à l'encontre du sarcome d'Ewing [13,14], mais également en cas de haut risque de tumeur trophoblastique gestationnelle [15].

4.1.5 Chronologie

1940 : Découverte de l'actinomycine A par le docteur Selman A. Waksman.
1947 : Découverte de l'actinomycine B par les laboratoires d'Hoffman-La Roche.
1952 : Découverte de l'actinomycine C par les laboratoires de Farbenfabriken-Bayer.
1954 : Découverte de l'actinomycine D par le docteur Selman A. Waksman.

4.2 La colchicine (Plante *Colchicum autumnale* L.LILIACEAE)

4.2.1 Historique

Le colchique (*Colchicum autumnale* L. LILIACEAE) est une plante herbacée des prés humides de l'Europe (fig.7) qui serait originaire des rives orientales de la Mer Noire (Géorgie) [8,16]. Egalement appelé safran des prés, il est caractérisé par un cycle végétatif particulier. En octobre, le bulbe tuniqué émet un groupe de 2 à 6 fleurs trimères à périanthe rose violacé s'épanouissant en six lobes étalés terminant un très long tube étroit (env. 12 cm) dont l'ovaire reste au niveau du bulbe, sous le sol. Après le repos végétatif hivernal apparaissent des feuilles oblongues et linéaires, tandis que l'ovaire fécondé poursuit sa maturation. Il sort alors de terre et forme une petite capsule septicide triloculaire en forme de noix, dont les graines constituent la drogue. Ces graines au tégument brun rougeâtre finement ponctué ne dépassent pas trois millimètres. Parallèlement, la pérennité de l'espèce est assurée par un bulbe de remplacement qui, chaque année se développe au dépens de l'ancien.

Ainsi le colchique, connu des grecs pour sa toxicité, est utilisé dans l'empire byzantin au Ve siècle pour le traitement de la goutte. Au début du XVIe siècle « la Faculté » le rejette, tandis qu'il réapparaît à la fin du XVI^e siècle sous forme de teinture. Un siècle plus tard, les chimistes parviennent à cristalliser la colchicine (Laborde et Houde, 1884), et en 1945 Dewar réussit à établir sa formule. Enfin en 1963, Woodward publie la première synthèse de la colchicine.

Naturellement, la drogue provient essentiellement de la cueillette dans le centre et l'est de l'Europe. Selon l'ONIPPAM (Office National Interprofessionnel des Plantes Aromatiques et Médicinales), les besoins nationaux en graine de colchique seraient voisins de 50 tonnes. Malheureusement, les essais d'amélioration in vitro n'ont pas pu aboutir à une culture rentable. Or, la colchicine est également extractible d'une Liliaceae d'origine indienne, *Gloriosa superba* L., renfermant environ 0,9 % de colchicine. La teneur en alcaloïde totaux est variable de 0,3 à 1,2%. Leur biogénèse dérive principalement de deux acides aminés dont le marquage spécifique a permis la compréhension de leur rôle respectif : la phénylalanine qui est à l'origine -via un acide cinnamique- du noyau A et des carbones 5,6 et 7 ; et la tyrosine qui est elle précurseur du noyau tropolone en ce sens où les carbones 3 et 4' de la tyrosine deviennent les carbones 12 et 9 de la colchicine. Il y a donc expansion de cycle avec inclusion du carbone benzylque de la tyrosine dans le cycle hexagonal formé.

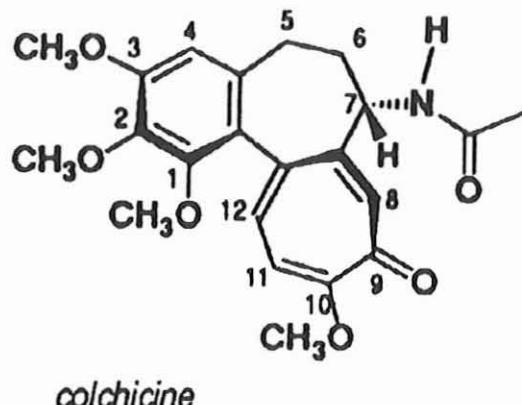
Une vingtaine de composés alcaloïdiques ont ainsi été isolés de la drogue. La plupart n'existent qu'en très faible quantité ou à l'état d'hétéroside (colchicoside : 0,4%). Il s'agit en général d'amides peu ou non basiques, formant difficilement des sels. Structurellement, ils ont en commun un noyau tropolone : structure tricyclique comportant deux cycles heptagonaux, tandis que leur atome d'azote est extracyclique. Evidemment, le principal composé est la colchicine (0,6% en moyenne) dont la structure lui confère une solubilité dans l'éthanol, le chloroforme, et l'eau froide. Sensible à la lumière, elle est photoisomérisée en lumicolchicines pharmacologiquement inactives sous l'effet des ultra-violets.

L'extraction est donc possible dans l'eau. Ainsi, la méthode de Houde par exemple consiste à mettre la drogue en présence d'une solution hydroalcoolique, tandis que la réextraction par le chloroforme après élimination de l'alcool permet de séparer colchicoside dans l'eau et alcaloïdes dans le chloroforme. Ensuite, la colchicine peut être cristallisée à partir de la phase chloroformique après lavage de celle-ci par une solution alcaline. La démécolcine, isolée du colchique était employée jusqu'il y a peu dans certains cancers cutanés sous le nom commercial de COLCHINEOS®, mais elle a été abandonnée en raison d'une trop forte toxicité et d'une marge thérapeutique trop étroite.



Fig.7 *Colchicum autumnale* L. LILIACEAE [16]

4.2.2 Structure moléculaire



colchicine

Fig.8 Structure de la colchicine [16]

La synthèse de la (-)-(aS, 7S)-colchicine continue de stimuler l'imagination et les efforts des chimistes : la colchicine naturelle présente en effet une asymétrie moléculaire liée à la coplanéité des cycles tropoloniques et benzéniques (fig.8). Ces deux cycles forment entre eux un angle de torsion d'environ 53°, tandis que l'hélicité est dans le sens inverse des aiguilles d'une montre. Cette torsion de la molécule est indispensable à la liaison avec la tubuline car l'énanthiomère R est incapable de se lier. Ainsi cette liaison, en empêchant la formation des microtubules, conditionne l'activité antimitotique de l'alcaloïde.

4.2.3 Mécanisme d'action

La colchicine est capable de se fixer sur la tubuline et donc d'inhiber ainsi l'élaboration des microtubules indispensables à la formation du fuseau. Cette dernière bloque ainsi la mitose au stade de la métaphase en empêchant la formation du fuseau mitotique indispensable à la division cellulaire et en favorisant même la dépolymérisation en tubuline. Le fuseau qui provient de la polymérisation de la tubuline en microtubules à partir des centrosomes, permet en effet la migration des chromosomes à l'anaphase. Inversement, chaque microtubule est capable de se désassembler en tubuline libre, de telle sorte qu'entre les formes tubuline et microtubule existe un perpétuel équilibre. La tubuline est donc une protéine importante du cytosquelette, on la retrouve d'ailleurs dans les protozoaires parasites, les micromycètes filamentueux, les flagelles des spermatozoïdes, et les cellules nerveuses où elle achemine vers les terminaisons axonales les neuromédiateurs élaborés dans le corps cellulaire. Ce mécanisme d'action classe la colchicine parmi les premières substances capables d'interférer avec le mécanisme intime de la division cellulaire, et ainsi le premier composé aux propriétés cytostatiques issu d'un végétal.

4.2.4 Utilisation actuelle

La colchicine et ses dérivés possèdent un grand nombre de propriétés pharmacologiques. Si les propriétés anti-inflammatoires (COLCHIMAX® Colchicine) ou myorelaxantes (MIOREL® COLTRAMYL® Thiocolchicoside) ont abouti à des spécialités largement utilisées aujourd’hui dans le traitement de la goutte ou des contractures douloureuses, il n’en est pas de même pour les propriétés anti-mitotiques de la colchicine.

De par son action novatrice, la colchicine est devenue dans les années cinquante la première substance isolée d’une plante possédant une activité antinéoplasique reconnue. Sa découverte témoignait d’un nouvel espoir en matière de thérapeutique anticancéreuse avec la mise en place des premières chimiothérapies. Malheureusement, du fait de sa toxicité importante, son utilisation dans le traitement des cancers a été abandonnée. La colchicine est en effet dangereuse : l’ingestion d’une partie de la plante provoque une gêne à la déglutition, une sialorrhée, des troubles respiratoires, des crampes musculaires, ou encore une hypotension. En cas d’intoxication grave, la mort survient par arrêt respiratoire ou collapsus cardio-vasculaire plusieurs jours après l’intoxication. Plus spécifiquement, l’intoxication par colchicine provoque de graves troubles digestifs avec déshydratation, hypokaliémie et acidose métabolique. Des troubles hématologiques par atteinte médullaire apparaissent plus tardivement. La dose toxique de colchicine se situe vers 10 mg, tandis que la dose mortelle est de 40 mg environ. En dépit de son potentiel toxique, la colchicine ne fit l’objet que d’un échec partiel : elle inaugurerait en effet une nouvelle ère de recherche dans le domaine des médicaments nouveaux, et son mécanisme d’action allait permettre d’orienter les investigations vers des substances d’activité similaire formant le grand groupe des poisons du fuseau, dont font partie les dérivés de la pervenche.

4.3 Les alcaloïdes de la pervenche, poisons du fuseau (Plante *Catharanthus roseus* APOCYNACEAE)

4.3.1 Historique

Les découvertes sur la polymérisation de la tubuline a permis de mettre en évidence l'action antimitotique commune de la colchicine, de la vincristine, et de la vinblastine. Après l'échec thérapeutique de l'utilisation des dérivés du colchique en matière de thérapeutique antinéoplasique, les recherches concernant le potentiel pharmacologique des alcaloïdes de la pervenche se sont naturellement développées.

La pervenche de Madagascar, *Catharanthus roseus* G. Don, est un sous-arbrisseau vivace à tiges ligneuses à la base, à fleurs mauves très décoratives, et à feuilles opposées dont le limbe, ovale, entier, est généralement arrondi au sommet [8,16]. Ce végétal est utilisé depuis les temps anciens par les Malgaches pour ses propriétés anorexiantes et sa réputation de plante antidiabétique. De même, les Polynésiens, lors de leurs migrations dans l'océan Pacifique emportaient souvent dans leurs pirogues des pieds de pervenche qui lesaidaient, disaient-ils, à oublier la faim. Des canadiens de l'université d'Ontario à London au Canada, spécialisés en temps normal dans l'étude du diabète, se penchèrent en 1957 sur ces usages empiriques. Ils injectèrent alors des extraits de cette plante à des rats rendus diabétiques par l'alloxane, substance hyperglycémante. Or, si aucune baisse de la glycémie ne se produisit, ils observèrent néanmoins une leucopénie importante, qui se manifestait après chaque injection. Ils émirent alors l'hypothèse que l'extrait devait posséder des composés susceptibles d'être utilisés dans les leucoses ou les leucémies, pathologies tumorales accompagnées en général d'une hyperleucocytose.

Au même moment aux Etats-Unis, les chercheurs de l'établissement pharmaceutique Eli Lilly, évaluaient un grand nombre d'extraits végétaux et mettaient eux aussi en évidence l'activité antitumorale des extraits de pervenche de Madagascar [17]. Ainsi, les parties aériennes renferment 0,2 à 1% d'un mélange complexe d'environ 90 alcaloïdes, à structure indolique ou dihydroindolique. Les substances pharmacologiquement intéressantes sont formées par le couplage de deux alcaloïdes monomères : un indole et un dihydroindole. Pour cela on parle d'alcaloïdes indoliques dimères. Les efforts conjoints des scientifiques canadiens et américains aboutirent à l'isolement de deux de ces alcaloïdes dimères : la vincaleucoblastine ou vinblastine et la leurocristine ou vincristine, obtenus à partir de la vindoline (dihydroindole) et de la catharanthine (indole). D'une manière générale la vinceristine présente une activité antitumorale supérieure à celle de la vinblastine, mais sa neurotoxicité est plus élevée. Commercialisés sous les noms respectifs de VELBE® et ONCOVIN®, ces deux substances allaient devenir des atouts majeurs de la chimiothérapie anticancéreuse.

Or, comme c'est souvent le cas lors des extractions naturelles, les rendements annoncés pour ces deux composés furent très faibles puisque de 6 à 10 g/tonne de plante sèche pour la vinblastine et de 0,5 à 1 g/tonne de plante sèche pour la vincristine ; aussi le développement de ces produits fut-il difficile et onéreux. On chercha donc à synthétiser ces molécules complexes. En 1974, une équipe de chimistes grâce à une réaction chimique particulière, la réaction de Polonovski-Potier, réalisa le couplage du N-oxyde de catharanthine avec la vindoline, et ainsi la synthèse de la vinblastine à partir de monomères naturels qui, eux existent en quantité appréciable dans la plante.

Quant à la fameuse réputation de la pervenche en tant que « coupe-faim », elle pourrait venir de l'utilisation des racines riches en glucomannanes. Ces molécules seraient en effet capables de diminuer la teneur en glucose par utilisation du glycogène hépatique et provoquer ainsi une baisse de la glycémie, ce qui expliquerait l'effet de satiété.

4.3.2 Structure moléculaire

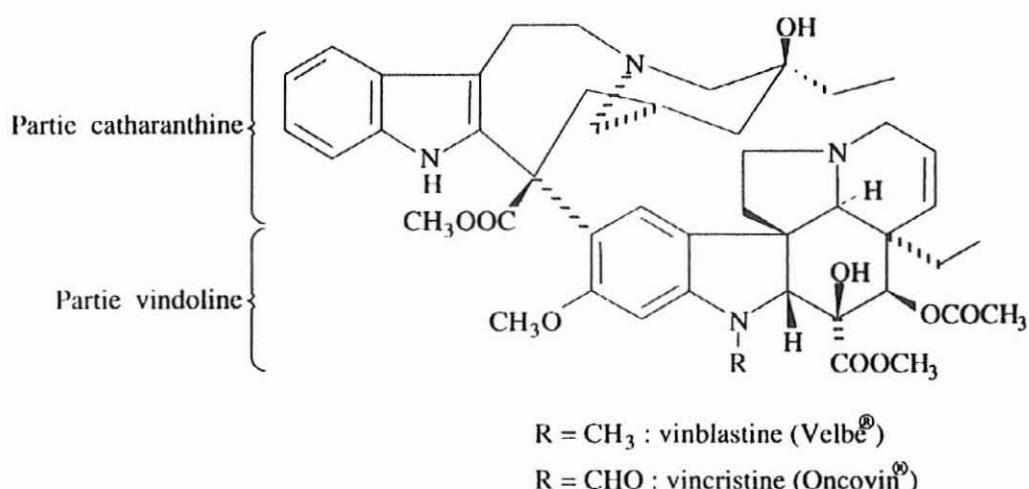
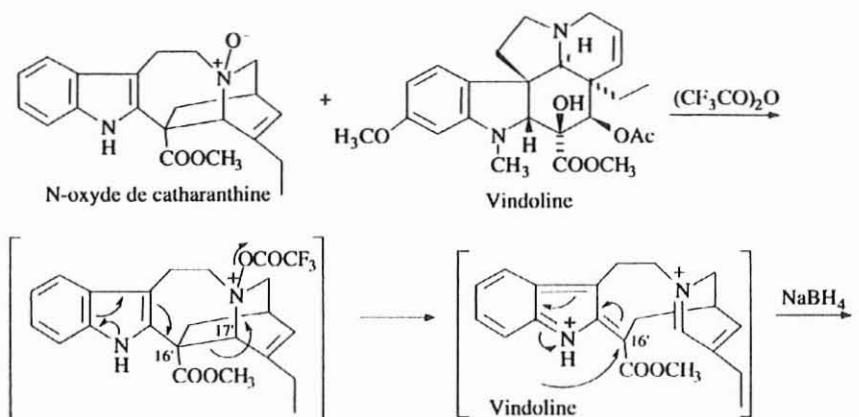


Fig.9 Structures de la vinblastine et de la vincristine [17]

Structurellement, ces deux molécules sont formées de deux parties : une partie dérivée de la catharanthine (alcaloïde indole) et une autre de la vindoline (alcaloïde dihydroindole), qui sont deux autres alcaloïdes également présents dans la pervenche (fig.9). La plante possède donc la capacité de biosynthétiser la vincristine et la vinblastine à partir de monomères que représentent la catharanthine et la vindoline. C'est sur ce principe de base que repose l'hémisynthèse.

Pour obtenir la vinblastine hémisynthétiquement on utilise une réaction chimique particulière : la réaction de couplage de Polonovski-Potier (fig.10). La catharanthine est tout d'abord oxydée en N-oxyde. L'anhydride trifluoracétique rend la molécule de N-oxyde de catharanthine électrophile, ce qui permet la liaison avec le deuxième alcaloïde naturel : la vindoline, agissant comme un électrophile. Cette réaction de couplage conduit à l'obtention de l'anhydrovinblastine, naturelle. Par hydratation, comme lors de l'extraction de la plante, l'anhydrovinblastine est transformée en vinblastine, alcaloïde primitivement isolé par les Américains et les Canadiens. La vincristine peut également être produite à partir de la vinblastine naturelle, en quantité plus importante dans la plante. On utilise pour cela un oxydant chimique, l'acide chromique ou la bactérie, *Streptomyces albogriseolus*, qui provoque une N-deméthylation métabolique [18].



En présence d'anhydride trifluoracétique, le N-oxyde de catharanthine forme un trifluoracétate d'iminium électrophile qui entraîne, par un mécanisme en cascade, la rupture de la liaison C-16'/C-17', puis l'attaque par la vindoline du carbone C-16' électrophile. La réduction de l'iminium conduit à l'anhydrovinblastine qui peut ensuite être transformée en vinblastine.

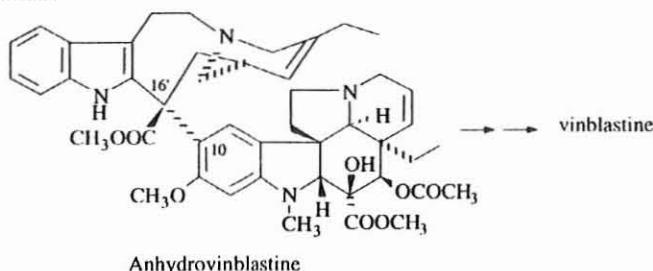


Fig.10 Hémisynthèse de la vinblastine [17]

4.3.3 Mécanisme d'action

Lors de la division cellulaire, le fuseau mitotique se forme. Comme expliqué précédemment, il permet la migration des chromosomes à l'anaphase et provient de la polymérisation de la tubuline en microtubules à partir des centrosomes. Inversement, le microtubule est capable de se désassembler en tubuline libre, de telle sorte qu'entre les formes tubuline et microtubule demeure un perpétuel équilibre. Or, il est possible de suivre la cinétique d'assemblage et de désassemblage de la tubuline dans une préparation purifiée de la protéine extraite de cerveaux d'animaux (bovidae par exemple), selon l'augmentation ou la diminution de l'absorption lumineuse à une longueur d'onde donnée (350 nm) et en fonction de la température. On parle de « test tubuline » (fig.11). Ainsi à 0°C, la tubuline est non polymérisée. A 37°C, son absorbance augmente, ce qui témoigne d'un état de polymérisation, qui diminue lorsqu'on abaisse la température à nouveau. Or, lorsque la préparation de tubuline se fait en présence d'un inhibiteur potentiel, on peut déterminer la capacité de l'extrait à s'opposer à la polymérisation de la tubuline. Ainsi la vinblastine et la vincristine, tout comme la colchicine, possèdent cette propriété qui leur confère le pouvoir de s'opposer *in vitro* au développement cellulaire en inhibant la polymérisation de la tubuline et en amplifiant sa dépolymérisation. Ces molécules inhibent également l'hydrolyse de la guanosine triphosphate induite *in vitro* par le glutamate ou des protéines associées aux microtubules. Ce GTP est normalement indispensable à la bonne polymérisation tubulaire. Par cela, ces substances deviennent des anticancéreux potentiel *in vivo* : les poisons du fuseau.

En plus d'inhiber la polymérisation de la tubuline, ces deux alcaloïdes provoquent un assemblage particulier de celle-ci en spirales, inutile à la physiologie de la cellule. Ce phénomène les conforte donc dans leur rôle d'agents antinéoplasiques.

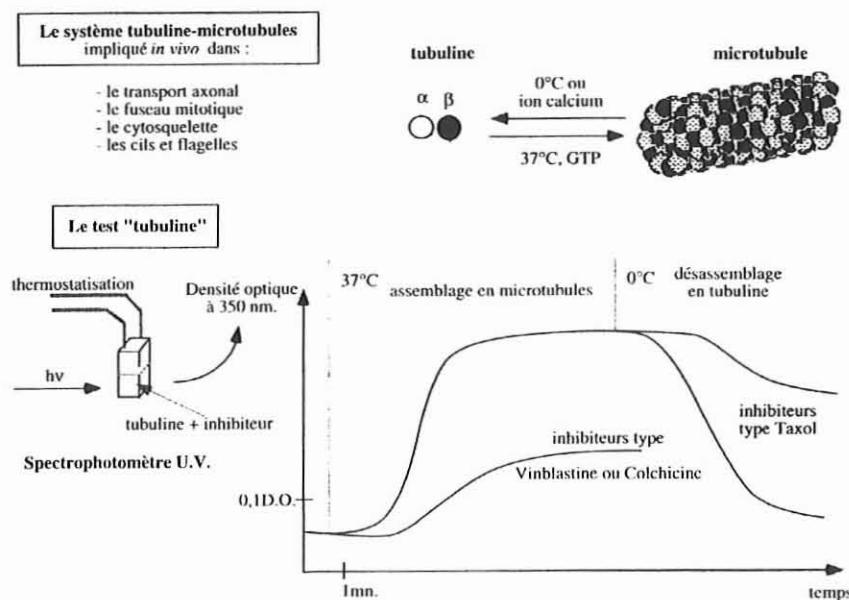


Fig.11 Le « test tubuline » [17]

4.3.4 Utilisation actuelle

Bien que leurs structures soient très proches, la vincristine et la vinblastine ont des activités pharmacologiques nettement différentes. La vinblastine d'abord aujourd'hui commercialisée sous le nom VELBE®, est particulièrement active dans le traitement de la maladie de Hodgkin, des lymphomes non hodgkiniens, des cancers du testicule à un stade avancé, de l'épithélioma du sein et de l'ovaire, du sarcome de Kaposi, des choriocarcinomes, des cancers du rein et de la vessie, et certains cas d'histiocytose, mais elle possède une forte toxicité neurologique et hématologique, avec l'apparition régulière de neutropénies. De son côté la vincristine (ONCOVIN®, VINCERISTINE®) présente une aptitude importante à induire des rémissions dans les cas de leucémies aiguës de l'enfant, la maladie de Hodgkin, les lymphomes non hodgkiniens, les cancers du sein et du col de l'utérus, les cancers du poumon à petites cellules, et divers sarcomes et blastomes. Or, elle entraîne des troubles neurologiques, en modifiant les transports axonaux des granules de sécrétion par son action sur la tubuline [5,6].

Face au potentiel important que représentent les alcaloïdes de la pervenche, de nombreux analogues structuraux ont été étudiés. Ces recherches ont abouti à deux autres molécules utilisées actuellement [5,6,16,17,18] :

- **La vindésine (ELDISINE®)** : préparé à partir de la vinblastine, cet alcaloïde est indiqué dans les leucémies aiguës lymphoblastiques, les lymphomes réfractaires à d'autres cytostatiques, et certaines tumeurs solides. Il possède des propriétés toxiques proches de ceux rencontrés pour la vincristine et la vinblastine en provoquant essentiellement des effets neurologiques et hématologiques.
- **La vinorelbine ou 5'-noranhydrovinblastine (NAVELBINE®)** : il s'agit d'un dérivé hémisynthétique caractérisé par le remplacement du motif tryptaminique indole-CH₂-CH₂-N- par un motif gramine (indole-CH₂-N-) avec élimination d'un carbone. Son intérêt réside dans le fait que la vinorelbine agit préférentiellement sur les microtubules mitotiques et peu sur les microtubules axonaux, ce qui permet de limiter la toxicité neurologique, mais la toxicité hématologique, elle, demeure. On l'utilise dans le traitement du cancer du sein et du cancer bronchique non-à-petites-cellules.

Commercialisés depuis maintenant plus d'une vingtaine d'année, les alcaloïdes de la pervenche ou vinca-alcaloïdes bénéficient aujourd'hui d'une utilisation largement répandue et maîtrisée. Parallèlement à une chimie purement synthétique, ils ont su montrer qu'il était encore possible au début des années quatre-vingts d'obtenir de grands médicaments au mécanisme d'action original à partir de simples plantes. Même si les propriétés de la vinblastine semblent désormais avoir été exploitées et ne font plus guère l'intérêt des chercheurs, les trois autres molécules dérivées de la pervenche en revanche continuent à subir un ensemble de recherches cliniques vis à vis de nombreux cancers et particulièrement le cancer du poumon : la vincristine est à l'étude contre les deux types de cancer du poumon [19,20], la vindésine plus spécifiquement contre le cancer du poumon non-à-petites-cellules [21], la vinorelbine enfin est à l'étude dans de nombreux protocoles également contre le cancer du poumon non-à-petites-cellules [22,23], mais aussi en traitement du cancer du sein [24,25] ou du carcinome utérin [26]. On cherche également aujourd'hui à améliorer l'activité de la vinorelbine en l'incorporant à un système de liposomes [27] ou à diminuer ses effets secondaires en associant son administration à celle de glutamate [28].

4.3.5 Chronologie

1957 : Mise en évidence de l'effet leucopéniant des alcaloïdes de *Catharanthus roseus*, la pervenche de Madagascar par Noble (Canada) et Svoboda (Etats-Unis).

1958-1965 : Isolement et détermination de la structure des alcaloïdes indoliques dimères de la pervenche.

1965 : Mise en évidence du mécanisme d'action de la vinblastine.

1976 : Synthèse de l'anhydrovinblastine à Gif-sur-Yvette (France).

1979 : Synthèse de la vinblastine, puis de la vinorelbine à Gif-sur-Yvette (France).

Mise sur le marché d'ELDISINE® par Lilly.

1983 : Mise sur le marché d'ONCOVIN® par Lilly.

1988 : Mise sur le marché de VELBE® par Pierre Fabre.

1989 : Mise sur le marché de NAVELBINE® par Pierre Fabre.

4.4 L'ellipticine (Plante *Ochrosia elliptica* APOCYNACEAE)

4.4.1 Historique

Avec la découverte des poisons du fuseau isolés de la pervenche de Madagascar, les Apocynaceae ont révélé l'existence d'un potentiel antinéoplasique pharmacologiquement exploitable. Dans cette optique et sur des bases chimiotaxonomiques, les chercheurs ont alors orienté leurs investigations vers une espèce végétale de cette même famille : *Ochrosia elliptica*.

Les *Ochrosia* sont des arbustes au bois jaune qui se rencontrent sur les rivages des îles du Pacifique [17]. Le mésocarpe du fruit contient des cavités qui se remplissent d'air à maturité et lui permettent de flotter une fois tombé à l'eau. Ceci explique une dispersion parfois sur de grandes distances. Ces plantes ont peu d'utilisations locales. En 1741, le botaniste allemand Rumphius rapporte que les indigènes de l'île d'Halmahera dans l'archipel des Moluques en Indonésie orientale, utilisent la plante *Lactaria salubris*, dans le traitement d'un cancer du nez ou "roston". Cette plante semble aujourd'hui correspondre, d'après les descriptions de Rumphius, à *Neisosperma oppositifolia*, un végétal proche des *Ochrosia* mais qui ne contient pas d'ellipticine. En Nouvelle-Calédonie, les Mélanésiens de la région de Poum dans le Nord de l'île utilisent d'ailleurs la même espèce contre la fièvre et l'appellent « faux quinquina ».

D'un point de vue taxonomique, en effet, l'étude des quarante espèces de la famille des Ochrosiinae, a permis de les séparer en deux genres très proches : *Ochrosia sensu stricto* et *Neisosperma*. Les fruits de ce dernier ne possèdent, quant à eux, pas de cavité, mais des fibres faisant office de flotteur. Après de nombreuses confusions chez les chimistes quant à la dénomination du matériel étudié, les analyses ont montré que seuls les vrais *Ochrosia* contenaient l'ellipticine.

En 1958, un Américain, S.Goodwin, travaille sur une plante récoltée en Floride à l'USDA Plant Introduction Station. Cette plante, originaire de Port of Spain, dans l'île de Trinidad aux petites Antilles, s'appelle *Ochrosia elliptica* Labill. et appartient à la famille des Apocynaceae. Il en isole un alcaloïde de couleur jaune dont il propose quelques éléments de structure. A la même époque, Buzas isole ce même alcaloïde d'un végétal de Nouvelle-Calédonie qu'il nomme *Ochrosia oppositifolia* (bien qu'il s'agisse de l'espèce *elliptica*). En 1959, Woodward synthétise l'ellipticine et prouve ainsi la structure de l'alcaloïde (fig.12). Depuis, l'ellipticine a été retrouvée dans plusieurs autres espèces du genre *Ochrosia*, ainsi que dans quelques autres Apocynaceae.

Indépendamment à cela, les pharmacologues du National Cancer Institute des Etats-Unis entament, une expédition anglo-australienne dans le cadre d'un criblage général de plantes récoltées en Papouasie Nouvelle-Guinée. Ils mettent alors en évidence l'activité antitumorale d'extraits de deux *Ochrosia* : *Ochrosia coccinea* et *Ochrosia moorei*, plantes également présentes en Australie. Si bien qu'en 1967, les chimistes australiens Connors et Dalton purifient les extraits actifs, et isolent l'ellipticine à leur tour. Ce composé et son dérivé la 9-méthoxy-ellipticine, dévoilent une activité vis à vis des xénogreffes de sarcome 180, de leucémie L 1210, et d'adénocarcinome 755 chez l'animal. Cependant cette activité demeure inconstante et s'accompagne d'effets secondaires fâcheux avec une atteinte des cellules de Purkinje du cervelet.

La France mène également ses recherches puisqu'en 1968 le cancérologue Georges Mathé de Villejuif étudie l'efficacité de ces alcaloïdes sur différentes tumeurs. Mais les sources d'ellipticine sont rares, on en isole alors du « bois jaune » de la réunion : *Ochrosia borbonica* mais la rareté de l'espèce limite les apports en matière première. Heureusement, la même année, une mission en Nouvelle-Calédonie permet de récolter les six espèces d'*Ochrosia* que compte l'île et de fournir la méthoxy-ellipticine qui servira aux essais de synthèse du CELIPTIUM®.

4.4.2 Structure moléculaire

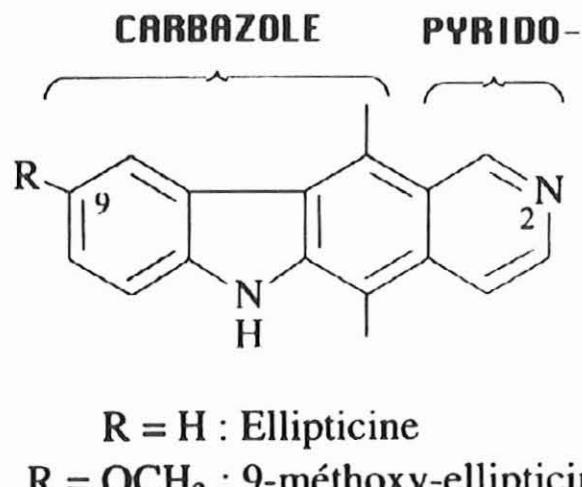


Fig.12 Structure de l'ellipticine [17]

4.4.3 Mécanisme d'action

L'ellipticine est une molécule au squelette pyrido-carbazole dont la structure est quasi plane. L'étude de son mécanisme d'action montre qu'elle se glisse entre les paires de bases de la chaîne d'ADN, la déforme et empêche sa réplication lors de la phase S. En fait, après s'être intercalée entre les bases, la molécule se fixe de façon covalente, sur les sucres des nucléotides de l'ADN et exerce ainsi son activité antitumorale. On a ensuite démontré que l'ellipticine et ses dérivés agissent également par fixation sur le complexe enzymatique que la topo-isomérase II forme avec l'ADN en le stabilisant. L'ADN après avoir été clivé ne peut alors plus être réparé. L'ellipticine est donc, tout comme l'actinomycine D, un agent intercalant inhibiteur des topo-isomérases II.

En fait, l'ellipticine est une pro-drogue: le dérivé 9-méthoxy, comme l'ellipticine elle-même, est métabolisé dans le foie en dérivé 9-hydroxy, et c'est la 9-hydroxy-ellipticine qui possède une activité constante. On a alors cherché à créer la molécule la plus efficace et possédant le moins d'effets secondaires possibles. Pour cela on a remplacé l'imine en position 2 en iminium, de sorte qu'en entraînant une charge positive sur cette partie de la molécule, elle facilite son positionnement dans les paires de base d'ADN. L'étude des relations structure chimique-activité biologique a donc permis de définir le dérivé possédant la meilleure action : l'acétate de 2-méthyl-9-hydroxy-ellipticinium ou CELIPTIUM®, plus efficace et plus soluble dans l'eau. Ce composé a été synthétisé à l'Institut de Chimie des Substances Naturelles du CNRS à Gif-sur-Yvette.

Le CELIPTIUM® a une action préférentielle sur les cancers du sein estrogèno-dépendants. Ceci s'expliquerait de la manière suivante : l'estriadiol ou folliculine, hormone des follicules ovariens qui provoque l'ovulation, agit par fixation sur un récepteur nucléaire qui se fixe sur l'ADN, démasquant une région particulière qui sera traduite en ARNm. Ce mécanisme concerne les cellules reproductrices de la femme dont les ARN serviront de matrice pour la synthèse de protéines comme la thymidine-kinase. Cette enzyme phosphoryle ensuite la thymidine, utilisée par les ADN-polymérases pour la construction d'un nouvel ADN lors de la division cellulaire. L'ellipticine et ses dérivés pourraient prendre la place de l'estriadiol sur son récepteur nucléaire, et par là inhiber l'action de la thymidine-kinase et donc la synthèse d'ADN. Ainsi, vingt-cinq années se sont écoulées entre la découverte de l'ellipticine (1958), la mise en évidence de son activité (1968) et sa commercialisation en 1983.

4.4.4 Utilisation actuelle

Lancé par le groupe Institut Pasteur-Sanofi, le CELIPTIUM® est aujourd'hui fabriqué entièrement par synthèse chimique mais reste structurellement très proche de l'ellipticine naturelle. Ses effets secondaires sont essentiellement d'ordre digestif avec des nausées, des vomissements, ou une hyposialie, tandis que de graves réactions d'intolérance aiguë peuvent parfois survenir au niveau cardio-vasculaire (hypertension, hypotension, tachycardie...) voire au niveau rénal. Bien qu'elle soit très peu utilisée en première intention aujourd'hui car surpassée par des molécules plus efficaces, l'ellipticine reste néanmoins indiquée dans le cancer du sein métastatique et les hépatocarcinomes [5,6]. Elle semble tout de même écartée de la recherche actuelle bien que certaines équipes tentent de l'utiliser pour combattre l'angiogénèse tumorale [29]. Depuis 1983, d'autres dérivés ont été synthétisés et soumis à l'analyse biologique : les olivacines (dont la molécule S 16020-2 actuellement à l'essai préclinique), les aza-ellipticines, et d'autres pyridocarbazoles comme le ditercalinium.

4.4.5 Chronologie

- 1958 : Isolement de l'ellipticine d'*Ochrosia elliptica* récolté à Trinidad aux Antilles par Goodwin (Etats-Unis).
- 1959 : Synthèse de l'ellipticine par Woodward et confirmation de la structure chimique de l'ellipticine (Etats-Unis).
- 1967 : Mise en évidence par le National Cancer Institute (Etats-Unis) de l'activité antitumorale d'extraits d'*Ochrosia* récoltés en Papouasie-Nouvelle-Guinée et en Australie. Identification de l'ellipticine et de la 9-méthoxy ellipticine (Australie).
- 1968 : Etude de l'activité antitumorale par Mathé à Villejuif (France).
- 1968 : Récolte de six nouvelles espèces d'*Ochrosia* en Nouvelle-Calédonie.
- 1973 : Etude de la biogénèse de l'ellipticine.
- 1976-1985 : Etude du mécanisme d'action antitumorale à Gif-sur-Yvette et Toulouse (France).
- 1978 : Synthèse de l'acétate d'elliptinium.
- 1983 : Mise sur le marché de CELIPTIUM® par Institut Pasteur-Sanofi.

4.5 La bléomycine (Bactérie *Streptomyces verticillus*)

4.5.1 Historique

Avec la commercialisation de l'actinomycine C, la recherche antibiotique a démontré qu'il était possible d'obtenir des agents antinéoplasiques potentiellement intéressants à partir d'espèces de bactéries comme celles appartenant au genre *Streptomyces*. Au Japon, où les investigations pour la découverte de nouvelles substances médicamenteuses furent très actives dès les années cinquante, des molécules nouvelles purent également être mises en évidence. A la fin des années soixante en effet, les chercheurs nippons isolèrent de *Streptomyces verticillus*, un nouveau groupe de produits au caractère anticancéreux : les bléomycines. Ces glycopeptides dévoilèrent au fur et à mesure des analyses, un pouvoir antitumoral très intéressant et surtout des propriétés thérapeutiques originales, puisque dépendant d'un mécanisme d'action encore jamais rencontré parmi les molécules chimiothérapeutiques. Plus de 200 bléomycines différentes furent ainsi analysées et deux molécules furent finalement retenues pour leur activité : la bléomycine AV2V et la bléomycine BV2V. Plus communément appelées bléomycine A₂ et bléomycine B₂ (fig.13). On retrouve aujourd'hui ces molécules en majorité parmi les différentes bléomycines présentes dans la formule commerciale.

4.5.2 Structure moléculaire



Fig.13 Formule brute des bléomycines A₂ et B₂ [30]

La bléomycine au sens large du terme est en fait un glycopeptide complexe à l'extrémité amino-terminale comportant un tripeptide soufré capable de se lier à l'ADN. Son autre extrémité peut quant à elle fixer un métal lourd de type fer ou cuivre.

4.5.3 Mécanisme d'action

Même s'il n'est pas encore précisément élucidé, le mécanisme d'action de la bléomycine est tout à fait original en comparaison aux autres molécules antinéoplasiques obtenues à partir de diverses espèces de *Streptomyces* (fig.14). Par son extrémité S-tripeptide en effet, la substance se fixe entre la paire de base guanine-cytosine de l'ADN. Pour devenir active la bléomycine va alors fixer un atome de fer oxydé spontanément en ion ferrique, ainsi que deux atomes d'oxygène subissant quant à eux une réduction de manière à former un complexe actif oxydant. Ce complexe transitoire va alors par une série de réactions d'oxydo-réduction (fig.15), attaquer les liaisons phosphodiester chères au maintien de la structure de l'acide nucléique qui se voit alors littéralement scindé. Ainsi la bléomycine attaque l'ADN quel que soit le cycle cellulaire, même si elle semble être néanmoins plus active en phase G2.

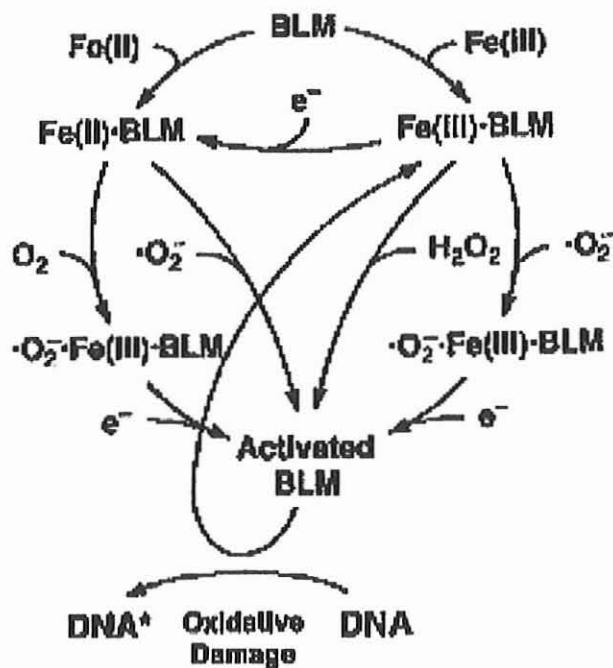


Fig.14 Mécanisme d'activation de la bléomycine [30]

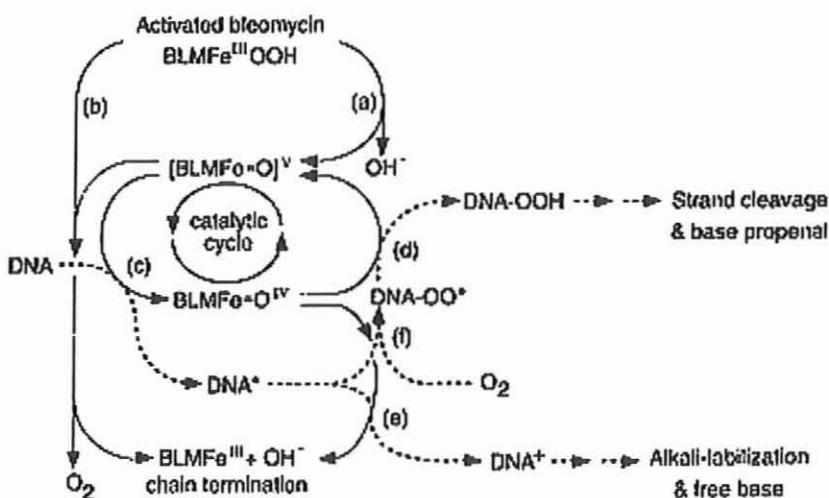


Fig.15 Mécanisme d'interaction de la bléomycine avec l'ADN [30]

4.5.4 Utilisation actuelle

Aujourd'hui encore, parmi toutes les spécialités utilisées en chimiothérapie, qu'elles soient d'origine naturelle ou non, la bléomycine est la seule molécule capable, par un mécanisme d'action qui lui est propre, de provoquer la rupture directe des liaisons covalentes de l'ADN. Elle représente ainsi à elle seule une famille d'anticancéreux : celle des agents scindants. Contrairement aux autres cytotoxiques, la bléomycine possède de plus l'avantage de ne pas être毒ique pour les cellules de la moelle osseuse et du sang. Elle présente en revanche l'inconvénient d'induire la formation de radicaux libres au pouvoir agressif vis à vis des muqueuses et de la peau. Sa toxicité est alors essentiellement pulmonaire avec développement d'une fibrose irréversible. De par ses propriétés, on l'utilise donc en intraveineuse ou en sous-cutané selon des protocoles de chimiothérapie destinés à soigner des cancers des revêtements : carcinomes épidermoïdes diverses, carcinomes testiculaires, ainsi que dans le traitement des lymphomes hodgkiniens et non hodgkiniens [5,6]. Actuellement, la bléomycine est à l'étude pour de nouveaux protocoles de traitement du lymphome hodgkiniens, souvent en association à des cures de radiothérapie [31], mais également pour une utilisation plus variée à l'encontre du sarcome de Kaposi [32], ou du cancer utérin [33].

4.5.5 Chronologie

1970 : Mise sur le marché de BLEOMYCINE[®] par Bellon.

4.6 La spongothymidine (Eponge *Thetya crypta*)

4.6.1 Historique

Après l'exploration du monde végétal et des micro-organismes, on décida alors de se tourner vers le règne animal avec en particulier la recherche de substances nouvelles issues d'invertébrés marins (éponges, ascidies, coraux mous, mollusques...). Ainsi lorsque les premières grandes campagnes de criblage naturel en matière de recherche anticancéreuses s'organisèrent dans les années soixante, les chercheurs s'orientèrent tout naturellement vers les organismes des océans qui présentèrent rapidement un potentiel antinéoplasique exceptionnel. Malheureusement beaucoup de molécules alors découvertes ne purent à l'époque être convenablement étudiées. En effet le faible rendement de production de ces produits constitua un obstacle économique et écologique certain. Par bonheur quelques substances purent néanmoins subir une série de tests suffisants et parmi celles-ci une molécule d'origine marine aboutit à la commercialisation d'une spécialité pharmaceutique en 1972 : la cytarabine sous le nom d'ARACYTINE®, dérivé hémi-synthétique de la spongothymidine, molécule naturelle isolée d'une éponge de la Mer des Caraïbes : *Thetya crypta*.

La spongothymidine est un arabinosylnucléoside, il s'agit donc d'un nucléoside contenant de l'arabinose au lieu du désoxyribose trouvé dans l'ADN (fig.16). Ces caractéristiques purent facilement être exploitées de manière à constituer unurre thérapeutique : on modifia alors la spongothymidine en remplaçant la thymidine par une cytidine dans le but d'obtenir de l'arabinosylcytidine ou cytarabine, nucléoside pyrimidique de synthèse proche de la cytidine mais au sucre modifié. Commercialisée aujourd'hui en France sous les noms d'ARACYTINE® et de CYTARBEL®, cette molécule est la seule substance anticancéreuse d'origine marine disponible actuellement sur le marché.

4.6.2 Structure moléculaire

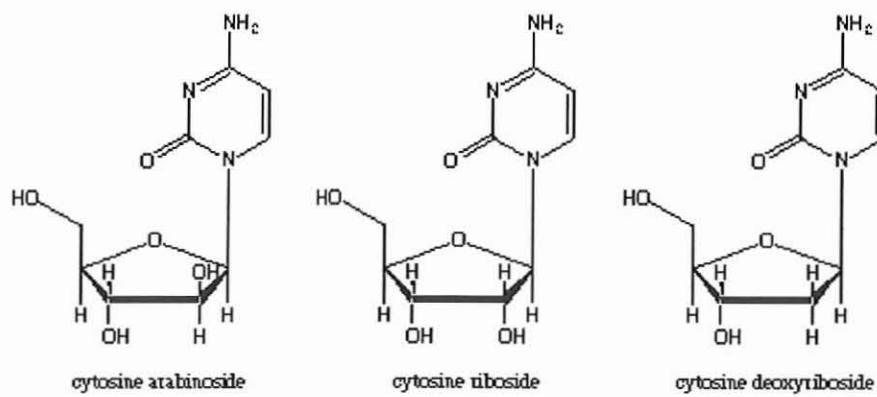


Fig.16 Structure de l'aracytine (Cytosine arabinoside) en comparaison à celle d'autres nucléotides [34]

4.6.3 Mécanisme d'action

La cytarabine est aujourd'hui le seul antinéoplasique d'origine naturel de type antimétabolite commercialisé. Il possède à ce titre un mécanisme d'action original en comparaison aux autres agents chimiothérapeutiques issus d'organismes vivants. Son mode d'action consiste en effet à s'opposer à la réPLICATION de l'ADN en phase S, et à provoquer ainsi de fortes perturbations du mécanisme de mitose cellulaire. Pour agir la cytarabine est d'abord métabolisée en ARA-CMP par une déoxycytidine-kinase. Ce nucléoside 5'-monophosphaté subit ensuite deux autres phosphorylations pour devenir ARA-CTP. Une fois transformée, la molécule est alors incorporée dans l'ADN sous forme de base azotée pyrimidique anormale. Lors de la réPLICATION de l'acide nucléique donc, l'activité de l'ADN-polymérase se voit contrariée puisque ne pouvant pas œuvrer correctement à partir d'une chaîne d'ADN défectueuse. L'ADN-polymérase ainsi inhibée ne peut amorcer d'autre réPLICATIONS et la cellule dont le mécanisme de division est enrayé meurt.

4.6.4 Utilisation actuelle

La cytarabine même si elle ne figure pas parmi les médicaments les plus utilisés en chimiothérapie aujourd'hui, reste néanmoins une molécule de choix dans le traitement chimiothérapeutique des leucémies aiguës myéloblastiques ou lymphoblastiques, ainsi que de certains lymphomes non hodgkiniens. En ce qui concerne les protocoles destinés à traiter les leucémies myéloblastiques, la cytarabine est toujours associée avec une anthracycline au moins. Pour les leucémies lymphoblastiques, on utilise principalement l'association cytarabine-vincristine-prednisolone. Son inconvénient réside essentiellement dans sa toxicité qui regroupe de nombreux symptômes comme des effets hématologiques et digestifs, des risques d'immuno-allergie, d'alopécie voire des atteintes cérébelleuses et des ulcérations digestives [5,6]. La cytarabine fait aujourd'hui l'objet de recherches dans des protocoles visant à soigner les leucémies aiguës myéloblastiques [35] et lymphoblastiques [36], la leucémie myéloïde chronique [37], mais également le carcinome pancréatique [38].

4.6.5 Chronologie

1972 : Mise sur le marché de ARACYTINE® par Pharmacia-upjohn.

1989 : Mise sur le marché de CYTARBEL® par Bellon.

4.7 La podophyllotoxine (Plante *Podophyllum peltatum* BERBERIDACEAE)

4.7.1 Historique

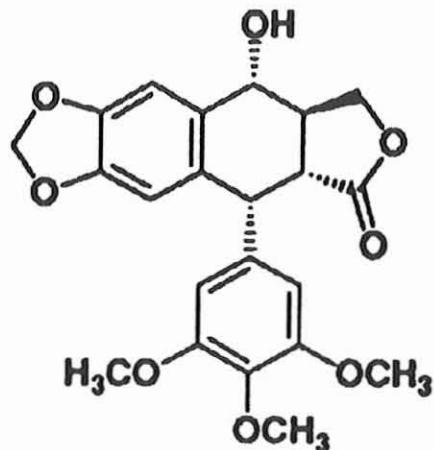
La podophylline est une résine obtenue après lixiviation dans l'alcool à 90° et précipitation par eau acidulée, à partie des racines et rhizomes de *Podophyllum peltatum* ou de l'autre espèce *Podophyllum emodi* Wall. (ou *Podophyllum hexandrum* Royle) (BERBERIDACEAE) [39]. Ce végétal déjà utilisé par les indiens d'Amérique comme purgatif et antihelminthique fut repris par la suite dans plusieurs pharmacopées eutropéennes [8]. *Podophyllum peltatum* est une petite plante vivace par un rhizome que l'on trouve dans les forêts humides et ombragées de l'Est des Etats-Unis et du Canada (fig.17). Sa tige aérienne d'une trentaine de centimètres est terminée par deux feuilles opposées et palmatilobées entourant une fleur blanche et solitaire [16]. La résine qu'on en extrait constitue un mélange de très nombreuses substances d'efficacité, de toxicité et de concentrations variables ou mal connues : une dizaine de lignanes ou apparentés, cinq pigments, et six autres groupes de substances. A l'origine utilisée comme laxatif son emploi fut ensuite dévié vers la prévention oncologique : en effet parmi les nombreux constituants de la podophylline, la podophyllotoxine se révèle vite comme possédant des propriétés antimitotiques intéressantes, mais son étonnante toxicité réserve la podophyllotoxine à un traitement local de tumeurs cutanées et plus particulièrement des condylomes.

Les condylomes sont des tumeurs épithéliales bénignes et virales provoquées par des human papillomavirus HPV de différents types [40]. De localisation génitale, ces lésions d'aspect morphologique caractéristique entrent dans le cadre des maladies sexuellement transmissibles puisque la contamination a lieu habituellement dans le cadre de rapports sexuels, et le tropisme cutanéo-muqueux des HPV explique combien la sphère ano-génitale est touchée par ces virus. Or il se peut que le condylome, selon le pouvoir pathogénique et oncogénique du type d'HPV qui le provoque, dévie vers une transformation néoplasique intraépithéliale et évolue ainsi vers la malignité. Aussi est-il indispensable de traiter convenablement ces lésions et éviter ainsi toute transformation inquiétante.



Fig.17 *Podophyllum peltatum* BERBERIDACEAE [16]

4.7.2 Structure moléculaire



podophyllotoxine

Fig.18 Structure de la podophyllotoxine [16]

Parmi les principaux constituants obtenus à partir de la podophylline, on distingue les α et β -peltatines, la désoxypodophyllotoxine et ses dérivés, et les 1-aryltétrahydronaphtalènes dont la podophyllotoxine fait partie (fig.18). Tous ces produits ont une structure composée d'un cycle lactonique fusionné en trans par rapport au cycle adjacent. Cette structure est assez instable puisqu'on observe une épimérisation spontanée du carbone C₂ en milieu légèrement alcalin.

4.7.3 Mécanisme d'action

La podophyllotoxine, en présence de colchicine, inhibe de manière compétitive la fixation de cette dernière. On en déduit que le mécanisme d'action est de même nature : la podophyllotoxine est donc un poison du fuseau qui inhibe la polymérisation de la tubuline et bloque la division cellulaire en début de métaphase.

4.7.4 Utilisation actuelle

L'utilisation de la podophyllotoxine en cancérologie a conduit à l'élaboration d'une seule spécialité : CONDYLINE®. Cette spécialité, malgré son pouvoir antimitotique puissant ne s'utilise pas en chimiothérapie, mais en application locale sur la région à traiter sous forme de solution alcoolique à 0,5 %. On l'emploie aujourd'hui contre les condylomes acuminés externes de surface inférieure à 4 cm² et en alternative à d'autres thérapeutiques (cryothérapie, chirurgie) [41].

4.7.5 Chronologie

1988 : Mise sur le marché de CONDYLINE® par Yamanouchi-Pharma.

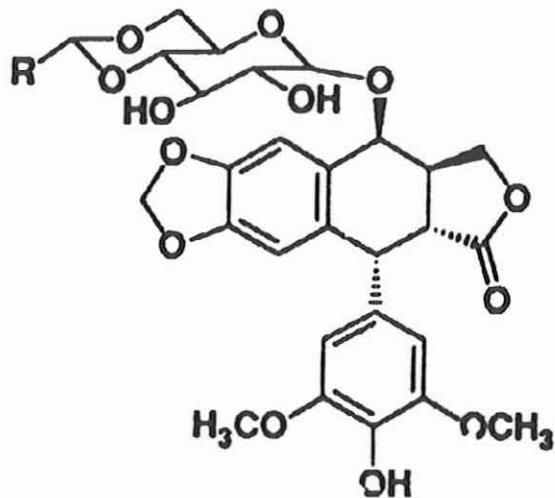
4.8 L'épipodophyllotoxine (étoposide) (Plante *Podophyllum peltatum* BERBERIDACEAE)

4.8.1 Historique

Les travaux de synthèse et l'étude des relations structure-activité de la podophyllotoxine ont permis de mettre au point des dérivés semi-synthétiques. Il s'agit de dérivés épi dont la configuration du C₄ est inversée. Ces produits sont alors démethylés en 4' et leur hydroxyle en C₄ fait l'objet d'une liaison hétérosidique avec un glucose dont deux des groupes hydroxyle (en C_{4'} et en C_{6'}) sont bloqués par acétylation en thiényldiène (téniposide) ou en éthylidène (étoposide) (fig.19) [16].

Découvertes ainsi en 1965, les épipodophyllotoxines, dont les chefs de file sont l'étoposide et le téniposide, allaient ainsi par leur mécanisme d'action original, leur large spectre d'activité et leur profil de tolérance favorable, occuper une place importante dans le traitement des tumeurs solides et les hémopathies. C'est en 1975 que la première spécialité : VEPESIDE® (étoposide) obtint son AMM, mais il faudra encore attendre 1988 avant qu'elle soit effectivement commercialisée. Puis le laboratoire Bristol-Myers chercha à augmenter la solubilité de ces molécules dans l'eau de manière à rendre leur conditionnement et leur utilisation plus simple. Ainsi en mai 1996, une pro-droge de l'étoposide allait voir le jour : ETOPOPHOS® (phosphate d'étoposide), possédant des avantages d'ordre pratique, et une meilleure tolérance de par l'absence de certains excipients. Aujourd'hui cette hydrosolubilité lui confère en effet la possibilité d'une préparation à forte concentration, particulièrement intéressante dans le cadre des traitements à haute dose et d'une administration intraveineuse rapide. Le téniposide (VEHEM SANDOZ®) quant à lui n'est plus commercialisé en France depuis juin 1998.

4.8.2 Structure moléculaire



R = CH₃, étoposide
R = thiényl, téniposide

Fig.19 Structures de l'étoposide et du téniposide [16]

La dénomination chimique complète de l'étoposide est la suivante : 4'-déméthyl-épipodophyllotoxine 9-[4,6,0-(R)-étilidène-*b*-D-glycopyranoside], sa masse moléculaire est de 588,5. Le phosphate d'étoposide quant à lui est un ester d'étoposide soluble dans l'eau formé par l'addition d'un groupe phosphate (PO₄) lui conférant un caractère hydrosoluble [42].

4.8.3 Mécanisme d'action

Depuis 1946 on sait que la podophyllotoxine empêche la formation du fuseau, tout comme le fait la colchicine ou les alcaloïdes de la pervenche. Ainsi en tant que membre du groupe des épipodophyllotoxines, l'étoposide a été initialement considéré comme un inhibiteur de la polymérisation de la tubuline. On a montré cependant plus tard que pour l'étoposide, le mécanisme cytotoxique passant par le fuseau mitotique était en réalité un mécanisme secondaire voire négligeable. Le mécanisme d'action principal de cette molécule repose en fait sur l'inhibition de la topo-isomérase II, enzyme-clef des phénomènes de transcription et de réplication de l'ADN. L'étoposide même s'il n'est pas un agent intercalant comme la dactinomycine ou l'ellipticine, empêche cette deuxième partie de la réaction en stabilisant les complexes clivables formés par la topo-isomérase II avec les brins d'acide nucléique. La stabilisation des complexes est en théorie réversible et persiste aussi longtemps que les concentrations d'étoposide dans la cellule sont suffisantes. L'importance des lésions induites est proportionnelle à la quantité de topo-isomérases présente dans le noyau, à la concentration d'étoposide et à la durée d'exposition de la drogue. La séquence complète des événements qui conduisent ultérieurement à la mort cellulaire fait intervenir les phénomènes moléculaires de l'apoptose, ou mort programmée de la cellule. Ainsi, par son action sur la topo-isomérase II, l'étoposide entraîne un blocage cellulaire à un niveau plus précoce que les poisons du fuseau. Il prolonge la durée de la phase S tardive et de la première partie de la phase G2 du cycle cellulaire. L'effet du médicament, phase-dépendant et concentration-dépendant, est d'autant plus important que la teneur de la cellule en topo-isomérase II est élevée et que la durée d'exposition de l'enzyme au médicament est longue. A concentrations élevées, l'étoposide agit aussi en inhibant l'incorporation des nucléotides à l'intérieur de la cellule, par inhibition de leur transport membranaire.

Le phosphate d'étoposide constitue une pro-droge de l'étoposide. Après administration intraveineuse, le groupe phosphate de la molécule est éliminé sous l'action des phosphatases alcalines circulantes. Ces enzymes assurent la transformation rapide et totale du phosphate d'étoposide en étoposide [42].

4.8.4 Utilisation actuelle

Aujourd’hui l’étoposide et son dérivé sont largement utilisés en chimiothérapie anticancéreuse ainsi qu’en association avec la radiothérapie sous la forme de deux spécialités injectables essentielles, respectivement VEPESIDE® et ETOPOPHOS®. VEPESIDE® existe également sous la forme de capsules à base d’excipient hydrophile à administrer par voie orale, permettant un plus grand confort de prise, et une efficacité similaire [43]. Les effets indésirables de l’étoposide se manifestent principalement par une toxicité hématologique avec leucopénies voire plus rarement neutropénies et thrombopénies, des réactions anaphylactiques, des nausées et vomissements, des bronchospasmes, ainsi qu’une hypotension artérielle. On l’utilise communément depuis une dizaine d’année contre le carcinome embryonnaire du testicule, les cancers bronchiques à-petites-cellules, les choriocarcinomes placentaires, le cancer du sein antérieurement traité, le lymphome malin hodgkinien et non hodgkinien, et les leucémies aiguës [5,6]. L’étoposide fait actuellement l’objet de nombreuses recherches. Pour améliorer son efficacité et limiter ses effets indésirables on a, depuis peu, cherché à créer un certain nombre de dérivés dont les récents GL331 [44,45] et NK611 [46,47] respectivement en essais cliniques de phase I et II. L’étoposide est quant à lui régulièrement testé dans le traitement du cancer bronchique à-petites-cellules [48] ainsi qu’à l’encontre de nombreuses autres tumeurs (glioblastomes [49], cancers gynécologiques [50]...).

4.8.5 Chronologie

- 1975** : Mise sur le marché de VEPESIDE® par Novartis.
- 1976** : Mise sur le marché de VEHEM-SANDOZ® par Novartis.
- 1992** : Mise sur le marché de CELLTOP® par Asta-Medica.
- 1996** : Mise sur le marché de ETOPOPHOS® par Bristol-Myers.
- 1998** : Arrêt de commercialisation de VEHEM-SANDOZ®.

4.9 Les anthracyclines (Bactérie *Streptomyces peucetius*)

4.9.1 Historique

Forts des différents succès rencontrés en matière de molécules chimiothérapeutiques issues d’organismes végétaux, les chercheurs décidèrent de s’intéresser à nouveau au monde des micro-organismes et de tenter de découvrir des substances originales issues du métabolisme particulier des éléments unicellulaires, comme l’avaient fait auparavant les chercheurs à l’origine de l’actinomycine D ou de la bléomycine. Ces recherches purent facilement se mettre en place puisque ne nécessitant qu’un espace géographique réduit, l’utilisation de simples milieux de cultures pour le développement des différentes espèces d’organismes biologiques et la possibilité d’étudier des mécanismes cellulaires complexes avec l’essor de la biologie moléculaire et des développements génétiques.

On s'intéressa alors à différentes espèces bactériennes connues depuis longtemps pour leur capacité à synthétiser des molécules antibiotiques à l'encontre d'autres organismes unicellulaires, et particulièrement au genre *Streptomyces* qui dans les années cinquante avaient déjà été à l'origine de la première molécule antitumorale : l'actinomycine D. On pensa alors qu'entre la toxicité des antibiotiques et l'existence d'éventuels cytostatiques il n'y avait qu'un pas. Ce pas fut franchi lorsqu'on isola de *Streptomyces peucetius* var. *caesius* une molécule à la structure proche des tetracyclines mais ne possédant qu'une très faible activité antibiotique : la doxorubicine ou adriamycine, appartenant à la famille des anthracyclines. Cette molécule fut obtenue par traitement mutagène de *Streptomyces peucetius* permettant l'expression d'une hydroxylase latente transformant la daunorubicine en doxorubicine par 14-hydroxylation. On mit rapidement en évidence les propriétés antimitotiques de cette substance et surtout son étonnante polyvalence vis à vis des différents types de tumeurs. Cette découverte allait bien vite être exploitée et ouvrait aux chercheurs une nouvelle voie d'investigation puisqu'il ne s'agissait plus d'étudier des produits difficiles à obtenir et nécessitant le plus souvent une quantité énorme de matière première mais des métabolites directement disponibles au pouvoir thérapeutique plus commode à analyser. La doxorubicine fut commercialisée en France sous les noms de DOXORUBICINE® et d'ADRIBLASTINE®.

Continuant leur recherche les scientifiques isolèrent également la daunorubicine de *Streptomyces peucetius* puis de *Streptomyces coeruleorubicus* et se rendirent compte que cette molécule à l'origine de la doxorubicine développait elle aussi un potentiel cytostatique mais moins marqué. Elle fut également commercialisée sous le nom de CERUBIDINE®. Cette nouvelle famille de cytostatique présenta un très large spectre d'action et on commença alors à utiliser la doxorubicine dans de nombreux protocoles chimiothérapeutiques. Malheureusement ces molécules présentèrent comme principal inconvénient une cardiotoxicité marquée intervenant en plus des habituels dépression médullaire et alopecie propres à de nombreux agents anticancéreux. Cette toxicité cardiaque aiguë est en effet provoquée par l'inhibition de la Na^+/K^+ /ATPase cardiaque. La chimie héli-synthétique permit ensuite au groupe des anthracyclines de se développer avec l'épirubicine (FARMORUBICINE®), un 4'-épimère de la doxorubicine aux effets secondaires plus légers, et plus récemment l'idarubicine (IDARUBICINE®) et la molécule synthétique mitoxantrone (NOVANTRONE®) à la structure voisine de celle des anthracyclines, mais dont les effets indésirables restent plus faibles encore [18].

THE ACETATE PATHWAY

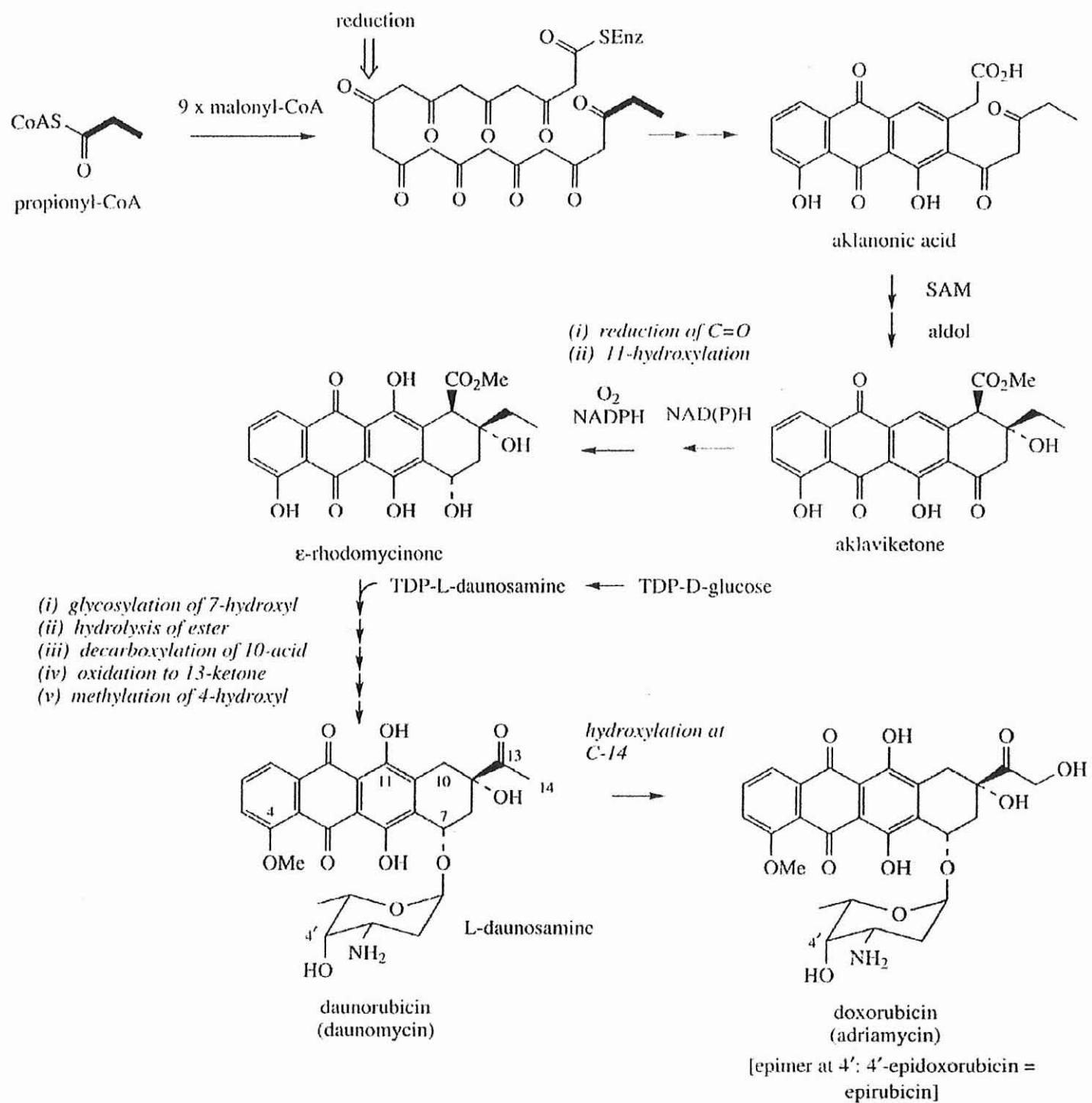


Fig.20 Anabolisme des anthracyclines par Streptomyces peucetius
A partir des molécules d'acétates [18]

4.9.2 Structure moléculaire

Les anthracyclines possèdent une structure polycyclique dérivant d'une longue chaîne de réactions métaboliques complexes. A l'origine de celle-ci de simple composés en C₂ : les acétates interviennent au nombre de 10 pour obtenir la première ébauche moléculaire polycyclique. Une succession de réactions chimiques simples et l'acquisition d'un sucre aminé permettent ensuite l'obtention de la daunorubicine, puis de la doxorubicine (fig.20). La structure polycyclique, qui est plane, est un chromophore intercalant [18].

4.9.3 Mécanisme d'action

Pour bloquer la mitose des cellules tumorales, les anthracyclines se comportent, tout comme l'actinomycine D ou l'ellipticine, en agents intercalants : leur structure plane vient se placer entre les paires de bases de l'hélice d'ADN et empêche ainsi une séparation correcte des deux brins lors du mécanisme de transcription en ARN voire même lors de la réplication. L'unité d'ose joue alors un grand rôle dans la stabilisation de la substance et dans l'affinité structurelle pour la séquencible d'ADN. La doxorubicine exerce également son effet cytotoxique par inhibition de la topoisomérase II et du complexe qu'elle forme avec l'ADN, responsable du clivage et de la reconstitution de l'ADN bicaténaire lors de la réplication. Les anthracyclines sont ainsi essentiellement actives lors de la phase G1 et, à un moindre niveau, de la phase S du cycle cellulaire [51].

4.9.4 Utilisation actuelle

De par son très large spectre d'action à l'encontre des tissus tumoraux et malgré sa toxicité cardiaque aiguë, la doxorubicine (ou adriamycine) est aujourd'hui l'une des molécules les plus fréquemment utilisées en chimiothérapie. On la retrouve dans une très large majorité de protocoles et dans de nombreuses indications : tumeurs du sein, du côlon, de l'ovaire, de l'estomac, sarcomes des os et des tissus mous, tumeurs solides de l'enfant, maladie de Hodgkin, lymphomes non hodgkinien, leucémies aiguës et chroniques, myélome multiple... Les autres anthracyclines plus récentes ont des indications plus réduites puisque utilisées essentiellement dans divers types de leucémies et lymphomes [5,6]. C'est ainsi que la doxorubicine également très largement employée continue aujourd'hui à faire l'objet des aléas de la recherche. On cherche depuis peu à l'utiliser encapsulée dans des liposomes de manière à améliorer son efficacité [52]. Cette nouvelle formulation est déjà à l'étude contre de nombreux cancers [53]. Parallèlement à cela de nombreux protocoles comportant la doxorubicine [25] ou l'épirubicine [54] sont actuellement à l'étude pour combattre le cancer du sein, tandis que la daunorubicine est le plus souvent sollicitée contre les différentes leucémies [55].

4.9.5 Chronologie

1990 : Mise sur le marché de DOXORUBICINE® par Dakota Pharm.
1991 : Mise sur le marché d'ADRIBLASTINE® par Pharmacia & Upjohn SA.
1992 : Mise sur le marché de ZAVEDOS® par Pharmacia & Upjohn SA.
1997 : Mise sur le marché de CERUBIDINE® par Rhône-Poulenc Rorer.

4.10 Les taxoïdes (Plante *Taxus baccata* ou *brevifolia* TAXACEAE)

4.10.1 Historique

Contrairement à l'ellipticine et aux alcaloïdes de la pervenche dont la découverte résulte de l'observation d'une utilisation empirique, les recherches sur les propriétés antitumorales des ifs, arbres aux baies rouges ont commencé en 1960 à la suite de résultats obtenus par le National Cancer Institute (NCI) américain dans le cadre d'une campagne visant à découvrir de nouvelles plantes à activité anticancéreuse. Les ifs sont de grands arbres dioïques à croissance lente et à longévité exceptionnelle. Leurs feuilles sont en aiguilles aplatis à disposition plane. Les propriétés de cet arbre et notamment sa toxicité sont connues depuis longtemps : les Grecs redoutaient sa nocivité et certaines tribus celtes utilisaient l'if comme poison de flèche. A la bataille de Crécy, en 1346, les archers anglais utilisèrent, en raison de leurs propriétés d'imputrescibilité et de dureté des arcs de bois d'if qui mirent en déroute la cavalerie française. Puis, de nombreuses recherches furent menées dès le milieu du XIX^e siècle, pour étudier les produits responsables de la toxicité de cet arbre.

Dans les années soixante, les Américains entreprirent des campagnes importantes dont le but fut de découvrir de nouvelles substances anticancéreuses d'origine naturelle. Par criblage d'extraits de plante, et par leurs expérimentations sur des tumeurs animales, ils décelèrent fortuitement dans les années soixante-dix, la puissante activité d'un extrait d'écorce de l'if américain (*Taxus brevifolia* Nutt. TAXACEAE). Cet if pousse sur la côte Ouest des Etats-Unis, en bordure de l'Océan Pacifique par petites populations. L'arbre n'est d'ailleurs exploitable qu'à maturité (âgé de cent ans). Les chimistes Wani, Wall et Taylor du Research Triangle Institute, en Caroline du Nord, isolèrent le composé responsable de cette activité : le taxol, dont la DCI est aujourd'hui devenue paclitaxel. Sa structure, par réfraction aux rayons X, fut établie et publiée en 1971. En 1979, une biologiste américaine, Susan Horwitz, de l'Albert Einstein College of Medicine de New York, publia dans la prestigieuse revue *Nature*, le mode d'action original du taxol : cette substance est capable de se fixer aux microtubules du fuseau mitotique et d'empêcher leur désassemblage.

Malheureusement, comme c'est souvent le cas dans la recherche de substances naturelles, l'extraction d'une quantité suffisante de taxol fut laborieuse, l'écorce de l'if n'en ayant qu'une faible teneur (1g/10 kg d'écorce sèche). De plus, le taxol est peu soluble dans l'eau ce qui ne simplifie pas son administration. Les Américains poursuivirent néanmoins les études sur cette plante. Le taxol se révéla alors très actif dans le traitement de certains cancers de l'ovaire résistant au cis-platine, les cancers du sein métastatiques, et les cancer du poumon non-à-petites-cellules. Les études cliniques nécessitèrent 2 kg de taxol, soit l'abattage de 12 000 arbres dans les forêts du Nord-Ouest des Etats-Unis, ce qui ne contenta guère certaines associations écologiques puisque de nombreux écosystèmes furent altérés.

En France, P. Potier, D. Guénard, et F. Guéritte-Voegelein de l'Institut de Chimie des Substances Naturelles (ICSN) du CNRS à Gif-sur-Yvette s'intéressèrent en 1980 à l'if européen ou if à baies (*Taxus baccata* L. TAXACEAE) (fig.21). Le taxol fut également mis en évidence dans son écorce, puis extrait à son tour. Par le « test tubuline », on mit en évidence dans les feuilles de l'arbre une molécule proche du taxol : la 10-désacétylbaccatine III, qui présente la même structure macrocyclique que le taxol, mais dont la chaîne latérale est absente. En dépit d'une très faible activité inhibitrice sur les microtubules, cette molécule put servir de matière première pour la synthèse de taxol et surtout de son principal dérivé : le taxotère [16,17,18].

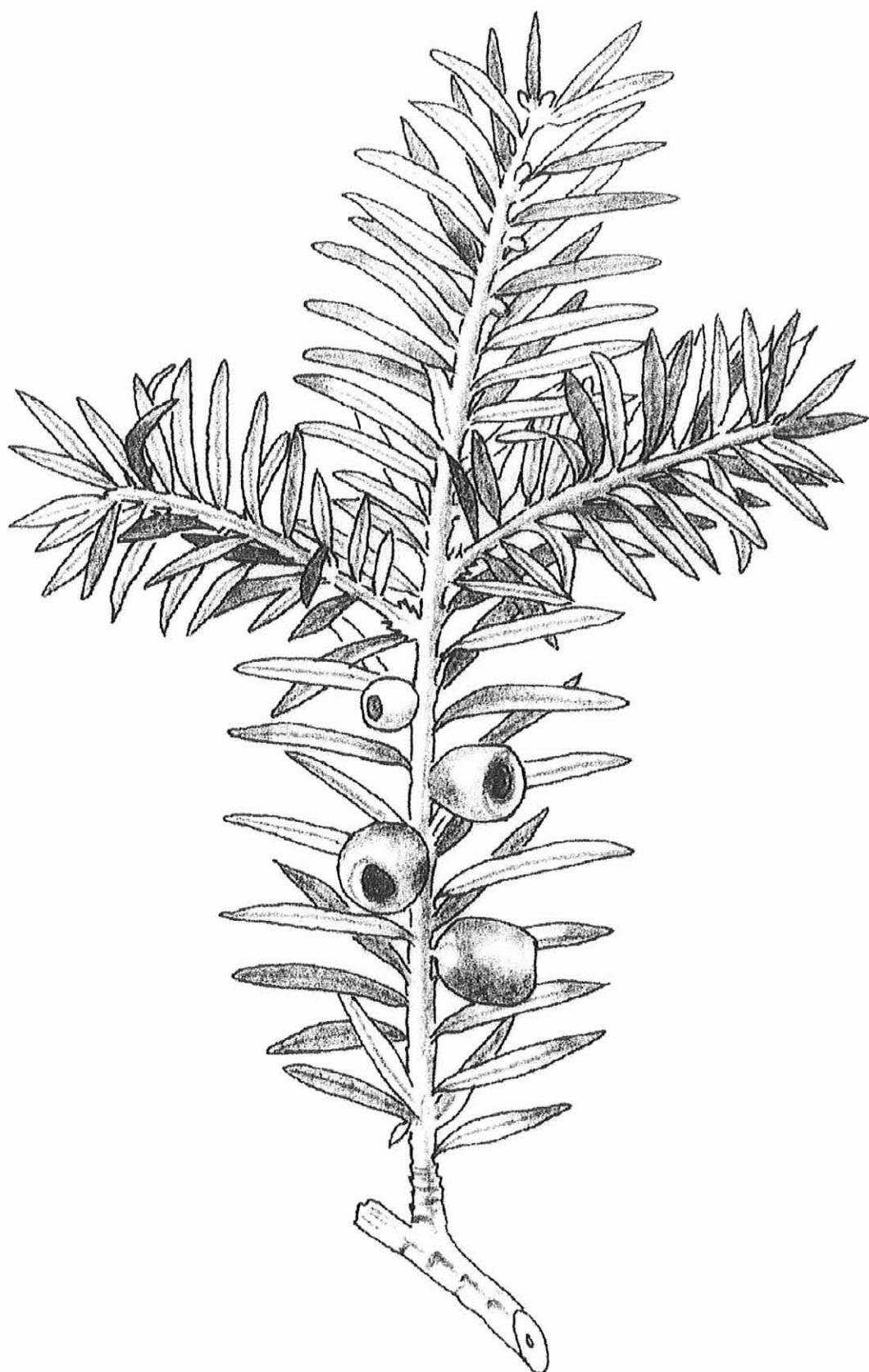


Fig.21 *Taxus baccata* TAXACEAE [16]

4.10.2 Structure moléculaire

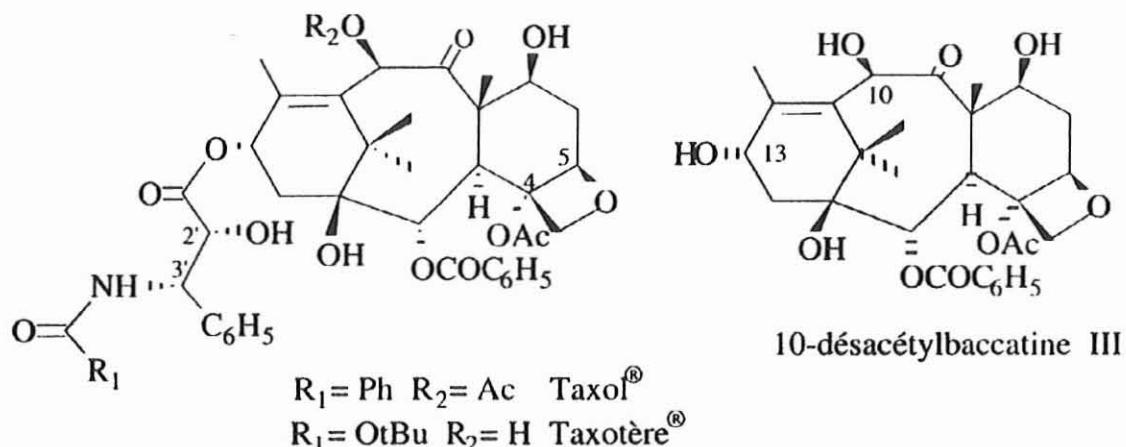


Fig.22 Structure des dérivés du taxol [17]

On distingue aujourd'hui deux dérivés du taxol : le paclitaxel ou taxol sensu stricto et le docétaxel ou taxotère, tous deux du type ester diterpène (fig.22). Ils possèdent tous deux un noyau oxetane à quatre membres, et une chaîne ester latérale.

La désacetylbaccatine III constitue aujourd'hui la molécule servant de matière première pour l'obtention chimique du taxol et du taxotère, trop difficiles à acquérir de façon naturelle. Il est en effet possible de synthétiser la chaîne latérale, à partir de l'alcool cinnamique par exemple, et de la greffer sur la désacetylbaccatine III, présente dans les feuilles en quantité dix fois plus importante que le taxol dans les écorces. De plus la récolte des feuilles, contrairement à celle de l'écorce, ne nuit pas à l'arbre, et est renouvelable.

Les dérivés du taxol sont alors synthétisés selon deux méthodes [17] :

- l'estérification de la 10-désacetylbaccatine III par l'acide cinnamique, suivie d'une oxy-amination sur la double liaison de la chaîne latérale, conduisent à un mélange d'isomères. L'utilisation de certains catalyseurs permet à la réaction de former préférentiellement l'isomère de même configuration que le taxol et de ses dérivés (2'R, 3'S). On achète ainsi l'incontournable dérivé du taxol : le taxotère ou docétaxel à partie duquel sera facilement obtenu le taxol.
- la synthèse de la chaîne latérale et son couplage par estérification à la 10-désacetylbaccatine III.

4.10.3 Mécanisme d'action

Grâce au « test tubuline », on a pu mettre en évidence le mécanisme d'action aujourd'hui encore unique du taxol et de ses dérivés, également appelés taxoïdes : contrairement au poisons du fuseau (colchicine, vinblastine...) qui s'opposent à la polymérisation des microtubules en tubuline et accélèrent la dépolymérisation, les dérivés du taxol agissent de façon tout à fait opposée. Ces molécules inhibent en effet le désassemblage des microtubules de la tubuline, et même augmentent leur assemblage. Pour cela on les appellera préférentiellement « stabilisants du fuseau ». L'étude systématique des nombreux dérivés obtenus lors de la synthèse du taxol a permis ainsi de sélectionner particulièrement le docétaxel. La conformation tridimensionnelle du taxol et de ses dérivés sont à l'origine de l'activité. L'étude des relations structure-activité, dans cette série de composés a permis la mise à jour de l'importance de certaines fonctions comme l'oxétane (cycle oxygéné à quatre atomes) en 4 et 5, et la configuration des substituants en 2' et 3', puisque les isomères autres que 2'R 3'S, montrent beaucoup moins d'activité [17].

4.10.4 Utilisation actuelle

Actifs *in vitro* sur les cellules cancéreuses, le paclitaxel, puis le docétaxel se sont ensuite présentés comme ayant une activité *in vivo* sur des souris nudes (sans thymus) contre un certain nombre de tumeurs parmi lesquelles les carcinomes coliques et les carcinomes pulmonaires de Lewis. L'étude clinique a alors démontré l'intérêt d'utiliser le paclitaxel dans le traitement de tumeurs de l'ovaire résistant au cis-platine [56], les cancers du sein [57] et du poumon [58].

Du fait de leur mécanisme d'action totalement original, paclitaxel et docétaxel font aujourd'hui partie des grandes découvertes de cette dernière décennie en matière de chimiothérapie. Ils sont actuellement utilisés sous deux spécialités médicamenteuses : TAXOL® (paclitaxel) et TAXOTERE® (docétaxel). Leurs indications essentielles concernent le carcinome ovarien, le cancer du sein métastatique, ou le cancer bronchique non-à-petites-cellules pour le TAXOL® et se limite cancer du sein avancé ou métastatique pour le TAXOTERE®. Ces deux molécules possèdent malheureusement une toxicité élaborée avec la possibilité d'une atteinte hématologique (neutropénie, anémie, thrombopénie), d'une réaction d'hypersensibilité parfois sévère, d'une alopecie, ou d'effets cardiaques (tachycardie, bradycardie, hypotension) ou neurologiques [5,6]. Comme l'avaient fait les alcaloïdes de la pervenche dans les années quatre-vingts, les taxoïdes ont su, dans la décennie suivante, se faire une place en tant que cytostatiques issus d'un organisme végétal. Ces molécules font encore aujourd'hui, du fait de leur commercialisation relativement récente, l'objet de nombreuses études cliniques sous forme de programmes d'administration aussi divers que variés, contre un grand nombre de tumeurs. Le paclitaxel par exemple est régulièrement utilisé pour la découverte de nouveaux protocoles prometteurs pour soigner le cancer de l'ovaire [59] ou du sein [60], tandis que le docétaxel même s'il est également employé contre le cancer du sein [61], dévoile à son tour un potentiel exploitable vis à vis du cancer bronchique non-à-petites-cellules [62,63]. Enfin, le RPR 109881A, un nouveau taxoïde hémisynthétique, est depuis peu lui aussi à l'étude [64,65].

4.10.5 Chronologie

1971 : Mise en évidence par le National Cancer Institute de l'activité antitumorale d'extraits d'écorces de l'if du Pacifique, *Taxus brevifolia* (Etats-Unis). Elucidation de la structure du taxol par Wani et Wall (Etats-Unis).

1979 : Mise en évidence du mécanisme d'action du taxol par S.Horwitz (Etats-Unis).

1980 : Isolement de la Désacétylbaccatine III des feuilles de l'if européen, *Taxus baccata* (France).

1982 : Détermination de la structure des principaux composés actifs de *Taxus baccata*.

1984 : Hémisynthèse du docétaxel (France).

1985 : Hémisynthèse du paclitaxel (France).

1988 : Etudes cliniques du paclitaxel.

1991 : Etudes pharmacologiques et cliniques du docétaxel.

1993 : Mise sur le marché du TAXOL® par Bristol-Myers.

1996 : Mise sur le marché du TAXOTERE® par Rhône-Poulenc.

4.11 La camptothécine (Plante *Camptotheca acuminata* NYSSACEAE)

4.11.1 Historique

Dans les années soixante, les grandes campagnes de criblage naturel dans le cadre de la recherche de nouvelles substances anticancéreuses, aboutirent à l'isolement de la camptothécine et de ses dérivés [66]. En 1966, en effet, Wall et son équipe, chimistes au Research Triangle Institute, mirent en évidence ces alcaloïdes présents dans l'écorce, les racines et les fruits d'un arbre ornemental du Sud-Est de la Chine : *Camptotheca acuminata* de la famille des NYSSACEAE de l'ordre des Cornales ou Rosidae. En dépit d'une efficacité antitumorale significative sur plusieurs modèles expérimentaux, la camptothécine engendra, dès les premiers essais cliniques, de nombreux effets secondaires sévères qui obligèrent les chimistes à abandonner leurs recherches. Il faut préciser que le sel sodique était alors utilisé afin de disposer d'un composé hydrosoluble, ce qui hydrolysait malheureusement la forme lactonique des camptothécines, essentielle à l'activité.

Dans les années soixante-dix les progrès de la biologie moléculaire dévoilèrent les mécanismes enzymatiques intimes que subit le corps humain, et ainsi de nouvelles cibles pour les médicaments. Parallèlement les nouvelles techniques en matière de chimie pharmaceutique permirent de mener, à la fin des années quatre-vingts, de nouvelles recherches sur l'activité antinéoplasique de la camptothécine, d'en dégager le mécanisme d'action particulier et d'en fabriquer des dérivés hydrosolubles moins toxiques comme l'irinotécan (CAMPTO®) ou le topotécan (HYCAMTIN®). L'irinotécan se présente sous la forme d'une poudre jaune, cristalline, soluble dans l'eau et l'acide acétique glacial.

4.11.2 Structure moléculaire

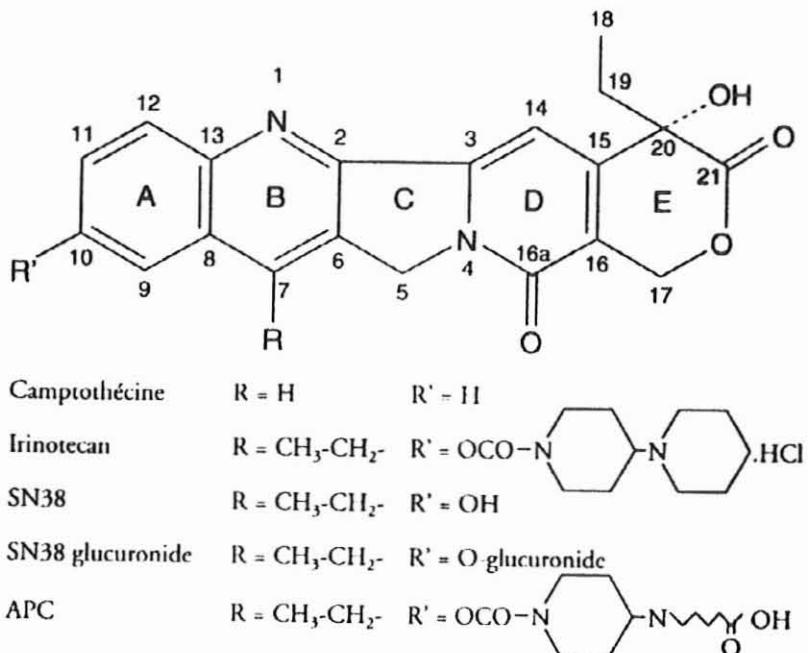


Fig.23 Structure de la camptothécine et de ses dérivés [66]

L'irinotécan est un dérivé hydrosoluble de la camptothécine (fig.23). Seule la forme fermée, lactonique, qui prédomine à pH acide, est considérée comme active.

Ainsi, la formulation contient habituellement du D-sorbitol, de l'acide lactique et de l'hydroxyde de sodium pour ajuster le pH à 3,5 [66].

4.11.3 Mécanisme d'action

De nombreux complexes enzymatiques interviennent chez l'homme pour la décompactation, la réplication et la recondensation de son matériel génétique. Ainsi, comme nous l'avons déjà vu, les topo-isomérasées sont capables de compenser les supertours que subissent régulièrement les trois milliards de bases qui constituent la molécule d'ADN.

La topo-isomérase de type I a été découverte au début des années soixante-dix. De nombreuses études ont montré depuis ses nombreux rôles au sein de la cellule eucaryote : la topo-isomérase I agit en effet sous forme monomérique selon un cycle catalytique divisible en quatre étapes [67] :

- **La liaison de l'enzyme à l'ADN :** cette liaison concerne l'ADN double brin et nécessite une région d'au moins vingt paires de bases.
- **Le clivage de l'ADN :** contrairement à le topo-isomérase II, la topo-isomérase I ne coupe qu'un seul brin d'ADN par transestérification réversible. Cette réaction conduit à la formation d'un complexe de clivage ADN-topo-isomérase I.
- **Le passage d'un simple brin à travers la coupure :** cette étape nécessite une modification de la conformation de la topo-isomérase I et a lieu selon un processus dit de « rotation contrôlée ».
- **La religation de l'ADN :** il s'agit également d'une réaction de transestérification, qui permet de restaurer la continuité du brin d'ADN.

En dehors de son activité de clivage et de religation, la topo-isomérase I joue un rôle dans la condensation des chromosomes, l'épissage de l'ARN, la compensation des contraintes de torsion occasionnées par l'accumulation de supertours positifs lors de la propagation des fourches de transcription, l'initiation même de cette transcription et se lie volontiers à de nombreux complexes protéiques. Son activité est régulée selon son degré de phosphorylation par différentes kinases, et par poly-ribolysation ou ubiquitinylation.

Ainsi, en recherchant de nouveaux inhibiteurs de la topo-isomérase II, Liu *et al.* ont montré que la camptothécine bloquait le complexe de clivage ADN-topo-isomérase I. Plus tard, le groupe Westergaard a démontré que cette stabilisation résultait en fait de l'inhibition de l'étape de religation. Or, le mécanisme de la cytotoxicité de la camptothécine n'est pas aujourd'hui totalement élucidé. Certaines cellules tumorales possèdent un niveau élevé de topo-isomérases I, ce qui expliquerait sa sélectivité. De plus, la mort cellulaire s'expliquerait par la collision entre une fourche de transcription et le complexe de clivage stabilisé, provoquant alors des dommages irréversibles comme des cassures double brin de l'ADN. Les tentatives de réparation de tels dommages généreraient alors des complexes suicides à l'origine de mutations létales pour la cellules. Enfin il faut savoir que, contrairement aux anthracyclines et aux vinca-alcaloïdes, l'activité de la camptothécine n'est pas influencée par le phénotype de résistance croisée MDR (multidrug resistance) et que cette molécule ne représente pas un bon substrat pour la glycoprotéine P, protéine de résistance cellulaire aux cytostatiques augmentant l'efflux du médicament hors des cellules la surexprimant. On utilise aujourd'hui le dérivé hydrosoluble irinotécan qui constitue, en fait, une pro-drogue puisque son métabolisme hépatique conduit à la formation d'un dérivé hydroxylé : le SN38. Ce métabolite augmente de façon proportionnelle à la dose administrée et possède une activité 100 à 1000 fois plus importante que la substance-mère [66].

4.11.4 Utilisation actuelle

Actuellement, la solution injectable d'irinotécan CAMPTO® est conditionnée en flacons de 2 ou 5 ml qui contiennent 40 ou 100 mg de principe actif, respectivement. La dose requise est habituellement diluée dans 250 ml de serum physiologique ou glucosé 5 %, et administré en perfusion intra-veineuse. Sa pharmacocinétique et celle de son métabolite SN38 sont linéaires et ne sont pas influencées par le nombre d'administrations.

Le spectre d'activité clinique de l'irinotécan est, tout comme son mécanisme d'action, assez particulier. Son pouvoir cytotoxique a été cliniquement étudié en phase II selon deux schémas d'administrations géographiquement distincts [68] :

- 350 mg/m² tous les 21 jours en Europe.
- 100 à 125 mg/m² hebdomadaires 3 à 4 semaines de suite avec un repos de 2 semaines aux Etats-Unis et au Japon.

Après ces nombreux essais cliniques, l'irinotécan s'est révélé apporter des taux de réponse et des médianes de survie sans progression supérieurs aux traitements utilisés jusqu'alors. Malgré des effets secondaires comme une diarrhée sévère et une leuconeutropénie, il est particulièrement actif dans le traitement des cancers du col utérin, des adénocarcinomes gastriques, des cancers bronchiques non-à-petites-cellules, des cancers de l'œsophage, et surtout dans le traitement des cancers colorectaux métastatiques ou résistant au 5FU qui constituent jusqu'alors leur unique indication [5,6,69]. Pour cette dernière maladie, l'activité prometteuse de l'irinotécan utilisé en monothérapie a été à l'origine d'essais cliniques de phase III qui positionnent l'irinotécan comme produit de référence dans le cancer colorectal métastatique résistant au 5FU [70]. Enfin, la possibilité d'association à de nombreux autres médicaments anticancéreux (étoposide, 5FU, cisplatin) est établie et comporte habituellement un caractère additif ou synergique [71,72]. L'irinotécan constitue donc, par son mécanisme d'action, son spectre d'activité et son rapport bénéfice-risque, une avancée majeure en matière de chimiothérapie cytotoxique.

HYCAMTIN®, quant à lui, possède depuis 1997 une AMM qui l'indique dans le traitement, en deuxième intention, du carcinome métastatique de l'ovaire [5,6]. Même s'il ne possède pas la toxicité digestive de l'irinotécan, il provoque néanmoins une leuconeutropénie importante.

Ces deux spécialités, dernières nées de la recherche en matière de chimiothérapie, témoignent de l'importance que peuvent représenter les molécules issues de plantes, notamment par une originalité de mécanisme d'action, de telle manière exploitée.

L'activité de l'irinotécan étant prouvée, son avenir réside essentiellement dans l'atténuation de ses effets toxiques dose-limitants que représentent la leuconeutropénie et la diarrhée tardive. A ce titre, l'association a des traitements symptomatiques (lopéramide forte dose par exemple), ou la recherche de nouveaux schémas d'administration ont été récemment adoptées. De plus, les derniers progrès pharmacologiques se sont également orientés vers l'étude de nouvelles formes de camptothécines, avec les développements cliniques du topotécan et de la 9-amino camptothécine en premier lieu, et de molécules comme la 9-nitrocamptothécine, le GG-211, le DX-8951f, ou du topotécan sous forme orale ensuite. On a enfin cherché à amplifier l'activité de la molécule en lui attribuant divers substituants hydrosolubilisants, activants, stabilisants, conférant un mécanisme pharmacologique supplémentaire (activité duale), ou en fabriquant de nouvelles prodrogues [73]. Les deux dérivés de la camptothécine, quant à eux, continuent aujourd'hui de subir de nombreux tests en vue de trouver de nouvelles applications dans le domaine de la chimiothérapie. On cherche donc actuellement à traiter les cancers utérins [74] ainsi que le cancer du poumon des deux types par le topotécan [75,76], tandis que l'irinotécan est essentiellement utilisé contre le cancer du poumon non-à-petites-cellules [77] et de manière à approfondir son indication principale, contre le cancer colorectal métastatique [78].

4.11.5 Chronologie

1995 : Mise sur le marché de CAMPTO® par Rhône-Poulenc.

1997 : Mise sur le marché de HYCAMTIN® par Smithkline-Beecham.

TROISIEME PARTIE

**Les perspectives d'avenir des
cytotoxiques d'origine naturelle**

Troisième partie : les perspectives d'avenir des cytotoxiques d'origine naturelle

1. Les anciennes campagnes de criblage naturel à nouveau au goût du jour

Comme on l'illustre les exemples que nous venons de le voir, l'histoire de la pharmacie montre que la plupart des grands médicaments découverts jusqu'il y a trente ans dérivent essentiellement d'organismes vivants et sont en général le fruit de protocoles de recherches fondés sur l'extraction aléatoire et opportuniste de toute substance intéressante qu'un végétal, animal ou même micro-organisme peut comporter. C'est ainsi que de grandes molécules comme les antipaludéens extraits de l'écorce de divers *Cinchona* ou la pénicilline issue du *fungus Penicillium notatum* ont marqué le monde du médicament. Dans cette optique, de grandes institutions de recherche américaines, japonaises et européennes ont entrepris dans les années soixante de vastes campagnes de « criblage naturel » visant à découvrir de nouvelles substances susceptibles de présenter un potentiel important pouvant être exploité pour l'élaboration de nouveaux médicaments. En se reposant sur les principes d'ethnopharmacologie et de chimiotaxonie ainsi que sur des tests biologiques de terrain, les établissements de recherche pharmaceutique décidèrent donc d'investir les zones géographiques les plus prometteuses. Grâce aux informations bibliographiques dont ils disposaient et l'originalité de la flore et la faune locale (on parle d'endémicité), ces établissements envoyèrent sur place de nombreuses équipes de scientifiques dont la mission première était de découvrir des substances nouvelles, qu'elles soient d'origine bactérienne, fongique, marine, végétale ou animale. Dans cette optique, le NCI (National Cancer Institute) américain fut certainement le chef de file de ce genre d'investigations puisque dès 1957, de gros moyens furent mis en place pour organiser de vastes campagnes de criblages destinées spécifiquement à la découverte de nouveaux produits cytostatiques [79]. De nombreuses espèces animales, végétales et micro-organiques furent donc étudiées, divergeant aussi bien par la famille à laquelle elles appartenaient que par leur origine géographique. L'Alaska, le Canada, l'Amérique du Sud, l'Afrique centrale, Madagascar, le Sud-Est asiatique et les îles du Pacifique permirent alors l'identification et l'isolement d'un nombre important de molécules. De nombreux produits, particulièrement à visée anticancéreuse ou antibiotique, purent ainsi être développés. C'est ainsi que tous les anticancéreux évoqués précédemment virent le jour : qu'il s'agisse des alcaloïdes de la pervenche, de l'ellipticine ou plus récemment des taxoïdes ou de la camptothécine, tous sont issus de programmes de criblage à grande échelle dont certains datent ainsi de quelques dizaines d'années. Malheureusement le nombre de molécules qui aboutirent à la commercialisation d'un médicament resta limité : à l'époque en effet, l'extraction de ces nouvelles substances nécessitait le plus souvent, une quantité de matière première très difficile à obtenir si bien que de nombreux produits intéressants, par pur souci économique et écologique, demeurèrent dans l'oubli. De plus les tests d'activités biologiques peu automatisés, ne pouvaient accepter qu'un nombre limité d'échantillons, tandis que les méthodes de criblage et d'isolement demeuraient coûteuses et laborieuses.

2. Années 90, le renouveau du criblage naturel

Après cette recherche médicamenteuse aléatoire et opportuniste des années soixante, les années soixante-dix virent elles l'essor de la chimie organique et de la biologie moléculaire qui changèrent radicalement l'organisation de la recherche pharmaceutique [80,81]. On commença alors à synthétiser de plus en plus de médicaments exclusivement artificiels, tandis que le criblage naturel en tant que moyen de découverte de nouveau médicaments, trop cher et peu rentable, fut peu à peu abandonné. Les laboratoires se tournèrent en effet vers une chimie de synthèse plus dirigée et réfléchie. De nouveaux moyens technologiques commencèrent alors à faire leur apparition et confortèrent les chercheurs dans leurs nouvelles méthodes de développement médicamenteux. Grâce à l'utilisation de la biologie moléculaire, les cibles macromoléculaires pharmacologiques purent précisément être déterminées. De nouveaux outils comme l'informatique, la cristallographie à haute résolution ou la résonance magnétique nucléaire à haut champs permirent dès lors de déterminer précisément la structure tridimensionnelle de macromolécules cibles. A partir de celle-ci, on put alors sélectionner au sein de banques de données moléculaires, les composés chimiques de faible masse molaire répondant le mieux aux critères retenus pour la reconnaissance de la cible. Ainsi, à la recherche hasardeuse des années soixante, s'opposa une approche dirigée, impliquant la connaissance de la structure tridimensionnelle des molécules impliquées, rendue possible grâce aux progrès de la chimie structurale et à de nouveaux outils technologiques. Pourtant, les structures parfois très complexes des métabolites issus d'organismes naturels ne purent être développées car trop difficiles à concevoir sur la base des connaissances et du savoir-faire du chimiste organicien de l'époque.

Au début des années quatre-vingt-dix une véritable révolution survint, modifiant profondément la vision plutôt pessimiste des responsables des grandes sociétés pharmaceutiques, quant à l'avenir du criblage aléatoire en tant que source de nouveaux médicaments. Les laboratoires, en effet décidèrent d'exploiter ces nouvelles technologies en matière de chimie pharmacologique pour s'orienter à nouveau vers des méthodes d'analyse arbitraires de molécules, applicables au niveau de substances isolées d'organismes vivants. Chaque nouvelle méthode put ainsi être utilisée et adaptée à l'étude et l'analyse aléatoire d'échantillons qui fit peu à peu l'objet d'un regain d'intérêt :

- **La robotique** par exemple permit le développement d'automates capables d'effectuer des opérations séquentielles plus ou moins complexes à partir d'un format standardisé : la microplaquette, disposant de 96 trous pour les réactifs et les échantillons à tester. Grâce à ces supports miniaturisés, on put alors développer de nouvelles méthodes d'analyse à partir de quantités négligeables de matière première. Alors que la masse de substance isolée s'évaluait jusqu'alors en milligrammes, c'est sur quelques microgrammes de produit que les automates purent travailler à cadence soutenue. Dès lors, il fut possible d'étudier des centaines voire des milliers d'échantillons chaque jour.

- **De nouvelles méthodes de traçage radioactif**, parallèlement à cela, apparaissent. Jusqu'alors de telles méthodes nécessitaient une étape de séparation souvent délicate entre ligand libre et ligand lié au récepteur. Une nouvelle technique, la *scintillation proximity assay* (SPA), simplifia extrêmement la mesure du ligand liés aux récepteurs et contribua à l'augmentation de la rapidité du criblage moléculaire tout en étant adaptable à de nombreux tests biologiques enzymatiques. Mais manipuler des substances radioactives sur un tel nombre d'échantillons ne demeurait pas sans risque, aussi ces méthodes purent bientôt être remplacées par l'utilisation de traceurs fluorescents plus faciles d'emploi et plus sécurisants.
- **De nouveaux outils pour le chimiste** intervinrent également dans ce domaine : la chromatographie liquide couplée à des enregistrements informatisés des spectres des molécules absorbant dans l'ultraviolet, l'acquisition des valeurs des masses moléculaires correspondant aux pics du chromatogramme, ou la résonance magnétique nucléaire simplifiaient extrêmement la détermination des structures moléculaires.
- **Les banques de données informatiques de substances naturelles** rassemblant les caractéristiques d'environ 110 000 molécules choisies en fonction de leur originalité, leur diversité et leur qualité, facilitèrent l'identification des produits. Des logiciels permirent de mettre en place un système de « modélisation moléculaire », en créant une représentation spatiale 3D de chaque molécule analysée (système *3D database searching*). Grâce à ces données faciles à faire circuler en réseau et disponibles pour la plupart des chercheurs, il fut alors possible de n'entreprendre la longue étape de purification qu'en cas d'originalité de la substance analysée. On s'orienta ainsi peu à peu vers un criblage moléculaire à haut débit.

Ainsi, dans de nombreux grands groupes pharmaceutiques, le concept de criblage à haut débit s'est peu à peu imposé comme stratégie de recherche vers des perspectives nouvelles. Son développement a alors provoqué de profonds bouleversements dans l'organisation des départements d'étude. La possibilité de cribler des dizaines voire des centaines de milliers d'échantillons, simultanément dans plusieurs tests et en quelques mois a déclenché une forte demande en quantité et en diversité. Dès lors, les extraits naturels pouvaient à nouveau jouer un rôle fondamental dans l'élaboration de nouveaux médicaments, particulièrement dans le domaine des traitements anticancéreux, domaine pour lequel de nombreuses molécules jadis découvertes avaient vu leur étude abandonnée. Ce criblage à haut débit, en suscitant une très forte demande d'échantillons, stimula ainsi la chimie combinatoire qui vit tout à coup son champ d'application s'élargir au moment où elle bénéficiait des progrès de l'automatisation. A partir d'une structure chimique de base commune appelée synthon il fut possible de préparer un grand nombre de produits de structures variées, apparentées et originales, venant s'ajouter aux collections internes de produits plus anciens synthétisés classiquement et provenant des programmes de recherche des grandes sociétés pharmaceutiques, dépassant rarement quelques dizaines de milliers d'échantillons.

Or, si en quelques années les progrès en matière d'analyses biologiques, chimiques ou physiques ont été considérables, le plus important a sans doute été le développement primordial de l'informatique. L'apparition de logiciels perfectionnés et l'utilisation d'ordinateurs de plus en plus puissants et connectables en réseaux ont permis dans tous les domaines des prouesses inimaginables dix ans plus tôt. La biologie moléculaire, la détermination de structures chimiques, l'étude d'une activité thérapeutique sont aujourd'hui obligatoirement associées à des logiciels d'analyses informatiques ainsi qu'à des systèmes de bases de données élaborés. Dès lors, l'approche analytique de produits exploitables pour donner naissance à d'éventuels nouveaux médicaments est totalement modifiée : le processus de découverte d'un médicament se déroule désormais en cinq étapes :

- **L'identification de la cible** : la biologie moléculaire permet de caractériser des séquences génétiques impliquées dans des maladies, et de déterminer ainsi la séquence de la protéine responsable de l'affection. Celle-ci sert à l'élaboration d'un test de criblage pour sélectionner les candidats-médicaments. Ces tests sont dirigés et organisés après avoir comparé les séquences de gènes à des séquences disponibles sur des bases de données informatiques. Enfin, on procède à la modélisation tridimensionnelle informatique de la protéine qui devient la molécule cible contre laquelle le médicament devra être dirigé.
- **Le criblage à haut débit (high throughput screening ou HTS)** : il permet de tester le plus de composés possibles contre la molécule-cible, tout en analysant les activités biologiques et chimiques. Des logiciels contrôlent le processus, stockent les résultats dans des banques de données et déterminent les relations structure-activité.
- **La chimie combinatoire** : une fois une structure médicamenteuse choisie, il est possible d'enrichir la collection moléculaire en synthétisant des composés supplémentaires à partir d'une simple armature chimique de base (synthon). De nouvelles bibliothèques moléculaires informatiques sont ainsi créées.
- **L'identification de la « tête de série »** : une fois les collections moléculaires testées, les informations concernant l'activité biologique de chaque substance emmagasinée sont analysées. Une fois encore des logiciels informatique interviennent pour disséquer les résultats des tests et permettre de relier l'activité biologique à la structure chimique. On dégage alors les composés chimiques les plus prometteurs susceptibles d'aboutir à l'élaboration d'un médicament.
- **L'optimisation de la tête de série** : la tête de série identifiée, il est possible d'optimiser son activité par la conception et la synthèse de molécules similaires. Là encore, la chimie combinatoire et l'informatique interviennent. On obtient à nouveau une collection moléculaire dont les propriétés seront comparées aux propriétés des molécules retenues au départ. Toutes les variations du composé de base peuvent ainsi être envisagées.

Cet ensemble d'innovations techniques a donc profondément modifié les stratégies employées jusqu'alors pour découvrir de nouveaux médicaments. Ceci a provoqué la renaissance du criblage aléatoire et l'étude de nombreuses molécules d'origine naturelle, récentes ou découvertes lors d'anciennes campagnes de criblage puis laissées à l'abandon, faute de moyens d'exploitation rentables. Les extraits naturels, qui représentent désormais un gisement quasiment inépuisable de structures uniques et complexes, peuvent donc à nouveau jouer un rôle important, à condition de pouvoir suivre le rythme du criblage. Ainsi dans ce contexte technique et scientifique en pleine évolution, la réussite dépend d'une part de la qualité de l'organisation de travail et d'autre part de la possibilité de disposer d'échantillons représentatifs d'une grande diversité structurale.

3. Les espèces marines enfin exploitées

Il y a une trentaine d'années, lorsque les premiers grands programmes de criblage naturel furent lancés, on se rendit bien vite compte de l'extraordinaire diversité de la flore et de la faune marine. Aussi les scientifiques se mirent-ils en quête de nouvelles molécules aux propriétés chimiques inédites, dans cet environnement jusqu'alors peu exploité [79]. Mais après une période d'enthousiasme aveugle, il s'avéra que l'entreprise n'était pas aussi simple que prévu. Outre les problèmes posés par la production de molécules issues d'organismes marins à grande échelle, nombreuses sont celles qui, d'abord prometteuses, ne purent finalement être utilisées en raison d'une trop grande toxicité. Néanmoins après trente ans d'efforts, et souvent de désillusions, les richesses des océans commencèrent à voir enfin leur potentiel pharmacologique exploité. Malheureusement beaucoup de ces molécules découvertes dans les années soixante, ne purent à l'époque être étudiées pour des raisons évidentes de rentabilité.

Or, les progrès technologiques de ces deux dernières décennies, particulièrement en matière de miniaturisation et d'informatique, ainsi que le développement de processus d'analyse et de criblage à haut débit, ont autorisé un regain d'intérêt pour ces substances. Le programme « Cancer Drug Discovery and Development » du National Cancer Institute dirigé par Michael Boyd en 1989 et exclusivement réservé à la découverte de nouveaux cytostatiques, en est un parfait exemple [82]. Beaucoup de ces produits susceptibles d'être utilisés dans le domaine de la santé sont destinés au traitement des cancers et plusieurs milliers de substances sont aujourd'hui répertoriées, tandis que certaines d'entre elles même font l'objet d'essais cliniques plus ou moins avancés. Mais des limites subsistent néanmoins : les énormes progrès technologiques de ces dernières années n'ont pu totalement compenser les problèmes rencontrés pour produire les molécules exploitables : beaucoup de substances proviennent d'espèces rares d'invertébrés marins dont la récolte en grande quantité est impossible à moins de bouleverser tout un écosystème. De plus, les structures extrêmement compliquées de ces molécules ne sont pas toujours faciles à étudier. Heureusement on se rend souvent compte que certains de ces composés sont en fait produits par des micro-organismes qui vivent en symbiose avec les invertébrés en question. Il devient alors plus facile d'en développer la culture pour en extraire les précieuses molécules. Enfin, il faut noter que la microbiologie et la génétique simplifient actuellement de plus en plus la production de ces substances.

C'est ainsi que depuis trente ans les espèces marines sont petit à petit étudiées et exploitées de manière à pouvoir éventuellement prendre le relais des espèces terrestres qui ont jusqu'alors beaucoup apporté à la médecine et particulièrement en cancérologie [83]. Mais comment porter un choix dans ce vaste domaine d'exploration qui regroupe plus d'un million d'espèces d'algues et d'invertébrés ? On observe alors que beaucoup d'espèces marines, dépourvues de moyens physiques de défense, produisent des substances neurotoxiques ou cytotoxiques pour repousser leurs prédateurs. Celles-ci par leur aptitude à détruire les cellules constituent des antitumoraux potentiels. Les embranchements alors les plus concernés regroupent les éponges, les ascidies, les coraux mous et certains mollusques, avec une préférence pour les mers chaudes (lagons, golfes tropicaux...) ou la compétition interspécifique est particulièrement intense. Après maintes investigations, 63 substances marines furent ainsi brevetées de 1969 à 1995 pour leur propriétés cytotoxiques. Même si aujourd'hui l'aracytine est la seule molécule dérivée de ces organismes commercialisée, beaucoup d'entre elles font actuellement l'objet d'études cliniques à des stades parfois très avancés.

4. Les différents essais cliniques

Les essais cliniques sont des expériences, développées en milieu hospitalier et soigneusement planifiées, qui permettent aux scientifiques d'évaluer les effets des drogues en expérimentation sur un petit groupe de personnes [84]. Ils permettent de répondre, selon les lois de la logique et de la science, à de nombreuses questions au sujet du traitement chimiothérapique des cancers, particulièrement en ce qui concerne leurs contraintes et leurs toxicité. Les essais cliniques en effet représentent pour les chercheurs le moyen le plus efficace de déterminer si un médicament comporte plus d'avantages que de risques, et s'il peut sensiblement apporter une amélioration, voire une guérison chez des malades atteints de cancer. C'est ainsi grâce aux essais cliniques que les chercheurs ont pu mettre au point des traitements efficaces pour plusieurs types de cancers, et que ces dix dernières années la recherche clinique a débouché sur des médicaments de plus en plus performants. Aujourd'hui encore de nombreuses substances prometteuses sont à l'essai et peut-être aboutiront-elles un jour sur la commercialisation de nouvelles spécialités.

Les essais cliniques ne sont qu'une étape de la mise au point d'un nouveau médicament. La démarche dans son ensemble, c'est-à-dire l'identification du traitement éventuel, les essais sur des animaux, l'autorisation de procéder à un essai sur les humains, l'essai lui-même, l'analyse des données, la demande de permis de commercialisation et l'autorisation du médicament, peut prendre plusieurs années. Ainsi la découverte d'un traitement efficace dépend de l'étroite collaboration entre les scientifiques, les médecins, les firmes pharmaceutiques et les gouvernements. Les chercheurs assurent alors la rigueur scientifique des essais et analysent les données recueillies. Les médecins surveillent l'état de santé des participants à l'essai et font part de leurs observations aux chercheurs. Les firmes pharmaceutiques fournissent les médicaments et financent généralement l'essai. Les organismes réglementaires enfin, sont chargés d'étudier les conclusions des chercheurs et de déterminer, en se fondant sur les preuves scientifiques, si le médicament peut être commercialisé.

4.1 Les essais précliniques

Les essais cliniques permettent d'évaluer l'innocuité et l'efficacité d'un nouveau traitement médicamenteux. Mais avant d'être administrés à des humains, les molécules nouvellement mises au point doivent faire l'objet d'essais minutieux. Plusieurs types d'études pharmacologiques sont alors effectuées, elles reposent sur la pharmacologie cellulaire, biochimique et moléculaires ainsi que sur des principes de pharmacocinétique et de métabolisme animal. C'est l'étape des essais précliniques, effectués *in vitro* et sur des animaux.

- **Les essais *in vitro*** sont des expériences de laboratoire qui visent à déterminer si le médicament a un effet positif sur des cellules humaines en éprouvette. Ainsi, la drogue de recherche peut être ajoutée à des cellules saines ou à des cellules devenues artificiellement cancéreuses par inhibition de leurs processus de contrôle de développement. Les essais *in vitro* sont repris de nombreuses fois pour garantir la fiabilité des résultats. Si les résultats sont prometteurs, les chercheurs passent à la deuxième étape : les essais sur des animaux.
- **Dans le cadre d'un essai sur des animaux**, la molécule de recherche est administrée à des animaux pour déterminer son effet sur un être vivant. L'animal encore aujourd'hui représente le meilleur modèle en matière d'études de toxicité aiguë et chronique, de pharmacocinétique, et de répercussions tératogènes sur les générations suivantes. Les études de toxicité, ont pour objet de déterminer si le médicament est dangereux pour l'organisme entier ou pour certains organes ou certaines fonctions. Toutes ces études sont réalisées dans des laboratoires respectant les bonnes pratiques, reconnus par la communauté scientifique et les instances d'enregistrement international. On s'intéresse en général à 2 ou 3 espèces animales, le plus souvent une espèce de rongeur et une non rongeur. Certains animaux, notamment les rats et les souris, vivent moins longtemps et se reproduisent plus vite que les êtres humains, ce qui permet aux chercheurs d'étudier facilement les effets tératogènes et mutagènes. Les chercheurs utilisent aussi d'autres animaux, notamment des chimpanzés ou d'autres singes, parce qu'ils ressemblent davantage à l'être humain ou qu'ils contractent les mêmes maladies que lui. Les essais toxicologiques permettent ainsi de déterminer les doses létales (dont la DL_{50}), et de rechercher de façon approfondie la nature des effets toxiques ainsi que leurs manifestation à long terme. Toutes les données toxicologiques et pharmacocinétiques recueillies sont ensuite étudiées et permettent aux chercheurs de mieux déterminer par extrapolation les protocoles et les posologies d'administration du médicament chez l'être humain.

4.2 Les essais cliniques proprement dits

Lorsque les études précliniques sont terminées, et si le médicament semble être efficace et sûr pour les animaux, la firme pharmaceutique demande aux administrations responsables l'autorisation d'éprouver le médicament chez l'être humain. La demande, accompagnée de tous les documents et données précliniques et d'un plan ou protocole détaillé de l'essai clinique, est présentée. Si l'administration donne son approbation, l'essai clinique peut alors débuter.

Les essais cliniques chez les humains comprennent quatre phases en théorie chronologiques, car il n'est pas rare qu'on débute une phase alors que la précédente n'est pas clôturée.

- **Phase I** : il s'agit de études de tolérance, de sécurité d'emploi, d'activité pharmacodynamique, et de pharmacocinétique. Elle permet donc de confirmer les données recueillies chez l'animal en précisant les modalités d'utilisation chez l'homme. On commence en général l'étude sur un certain nombre de sujets volontaires aux caractéristiques très strictes (habituellement hommes, sains et jeunes). Il est ensuite possible d'élargir les études menées à des sujets d'âge et de sexe différent, présentant une insuffisance rénale, hépatique ou une pathologie définie. Selon le mode d'administration du médicament, la phase I se subdivise en phases Ia et Ib :

- ➔ La phase Ia d'abord consiste en l'administration de doses uniques mais progressivement croissantes. Il est ainsi possible de définir la dose maximale tolérée ou dose unique engendrant des effets indésirables incompatibles avec une répétition de l'administration.
- ➔ La phase Ib comprend ensuite l'administration répétée des doses avec, là encore, la détermination des doses maximales tolérées. On peut ainsi préciser les posologies auxquelles auront lieu les essais suivants. La mise à disposition des résultats de phase Ia et Ib autorise le passage en phase II sur des populations sélectionnées.

- **Phase II :** cette phase commence à impliquer l'étude du médicament administré chez des malades puisque son objectif est de mettre en évidence et de préciser les effets pharmacologiques du produit sur des petits groupes de patients, et d'élaborer ainsi un schéma d'administration. Les populations sur lesquelles les études sont menées sont souvent limitées, très définies et homogènes. Ces analyses, effectuées en milieu hospitalo-universitaire permettent à la fois une approche purement pharmacologique de la molécule, mais également une vision plus économique en confrontant les données techniques aux données concurrentielles, aux études stratégiques et aux paramètres industriels. On essaie également de développer parallèlement plusieurs indications thérapeutiques. Ainsi dans l'optique de contrôle des dépenses de santé, l'aspect économique d'un médicament est de plus en plus dépendant de son rapport bénéfice-risque puisque son prix de vente sera défini en fonction du service médical rendu. Ainsi si au terme de cette phase la molécule étudié présente un espoir thérapeutique majeur et une espérance économique raisonnable, une décision de passage en phase III est effectuée.
- **Phase III :** la phase III des essais cliniques correspond à un changement d'échelle en terme d'échantillon de population (plusieurs milliers de patients), de territoire géographique où sont réalisées les études, d'outils de production, et de dossiers techniques. Elle a pour but de prouver l'efficacité du produit en réalisant des études sur un nombre important de malades dans les conditions habituelles d'utilisation. L'organisation de cette phase d'essais est rigoureuse et nécessite une logistique lourde et rodée. Ces essais sont réalisés en général en double aveugle contre placebo ou produits de référence avec une ou plusieurs doses. Ils peuvent chacun aborder différents paramètres : amélioration de la maladie, effets indésirables, coût général du traitement. On démontre ainsi l'activité du produit dans un certain nombre de pathologies définies, sa tolérance, ses effets secondaires les plus fréquents, ses schémas d'administration, son rapport bénéfice-risque et son intérêt devant ses concurrents. A ce stade il est possible d'envisager le dépôt des dossiers auprès des différentes instances d'enregistrement, de remboursement et de débuter la commercialisation.
- **Phase IV :** Elle commence dès le début de la commercialisation du médicament et regroupe plusieurs types d'activités. La phase IV marketing permet à de nombreux praticiens de tester le nouveau médicament en commençant à le mentionner dans leurs prescriptions. La phase IV de représentativité quant à elle vise à connaître les effets thérapeutiques et indésirables, ainsi que les interactions du médicament sur de larges populations non ou peu sélectionnées. La phase IV de recherche thérapeutique enfin repose sur de nouvelles études approfondies afin de s'orienter vers d'autres indications, ou de répondre aux questions non résolues en phase III. La phase IV utilise toutes les techniques de phase III, mais aussi des méthodologies d'enquête épidémiologique et de pharmacovigilance. L'intérêt thérapeutique du médicament est ainsi mieux apprécié.

4.3 Les types d'essais cliniques

Tous les essais cliniques de phase III visent à comparer la drogue de recherche à une autre substance afin de déterminer lequel des deux produits est le plus efficace et le plus sûr. Le médicament peut alors être comparé à un placebo ressemblant à la drogue de recherche mais ne contenant aucun médicament. Dans ce type d'essai, les participants sont répartis en deux groupes : l'un reçoit la drogue de recherche et l'autre le placebo. La méthode permet aux chercheurs d'étudier les réactions de chaque groupe. Les essais avec placebo sont un moyen rapide et exact de déterminer si l'administration du médicament comporte plus d'avantages que l'absence de traitement. Mais la plupart des essais comparent un médicament à un autre. Ce sont des essais de comparaison contrôlés :

- **Comparaison de la drogue de recherche et du médicament courant** : un groupe reçoit le médicament courant, c'est-à-dire le médicament le plus fréquemment administré pour enrayer la maladie, tandis que l'autre groupe reçoit la drogue de recherche. Les chercheurs comparent les réactions des deux groupes afin de déterminer quel médicament donne les meilleurs résultats.
- **Comparaison de la drogue de recherche en association avec le médicament courant et du médicament courant administré seul** : les deux groupes reçoivent le médicament courant, mais l'un d'eux reçoit aussi la drogue de recherche. Les chercheurs déterminent si l'ajout de la drogue de recherche a un effet positif sur l'état de santé ou la qualité de vie des participants.
- **Comparaison de diverses doses de la même drogue de recherche** : ce type d'essai (essai de dosage) permet aux chercheurs de déterminer quelle dose donne les meilleurs résultats et entraîne le moins d'effets secondaires.

Certaines mesures de contrôle aident aussi à garantir l'exactitude des résultats d'un essai. Il s'agit de règles précises que doivent respecter les chercheurs et les participants afin d'éviter que les données ne soient faussées. Ainsi, les croyances personnelles, l'intérêt ou les émotions peuvent influencer le jugement d'une personne et éventuellement introduire des erreurs dans les résultats d'un essai. Parmi ces mesures de contrôle, notons :

- **Les essais randomisés** : Essai où les participants sont assignés de façon aléatoire à l'un ou l'autre des traitements de l'étude avec l'aide d'un ordinateur. Ceci permet d'éviter les partis pris dans la détermination de qui recevra quel médicament.

- **Les essais en double aveugle :** dans le cadre de ces essais, aucun participant ni chercheur ne sait qui reçoit quoi, jusqu'à ce que le dernier participant ait terminé l'essai.

C'est à l'issue de ces essais clinique qu'il est ensuite décidé de la commercialisation ou de l'abandon d'une substance. En oncologie aujourd'hui de nombreux produits prometteurs d'origine naturelle font l'objet de tels essais à des stades plus ou moins avancés (fig.24). Etudiés dans diverses protocoles de chimiothérapie, ces molécules subissent les tests les plus approfondis en matière de toxicologie et d'efficacité. Peut-être parmi elles existe-t-il un candidat potentiellement supérieur aux autres qui pourra se distinguer à l'avenir par un pouvoir cytostatique exceptionnel adaptable à la plupart des protocoles de chimiothérapie.

5. Les molécules anticancéreuses de demain

5.1 Source végétale

Le monde végétal est depuis toujours étroitement lié à celui de la pharmacologie. En cancérologie, les plantes ont régulièrement marqué la découverte d'agents chimiothérapeutiques avec les alcaloïdes de la pervenche, les épipodophyllotoxines, puis les taxoïdes, et plus récemment les dérivés de la camptothécine [85]. Actuellement, d'autres molécules issues d'organismes végétaux semblent présenter un potentiel intéressant et sont actuellement à l'étude. L'homoharringtonine, extraite de l'arbre chinois *Cephalotaxus harringtonia* var. *drupacea*, par exemple, fait partie des substances aux propriétés anticancéreuses intéressantes. L'homoharringtonine a en effet montré une efficacité intéressante contre diverses leucémies. Le flavopiroloquant à lui est un flavonoïde actuellement en essai clinique de phase II contre de nombreuses tumeurs. Même si le flavopiroloquant est totalement synthétique, la base de cette nouvelle structure est un produit naturel isolé de *Dysoxylum binectariferum*. Enfin l'ipomeanol, une molécule produite par la patate douce *Ipomoea batatas* infectée par un champignon du genre *Fusarium* : *Fusarium solani*, fait l'objet d'essais cliniques pour le traitement du cancer du poumon. De nombreux agents dérivés de plantes ont également été testés mais laissés à l'abandon en raison d'une efficacité peu marquée ou d'une toxicité trop importante. C'est le cas de l'acronycine, la bruceantine, la maytansine ou encore la talicarpine.

5.2 Source marine

En partant du principe que les deux tiers du globe sont recouverts par l'océan et grâce aux progrès en matière d'exploration sous-marine, de nombreuses molécules ont pu être isolées d'organismes marins dès les années soixante. Longtemps laissées à l'abandon, elles peuvent aujourd'hui être enfin étudiées depuis l'évolution technologique des techniques d'analyse. La spongorthymidine de l'éponge des Caraïbes *Cryptotheca crypta* (ou *Thetya crypta*), fut l'une des premières molécules prometteuses, découverte dans les années cinquante qui aboutit 15 ans plus tard à la commercialisation d'une spécialité. On commença alors un criblage marin systématique, si bien qu'entre 1977 et 1987 environ 2500 métabolites furent isolés dont certains correspondirent à de nouvelles classes d'antimitotiques encore jamais découvertes dans le milieu terrestre. La plupart d'entre eux sont actuellement en essais cliniques. La substance la plus prometteuse est sans doute la bryostatine I isolée du bryozaire *Bugula neritina*, actuellement en essais de phase II. On peut également citer l'ecteinascidine 743 dérivée de l'ascidie *Ecteinascidia turbinata*, les dolastatines, tetrapeptides de l'aplysie *Dolabella auricularia*, ou l'halichondrine B, un polyether macrocyclique issu de l'éponge *Halicondria okaida*. Malgré un potentiel antinéoplasique intéressant, il arrive malheureusement que certaines molécules soient abandonnées en raison d'une trop grande toxicité : c'est le cas par exemple de la didemnine B isolée de l'ascidie *Trididemnum solidum* longtemps porteuse d'espoir ou plus récemment de la girodazole provenant de l'éponge *Cymbastrella cantharella*.

5.3 Source microbiologique

Le monde microbien a su montrer à maintes reprises une étonnante capacité à produire des substances antitumorales extrêmement efficaces puisqu'il est à l'origine d'un grand nombre de spécialités utilisées en chimiothérapie aujourd'hui. La dactinomycine, la bleomycine et les anthracyclines sont autant de grandes familles médicamenteuses isolées ces dernières décennies de différentes espèces de *Streptomyces*. Actuellement encore de nombreuses substances sont à l'étude clinique et prédominent en nombre la totalité des drogues anticancéreuses en développement. On peut donc énumérer les plus intéressantes d'entre elles : il s'agit de l'activicine, l'aclacinomycine, la deoxyspergualine, l'echinomycine, l'elsametrocine, la fostriecine, le menoguaril, la porfiromycine, la quinocarmycine, la rhizoxine, l'aphidicoline, les dérivés de la quinocarmycine (DX 52-1), de la spicamycine (KRN 5500), de la bizelesine (CC-1065), de la rapamycine, de la rebeccamycine, ou encore la 7-hydroxystaurosporine (UCN-01) isolée là encore d'un *Streptomyces*, enfin le FR 901228 extrait de *Chromobacterium violaceum*. La plus intéressante découverte est récemment celle des épothilones isolées d'une myxobactéries. Ces composés dévoilent un mécanisme d'action similaire aux taxoïdes et sont actuellement étudiés en clinique.

Composé	Source	Essais
Alcool perillyl [86]	Végétale	Cliniques phase I
Bizelesine [87]	Microbienne	Cliniques phase I
Bryostatine I [83]	Marine	Cliniques phase II
Cemadotine	Marine	Cliniques phase II
Col-03 [88]	Microbienne	Précliniques
Deoxycoformycine [89]	Microbienne	Cliniques phase I
Dérivés de la geldanamycine [90]	Microbienne	Précliniques
Dérivés de l'hydroxydopamine [91]	Animale terrestre	Précliniques
Dérivés du 2-Methoxyestradiol [92]	Animale terrestre	Précliniques
Didemmine B	Marine	Abandonnés
Discodermolide [93]	Marine	Cliniques phase I
Dolastatine 10 [83]	Marine	Cliniques phase I
Ecteinascidine 743 [83]	Marine	Cliniques phase I
Eleutherobine [94]	Marine	Précliniques
Epothilone B [95]	Microbienne	Précliniques
Flavopiridol	Végétale	Cliniques phase II
FR 901228	Microbienne	Cliniques phase I
Girodazole	Marine	Abandonnés
Halichondrine B [83]	Marine	Cliniques phase I
Homoharringtonine [96]	Végétale	Cliniques phase II
Iododoxorubicine [97]	Microbienne	Précliniques
Ipoméanol [98]	Végétale	Cliniques phase I
KRN 5500	Microbienne	Cliniques phase I
Rapamycine	Microbienne	Cliniques phase I
Rebeccamycine	Microbienne	Cliniques phase I
Rhizoxine [99]	Microbienne	Cliniques phase I
Squalamine [100]	Marine	Cliniques phase I
Tributyrine [101]	Animale terrestre	Précliniques
UCN-01	Microbienne	Cliniques phase I

Fig.24 Statut et origine des agents antinéoplasiques naturels les plus prometteurs [85,115]

5.4 Les molécules les plus prometteuses

Dans le domaine de la chimiothérapie anticancéreuse, les progrès biologiques et technologiques de cette dernière décennie ont donc permis l'étude de l'efficacité thérapeutique de nombreuses molécules antinéoplasiques prometteuses. Issues souvent d'organismes marins ou de micro-organismes et connues pour certaines depuis longtemps, ces substances révèlent aujourd'hui tout leur potentiel antitumoral et font désormais l'objet d'essais cliniques approfondis. Nous allons donc ici envisager, classées par ordre alphabétique, les principales molécules anticancéreuses d'origine naturelle actuellement à l'étude et susceptibles d'aboutir un jour à de nouvelles spécialités en matière de chimiothérapie.

5.4.1 La bryostatine 1 (*bryozoaire Bugula neritina L.*)

Avec son aspect de petites touffes constituées d'un ensemble de loges calcaires abritant autant d'individus, *Bugula neritina*, un bryozoaire de la classe des Bugulidae que l'on trouve dans les eaux des golfes de Californie, de Mexico et de Sagami (Japon), renferme une série exceptionnelle de molécules antitumorales au mécanisme d'action original : les bryostatines. Après leur découverte en 1968 lors d'une campagne de criblage naturel menée par George R. Pettit au NCI, on commença à isoler et à élucider la structure de chacune d'entre elles. Aujourd'hui on dénombre dix-huit bryostatines numérotées de 1 à 18 [102,103]. La bryostatine 1 qui fut la première étudiée et dont la structure fut déterminée en 1981 (fig.25) fait l'objet, depuis 1996, d'essais cliniques de phases II. La bryostatine 1, comme les autres bryostatines, possède un mécanisme d'action hors du commun qui en fait une substance de grande originalité parmi les molécules anticancéreuses marines [102,104,105]. Elle module en effet l'activité d'un système enzymatique intervenant tant dans la multiplication que dans la différenciation cellulaire : les protéines kinase C (PCK) [102,106,107]. Ces isoformes enzymatiques de type sérine-thréonine kinase interviennent au niveau d'un grand nombre de mécanismes intracellulaires en jouant le rôle de relais après un signal membranaire. Elles régulent alors la transcription de certains gènes et contribuent ainsi à la libération de l'insuline, des hormones de croissance, des hormones lutéinisantes, des hormones thyroïdiennes, de l'histamine, de l'aldostérone ou de certains neuromédiateurs (dopamine, sérotonine). Elles stimulent également les lymphocytes T et B et jouent un rôle prépondérant dans la communication, et le développement cellulaire en permettant sa survie et en empêchant le déclenchement du mécanisme d'apoptose. Or pour être actives la plupart des PCK fixent en certains sites un ester de phorbol : le phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA). La bryostatine 1 intervient alors en antagonisant l'activité de ce phorbol et en régulant ainsi l'activité de la PCK, souvent défective dans les processus tumoraux. En agissant sur l'activation de la PCK, la bryostatine 1 induit ainsi une diminution de la prolifération des cellules ainsi que de leur maturation. En sa présence, les cellules cancéreuses deviennent moins actives et finissent par mourir par une apoptose qui n'est plus contrôlée. Cet effet est de plus associé à une stimulation des défenses immunitaires de l'organisme et d'un développement de l'érythropoïèse avec augmentation de la production de globules rouges. Cette propriété extraordinaire en fait un complément de choix dans les protocoles de chimiothérapie qui dépriment en général l'hématopoïèse, et donc un médicament adapté aux leucémies.

Son activité particulière confère à la bryostatine 1 un ensemble de propriétés uniques. En agissant sur les interleukines II, elle active la production des lymphocytes T et leur différenciation en lymphocytes T cytotoxiques. Au niveau de la moelle osseuse, elle stimule les cellules précurseurs de l'hématopoïèse en augmentant la production de certains facteurs de croissance dont le GM-CSF et améliore ainsi la synthèse des hématies. Lors d'études *in vitro*, cette molécule a démontré qu'elle était capable d'enrayer la croissance de lignées murines de cellules cancéreuses de leucémie P388, de carcinome et de sarcome ovarien. Des effets prometteurs ont ensuite été observés sur des modèles humains de lignées cellulaires de cancer du rein, de leucémie, de mélanome, et de cancer du poumon non-à-petites-cellules. Les essais précliniques se sont ensuite poursuivis *in vivo* sur différentes tumeurs de souris. En 1991, on commença à mettre en place les premiers essais cliniques de phase I aussi bien sur différents types de leucémies que sur des tumeurs solides et selon différents modes d'administration. On constata alors que la toxicité hématologique était faible voire nulle, tandis que la toxicité dose-limitante reposa essentiellement sur des myalgies doses-dépendantes. A l'issue de ces premiers essais, la dose recommandée fut de 25 à 50 $\mu\text{m}/\text{m}^2$ en IV, une à deux fois par semaine. Depuis 1996 désormais, et après des résultats encourageants, la bryostatine 1 subit une série d'essais cliniques de phase II sur de nombreux cancers : cancers de l'ovaire et du rein [108], mélanome [109], lymphome, leucémies [110], gliomes en association à l'aracytine, au cisplatine, aux vinca-alcaloïdes, ou encore aux taxoïdes.

Par son mécanisme d'action particulier et les résultats intéressants obtenus jusqu'alors en expérimentation clinique, la bryostatine 1 est sans conteste la drogue d'origine marine la plus porteuse d'espoir pour les prochaines années. Elle témoigne ainsi de l'incroyable potentiel en matière de substances anticancéreuses que représentent les invertébrés marins.

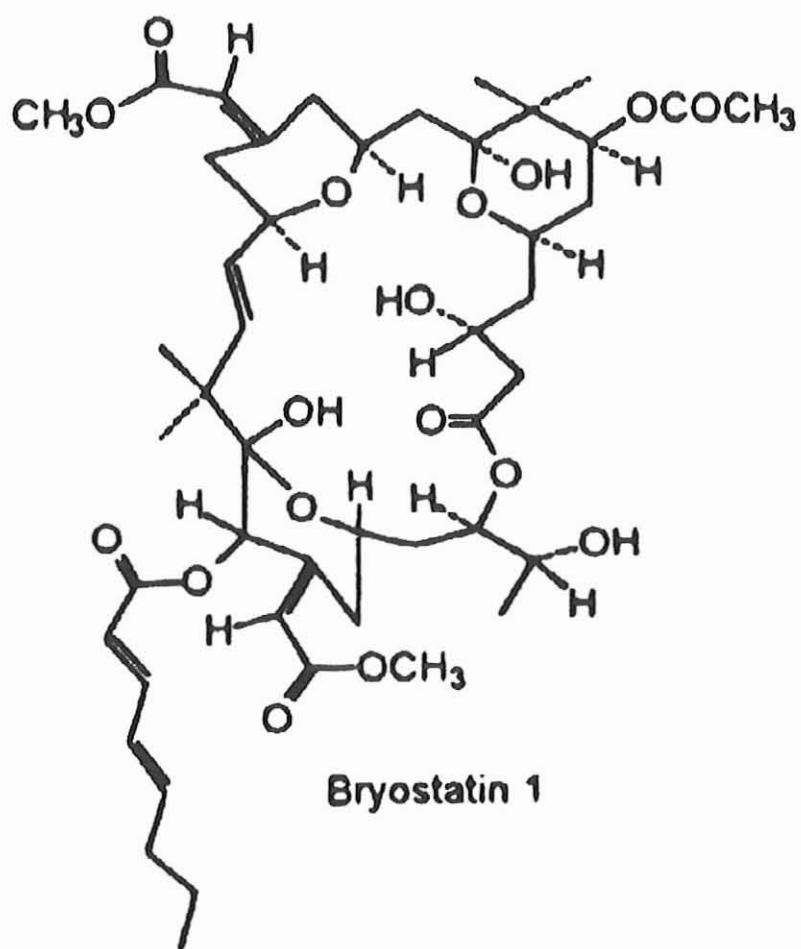


Fig.25 Structure de la bryostatine 1 [102]

5.4.2 Les dolastatines (mollusque (*aplysie*) *Dolabella auricularia*)

Les dolastatines constituent un groupe homogène d'oligopeptides isolés d'un mollusque découvert initialement dans l'Océan Indien : *Dolabella auricularia* [111,115]. La toxicité des extraits de dolastatines est connue depuis longtemps puisque qu'en 54 après J.C. Agrippine s'en servi pour empoisonner l'empereur romain Claude et permettre l'accession au trône de son fils Néron. A la fin des années quatre-vingts, l'équipe de Pettit, qui contribue depuis des dizaines d'années à la découverte de nouveaux cytostatiques naturels, a étudié de nombreux composés extraits de *Dolabella auricularia*, dont deux se sont révélés particulièrement toxiques : les dolastatines 10 et 15. Le premier est un court peptide linéaire de quatre résidus amino-acides dont trois sont uniques (dolavaline, dolaisoleucine, dolaproine) et reliés à un amine complexe, la dolaphénine. La dolastatine 15 quant à elle se différencie de son homologue par un chaînon N-terminal de type dolapyrolidone. La complexité de leur structure (fig.26) et leur faible solubilité dans les milieux aqueux ont conduit les laboratoires Knoll à synthétiser un analogue de la dolastatine 15 : le LU103793 ou cemadotine sous la forme de chlorhydrate.

Les dolastatines sont des inhibiteurs de la polymérisation de la tubuline comme le sont les poisons du fuseau (vinblastine, vincristine...). Des études ont montré que la dolastatine 10 se fixe en fait sur le même site que les vinca-alcaloïdes et entre en compétition avec celle-ci tandis que la dolastatine 15 et la cemadotine se fixent sur un site spécifique sans induire de modification conformationnelle de la tubuline. In vitro la dolastatine 15 et la cemadotine empêchent la polymérisation de la tubuline et induisent une dépolymérisation des microtubules préformés. Leur mode d'action reste ainsi comparable à celui des poisons du fuseau et s'oppose à celui des taxanes (paclitaxel, docétaxel). En enravant ainsi les processus architecturaux et la motilité des cellules, la dolastatine 15 et la cemadotine empêchent la mitose cellulaire [112]. Pour la dolastatine 10 et à des doses élevées l'inhibition de la polymérisation de la tubuline est renforcée par l'inhibition de la fixation du GTP au niveau de la tubuline β , ce qui s'oppose d'autant plus au processus de division cellulaire.

Ainsi, avec leur mécanisme d'action distinct les dolastatines 10 et 15 présentent un profil cytotoxique différent puisque la dolastatine 10 par exemple, est dix fois plus毒 que la dolastatine 15 vis-à-vis des cellules leucémiques humaines de lignées myéloïde HL60 et érythroïde K562. D'une manière plus générale maintenant, le pouvoir cytostatique des dolastatines et de la cemadotine est extrêmement marqué vis-à-vis des cellules lymphoblastiques (lignées DB, HT, RL, SR) et des lignées cellulaires de cancers du sein, de l'ovaire et de l'endomètre. Il est en revanche plus faible sur des lignées de mélanome et de cancer du poumon. Ainsi inhibée, la prolifération cellulaire se voit bloquée en phase G2/M avec le dysfonctionnement du réseau microtubulaire intracellulaire. Enfin les dolastatines semblent, pour certaines lignées cancéreuses, induire directement l'apoptose. C'est le cas pour certaines lignées lymphoblastiques et les cellules de cancer du poumon à-petites-cellules.

Les études précliniques et cliniques se reposent essentiellement sur la cemadotine qui est de loin la molécule la plus attrayante. Sur différents modèles de xénogreffes, des régressions tumorales ont été observées pour les modèles de tumeurs du sein, de l'ovaire, de carcinome épidermoïde, de mélanome ou de leucémie P388. En revanche la cemadotine ne présente pas d'activité sur les lignées de mélanome B16 ni sur les cellules P388 résistantes à l'adriamycine, tandis qu'elle est toujours plus efficace en administration fractionnée. C'est ainsi que plusieurs études de phase I ont été initiées aux Etats-Unis et en Europe selon des modes d'administration variables de cemadotine [113,114]. Ces différents protocoles vont à chaque fois déterminer la dose toxique limitante (DLT), la dose recommandée et la dose maximale tolérée (MTD). Les effets secondaires impliquent principalement une toxicité cardio-vasculaire au mécanisme peu connu allant de l'hypertension artérielle à l'infarctus du myocarde pour certains modes d'administration (1 bolus par semaine tous les 21 jours) ainsi qu'une neutropénie significative et une toxicité hépatique aiguë mais réversible. On rencontre également les effets secondaires classiques de la chimiothérapie conventionnelle : nausée, oedèmes, vomissements... Contrairement aux vinca-alcaloïdes, la cemadotine n'engendre pas de neurotoxicité. La neutropénie représente en général la principale toxicité des drogues qui agissent sur la tubuline et la cemadotine ne déroge pas à la règle, avec en plus une cardiotoxicité rare pour un antimitotique surtout en cas de perfusion courte.

Pour l'ensemble des essais cliniques portant sur la cemadotine, les réponses objectives sont relativement peu nombreuses. Dans le premier essai de phase II, proposé dans les cancers du sein localement avancés et métastatiques en troisième ligne thérapeutique, aucune toxicité majeure n'a été observée mais il n'y a pas eu non plus de réponse objective, mais des stabilisations de la pathologie. D'autres études de phases II américaines et européennes sont actuellement en cours dans les cancers du côlon, de l'ovaire, de la prostate, du poumon et dans le mélanome. Pour limiter la cardiotoxicité, on administre la cemadotine par petites doses répétitives selon un mode d'administration où la neutropénie est la principale toxicité. En définitive depuis une dizaine d'années, les dolastatines suscitent un intérêt croissant en oncologie du fait de leur pouvoir cytostatique exceptionnel *in vitro*. Mais après des essais précliniques encourageants, l'activité antitumorale du composé LU103793 ou cemadotine reste pour le moment assez discrète au vu des premiers essais de phase II.

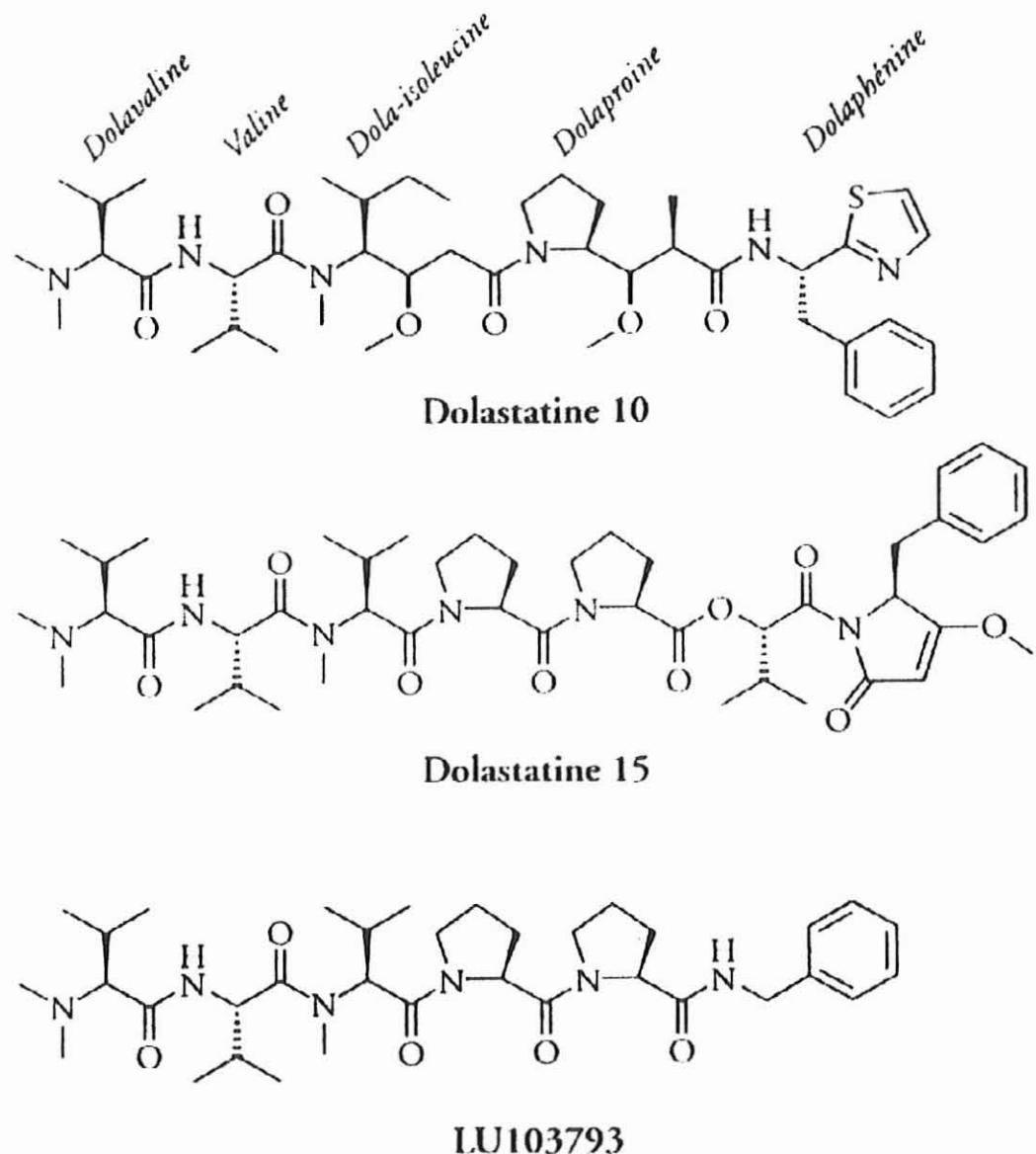


Fig.26 Structures des dolastatines 10 et 15 et de la cemadotine [111]

5.4.3 L'ecteinascidine 743 (tunicier (ascidie) *Ecteinascidia turbinata*)

L'ecteinascidine 743 (NSC 648766 ou Et 743) est une molécule naturelle qui présente une cytotoxicité à l'égard de nombreuses lignées de cellules cancéreuses [116]. Elle est issue d'un organisme marin de la famille des tuniciers : *Ecteinascidia turbinata*. Découverte dans les années soixante lors des campagnes de criblage organisées par le NCI, ce n'est qu'en 1986 que cette molécule est finalement isolée à l'état pur. La collecte de tuniciers en mer des Caraïbes en 1991 permet l'isolement et la purification des ecteinascidines 722, 729 et 743, mais l'Et 743 reste la substance à l'efficacité la plus marquée.

La structure de la molécule reste relativement complexe (fig.27) : parmi les trois parties tétrahydro-quinoléique A, B, C, les unités A et B perpendiculaires l'une par rapport à l'autre, délimitent un coude rigide contenant une fonction carbinolamide réactive. L'unité C quant à elle confère à la molécule une forme compacte. Cette armature lui permet d'être active au niveau des résidus guanine de l'ADN en tant qu'agent alkylant. Son action reste néanmoins différente des alkylants classiques (cis-platine, moutardes azotées, nitroso-urées) puisque l'ecteinascidine 743 réagit avec le groupement amino-exocyclique de la guanine responsable de la liaison hydrogène dans le petit sillon de l'ADN. Chimiquement, il s'agit d'une attaque nucléophile lente nécessitant au préalable la formation d'un ion iminium intermédiaire par la déshydratation de la fonction carbinolamine suite à l'activation de cette fonction par le proton de l'atome N₁₂ voisin. Cette réaction a lieu lorsque la molécule est ancrée dans le petit sillon de la double hélice. Pour être ainsi attaqué l'ADN doit être double brin, et selon ses séquences l'Et 743 sera plus ou moins réactive. Ainsi les triplets les plus réactifs vis-à-vis de l'ecteinascidine sont 5'-AGC et 5'-CGG. Lorsqu'elle se fixe sur le double brin d'ADN, la molécule médicamenteuse recouvre trois ou quatre paires de bases par l'intermédiaire des unités A et B. La partie C orientée perpendiculairement semble, elle, jouer un rôle au niveau tissulaire ou cellulaire. Ainsi stabilisé l'acide nucléique ne peut fixer certains facteurs de transcription, tandis que l'assemblage des nucléosomes est fortement affecté. De ce fait l'Et 743 se distingue par un mécanisme d'action original des autres agents alkylants qui, eux, réagissent avec l'atome N₇ de la guanine situé dans le grand sillon de l'ADN.

In vitro, l'ecteinascidine a tout d'abord démontré son activité à l'encontre de cellules cancéreuses humaines de l'ovaire, du côlon, du poumon, du rein, du mélanome, du sein. L'exposition prolongée à l'Et 743 semble augmenter son activité particulièrement sur les cellules de cancer de l'ovaire. La molécule présente également une activité antitumorale sur les explants de tumeurs solides, plus importante sur les tumeurs du sein et du mélanome que sur les tumeurs du poumon. Finalement, dans un modèle de xenogreffe de cancer de l'ovaire, l'Et 743 se révèle être d'efficacité au moins égale au médicament de référence : le cisplatine. Sur l'animal, la sensibilité semble supérieure chez les rongeurs par rapport aux mammifères et la toxicité de la substance reste essentiellement hématologique et hépatique. Ainsi des études avancées chez la souris ont permis de déterminer la pharmacocinétique du médicament.

Depuis peu, l'ecteinascidine fait désormais l'objet d'essais cliniques puisque trois études multicentriques de phase I ont été commencées. On administre alors l'Et 743 chez des patients présentant différents types de cancers réfractaires à une chimiothérapie classique, et selon plusieurs modes d'administration [117,118]. Même si les doses maximales tolérées semblent être assez élevées, la molécule provoque une cytolysé hépatique réversible et une modification des transaminases à partir de $600 \mu\text{g}/\text{m}^2$. Cette toxicité ne s'accentue pas avec l'augmentation des doses. A $1500 \mu\text{g}/\text{m}^2$, apparaissent les nausées et vomissement ainsi qu'une neutropénie. Parallèlement aux études toxicologiques on détermine les paramètres pharmacocinétiques de la molécule : concentrations maximales (de $50 \mu\text{g}/\text{m}^2$ à $585 \mu\text{m}/\text{m}^2$ pour une perfusion IV de 1 h et de $50 \mu\text{m}/\text{m}^2$ à $2000 \mu\text{m}/\text{m}^2$ pour une perfusion de 24 h) et clairance ($600 \text{ ml}/\text{min}/\text{m}^2$).

Aujourd'hui l'Et 743 continue à être étudiée par des essais poussés et fait ainsi partie, par son spectre d'activité original, de cette grande famille des substances chimiothérapeutiques prometteuses issues de la faune et de la flore aquatique.

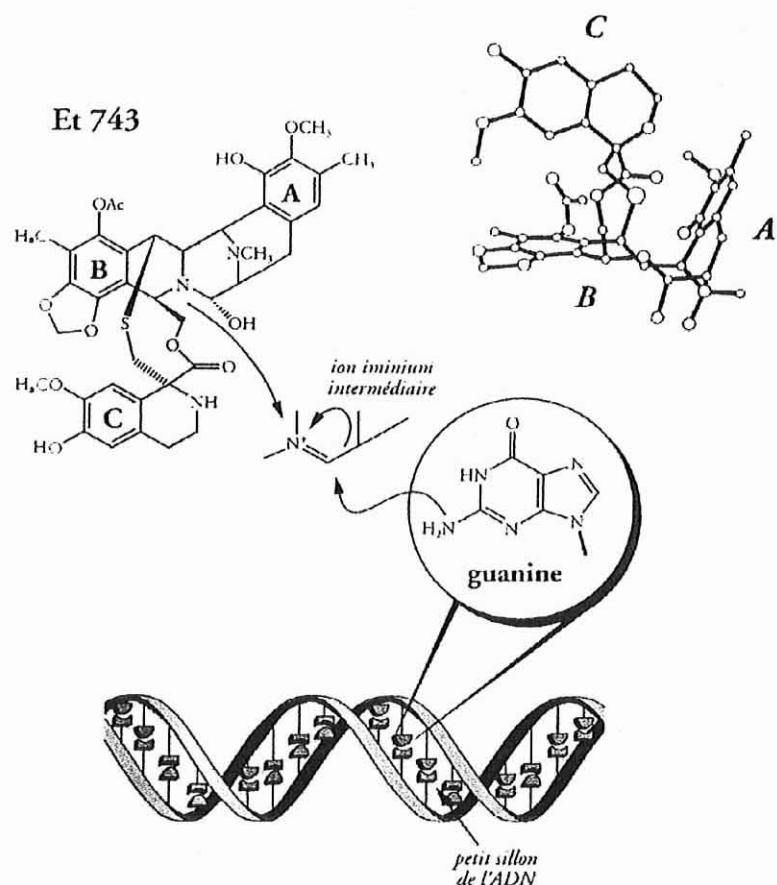


Fig. 27 Structure et mode d'action de l'ecteinascidine 743 [116]

5.4.4 Le flavopiridol (*Plante Dysoxylum binectariferum*)

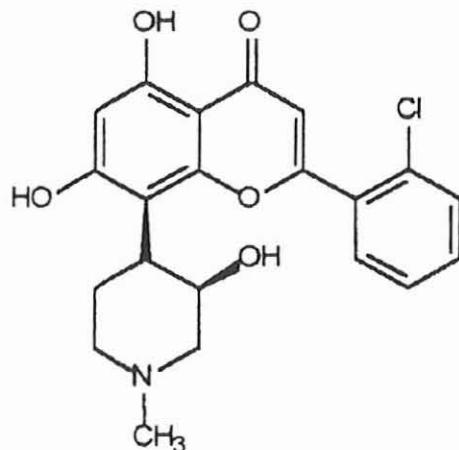
Le flavopiridol est un dérivé synthétique flavonoïde (fig.28) dont la structure est totalement originale comparée aux flavones polyhydroxylées telles que la quercitine ou la genistéine. Son agencement chimique dérive d'un produit naturel isolé d'une plante indigène indienne : *Dysoxylum binectariferum* [115]. Le flavopiridol qui s'en inspire donc est actuellement à l'étude en collaboration avec Hoechst Marion Roussel.

Depuis quelques temps, l'altération du cycle cellulaire et le blocage de ses mécanismes de régulation, voire le retour à un état G0, représentent une approche stratégique du traitement du cancer tout à fait digne d'intérêt et ouvre la voie à de nouvelles cibles cellulaires en matière d'activité antitumorale. Aussi, l'action du flavopiridol s'explique-t-elle par une stabilisation du cycle cellulaire en phase G1 ou G2 résultant de l'inhibition de différentes kinases cycline-dépendantes (cyclin-dependent kinases ou CDK) qui contrôlent la progression du cycle cellulaire tout au long de celui-ci [119]. Leur altération fréquente dans les tumeurs humaines en font des cibles de choix dans la recherche de nouveaux agents antinéoplasiques. Les CDK défectueuses en effet peuvent conduire à long terme à la formation de cellules polyploïdes qui perdent ensuite une partie de leur matériel génétique pour devenir malignes. Or les études ont montré que l'utilisation d'inhibiteurs de CDK prévenait ce comportement, le soignait en provoquant l'apoptose, inhibait l'angiogénèse tumorale et stabilisait le nombre de chromosomes. Ainsi pour empêcher le passage de la cellule de la phase G1 à la phase S, le flavopiridol agit en inhibant les activités des complexes CDK2-cycline A et CDK4-cycline D. En revanche pour stabiliser cette fois-ci la cellule en phase mitotique G2 et s'opposer ainsi à son entrée en phase M et entamer sa mitose, la molécule altérerait la phosphorylation de la CDK1 en diminuant de telle manière son activité, et inhiberait également le complexe CDK1-cycline B [120]. Le flavopiridol se fixe pour cela sur des sites à ATP directement inhibiteurs dont la variété témoigne d'un certain nombre de substrats dont un grand nombre de molécules naturelles à l'étude comme la butyrolactone, les dérivés de la staurosporine (comme l'UCN-01) ou les récentes paullones [121]. La molécule s'oppose ainsi à la prolifération de cellules cancéreuses à des concentrations qui se révèlent non toxiques pour les cellules saines contiguës.

Les études in vitro portant sur des lignées cellulaires de cancers du poumon non-à-petites-cellules et à-petites-cellules, ainsi que sur des cellules cancéreuses du sein ont tout d'abord révélé une IC₅₀ (concentration nécessaire pour inhiber 50% des cellules cancéreuses) de 25 à 150 nmol/l. Les recherches furent ensuite menées in vivo sur des modèles de xénogreffes de cellules tumorales humaines du poumon, du côlon, de l'estomac, du cerveau, du rein et mammaires. Bien que l'inhibition de la prolifération cellulaire ne demeure pas à long terme, la durée de cette inhibition apparaît comme étant proportionnelle à la durée d'exposition de la substance. Les toxicités doses-limitantes majeures du flavopiridol chez le rat et le chien beagle furent essentiellement gastro-intestinales et hématologiques.

Les essais cliniques de phase I confirmèrent ensuite l'activité du flavopiridol, particulièrement dans les cancer colo-rectal, gastrique, rénal et dans le lymphome non hodgkinien, ainsi que l'ensemble des toxicités déjà observées chez les modèles animaux. L'administration continue de flavopiridol pendant 72 heures toutes les 2 semaines révéla des signes essentiellement gastro-intestinaux avec une diarrhée importante en début d'administration, mais qui disparaît ensuite. Les essais de phase II sont aujourd'hui en cours contre un grand nombre de tumeurs, essentiellement dans le cancer du rein [122], ou le cancer colo-rectal métastatique [123]. Le flavopiridol est alors administré seul ou en association avec d'autres agents cytotoxiques. D'autres effets indésirables ont dès lors pu être mis en évidence comme une asthénie ou des accidents thrombotiques.

Le flavopiridol, alors que bon nombre de molécules prometteuses sont d'origine marine ou microbienne, est une des rares substances de source végétale suscitant l'intérêt, particulièrement par une toxicité relativement limitée et par un mécanisme d'action extrêmement novateur qui bloque le cycle cellulaire tout en préservant le patrimoine génétique ce qui laisse envisager une éventuelle utilisation préventive et peut être même le développement d'une nouvelle classe d'antinéoplasiques : les inhibiteurs des CDK.



Flavopiridol

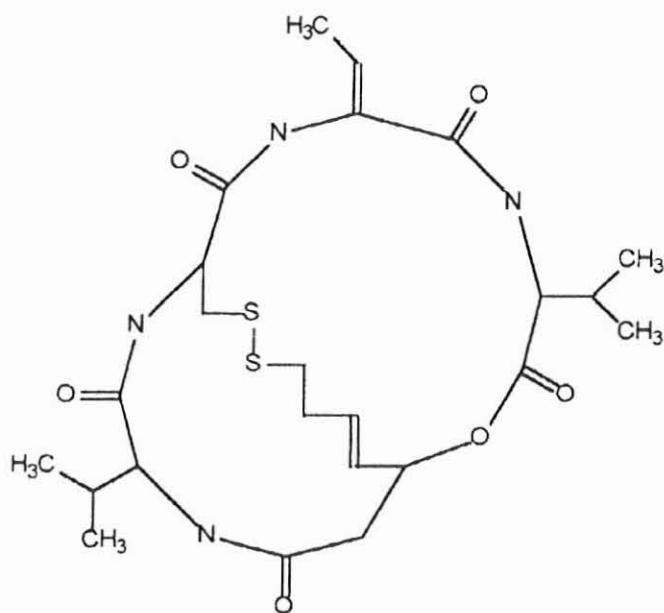
Fig.28 Structure du flavopiridol [115]

5.4.5 Le FR 901228 (*Bactérie Chromobactérium violaceum*)

Le depsipeptide ou FR 901228 (fig.29) est un nouvel agent antitumoral isolé récemment de la souche WB 968 de *Chromobactérium violaceum* par Fujisawa Pharmaceutical Co, Ltd avec lequel le NCI collabore [115]. L'exposition continue de FR 901228 *in vitro* inhibe le développement de cellules de lignée NIH3T3 au gène Ha-ras transformé, avec blocage en phase G1 du cycle cellulaire, en faisant revenir les cellules tumorales transformées à une morphologie normale.

Les analyses ont démontré que le depsipeptide (ou FR 901228) amplifie l'activité de transcription du promoteur viral SV40 et réduit l'expression de l'ARNm du protooncogène *c-myc* mais pas celle des ARNm de Ha-ras et de la β -actine. Ces effets sur l'expression de *c-myc* diminuent l'expression du ligand *Fas* qui intervient en général dans le mécanisme d'apoptose, provoquant ainsi les changements de cycle et de morphologie cellulaire [124]. Les études approfondies menées ensuite sur l'effet précis du FR 901228 sur le cycle cellulaire, sur la structure de la chromatine et sur l'acétylation des histones ont montré que le FR 901228 était en fait capable d'arrêter le cycle cellulaire en phase G1 et G2 par inhibition d'une enzyme agissant sur les histones cellulaires et par cela sur la bonne stabilisation de la chromatine : l'histone-déacetylase [125]. Le FR 901228 développe ainsi une cytotoxicité potentielle contre de nombreuses lignées de cellules tumorales *in vitro*, et contre des xénogreffes tumorales d'adénocarcinomes du côlon, du sein ou du poumon chez des souris nudes. Les effets anticancéreux et la toxicité du FR 901228 dépendent du programme d'administration. Sur un modèle de souris *in vivo*, le FR 901228 est plus actifs sur des cellules leucémiques P388 résistant à la mitomycine C, au cyclophosphamide, à la vincristine, au 5FU que ces mêmes cellules non résistantes.

Après avoir subi un certain nombre de tests précliniques, le FR 901228 fait aujourd'hui l'objet d'essais cliniques de phase I. Les premières données toxicologiques font état d'une neutropénie, d'une thrombocytopenie, d'une hypocalcémie, d'une fièvre et d'une asthénie [126]. L'inhibition de l'histone-déacetylase constitue donc un nouveau mécanisme d'action exploitable pour la destruction de la cellule cancéreuse. Cette propriété originale se rencontre d'ailleurs chez d'autres molécules comme la trichostatine A ou l'oxamflatine. Il reste à savoir si l'histone-déacetylase est réellement la principale cible du FR 901228 et si son inhibition suffit à expliquer les profondes modifications phénotypiques induites par l'exposition à la molécule.



FR901228

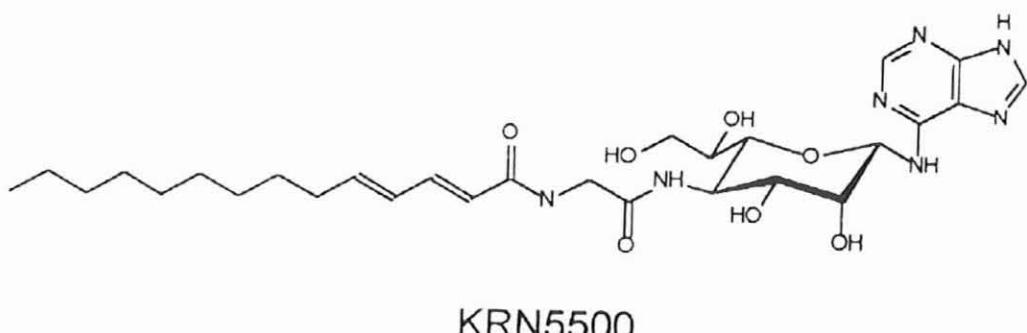
Fig.29 Structure du FR 901228 [115]

5.4.6 Le KRN 5500 (Bactérie *Streptomyces alanosinicus*)

Les spicamycines forment un groupe d'antibiotiques antitumoraux issu, ici encore, d'une espèce bactérienne : *Streptomyces alanosinicus* [115]. C'est à partir de la culture de cette bactérie que les chercheurs du Kirin Brewery Ltd en association avec le NCI ont isolé, lors de criblage pour la recherche de nouvelles substances anticancéreuses, cette famille de molécules réputées alors pour induire la différenciation des cellules de leucémie myéloïde. La structure chimique des spicamycines est particulièrement originale (fig.30) : il s'agit d'un aminoheptose atypique lié à une adénine, une glycine, ainsi qu'une chaîne variable de type alkyl-acyl. Après avoir étudié en profondeur les relations structure-activité de cet ensemble de molécules, on conclut que le dérivé hémisynthétique KRN 5500 était celui qui présentait l'indice thérapeutique le plus élevé à l'encontre de xénogreffes de tumeurs humaines de l'estomac (SC-9) et du côlon (COL-1).

Aujourd'hui encore le mécanisme d'action précis du KRN 5500 n'est pas encore parfaitement élucidé. Il semblerait, selon les études menées sur des cellules leucémiques de lignée P388, que ce produit inhiberait essentiellement la synthèse protéique plutôt que d'agir sur celle des acides nucléiques. Les premiers essais par exposition de cellules au KRN 5500 ont montré que la modulation de l'expression des glycoprotéines P, responsables de phénomènes de résistance, était importante pour l'activité de la molécule. La désacylation intracellulaire du KRN 5500, constatée *in vitro*, pour former le métabolite SAN-Gly demeure fondamentale pour obtenir l'effet thérapeutique : sur un système de cellules libres, le KRN 5500 est inactif tandis que le SAN-Gly conserve son activité. Toutefois, parallèlement à cette action métabolite, l'activité du KRN 5500 dépend également de l'existence de sa chaîne alkyl-acyl, puisqu'en présence des deux produits les cellules P388 incorporent 500 fois plus de KRN 5500 que de SAN-Gly dépourvu de cette chaîne. On observe de plus que le KRN 5500 a réellement une action sur plusieurs lignées cellulaires de leucémie myéloïde ou lymphoïde avec une induction de l'apoptose des différentes cellules due à la régulation négative de l'expression du gène *bcl-2* et la modulation de protéines de lignées leucémiques (promyelocytic leukemia protein ou PML) [127]. G1 reste alors la phase cellulaire lors de laquelle l'apoptose est le plus souvent induite [128].

Le KRN 5500 révèle *in vitro* un effet thérapeutique à des concentrations très faibles vis-à-vis de cellules tumorales du côlon, de l'ovaire, du poumon, du rein. L'indice IC_{50} est alors de l'ordre de 1,5 $\mu\text{mol/l}$ et on observe également une synergie d'action en association avec le cisplatine et ses dérivés, le carboplatine et l'étoposide sur des cellules de cancer du poumon non-à-petites-cellules [129]. Le modèle d'activité observé sur des lignées cellulaires du NCI est totalement unique ce qui sous-entend que le mécanisme d'action n'est pas encore parfaitement établi. *In vivo*, la molécule agit sur des xénogreffes tumorales de l'estomac, de l'œsophage, du poumon, du côlon, du sein lorsqu'elle est administrée quotidiennement en IV pendant 5 jours. Son activité s'étend également aux administrations intra-péritonéales, sur des xénogreffes sous-cutanées Colo-205 et OVCAR-5. En essais précliniques, les principales toxicités sont gastro-intestinales et hématologiques, mais on observe également une vacuolisation hépatique, une atrophie des organes génitaux, une hématurie, une altération des lipides sériques, des transaminases, et des paramètres de coagulation. Les essais de phase I sont actuellement en cours au Japon en administration unique de 2 heures tous les mois et aux Etats-Unis en administration quotidienne sur 5 jours tous les 21 jours pour soigner des tumeurs solides de l'estomac, du côlon et du poumon [130]. On cherche également à limiter les trop nombreux effets toxiques du KRN 5500 en l'incorporant par exemple dans un système micellaire polymérisé [131].



KRN5500

Fig.30 Structure du KRN 5500 [115]

5.4.7 La rapamycine (*Bactérie Streptomyces hygroscopicus*)

Le Sirolimus ou rapamycine est un macrolide chimiquement proche de la ciclosporine et du tacrolimus (fig.32). Isolée de *Streptomyces hygroscopicus* il y a bientôt trente ans, cette molécule fut initialement identifiée comme agent antifongique, avant d'être plus tard commercialisée comme substance immunosuppressive utilisable dans le traitement du rejet de greffe d'organe [115,132]. Depuis quelques années maintenant on connaît son potentiel antitumoral sur différents modèles cellulaires. On sait ainsi que la rapamycine inhibe *in vitro* la croissance de plusieurs lignées antitumorales humaines, particulièrement d'ostéosarcomes, de rhabdomyosarcomes, de cancers bronchiques à-petites-cellules, d'hépatomes, et de cancers du sein hormonodépendants. Ces effets ont ensuite été confirmés *in vivo* sur des modèles de xénogreffes de tumeurs humaines chez la souris nude, en phase G1 du cycle cellulaire. Satisfaits de leurs analyses, les chercheurs orientèrent ensuite leur travail vers le développement de molécules analogues tels que le CCI-779 témoignant quant à lui d'une activité antiproliférative marquée mais d'un effet immunosupresseur limité.

La rapamycine agit en fait comme une prodrogue puisque son activité intracellulaire nécessite préalablement sa fixation à une immunophiline FKBP12. Le complexe ainsi formé est très stable et assure donc l'effet thérapeutique pendant plusieurs heures ce qui induit la possibilité de recourir à des administrations discontinues. On a mis en évidence une cible spécifique de la rapamycine, il s'agit d'une sérine-thréonine kinase de type phosphatidyl inositol kinase : la protéine mTOR (fig.31). Activée par un grand nombre de facteurs de croissance et particulièrement les interleukines 2, 4 et 6, l'insuline et l'insulin-like growth factor 1, elle intervient en temps normal dans l'initiation de la traduction d'un grand nombre d'ARNm par deux voies distinctes en phosphorylant les protéines 4E-BP1 et p70/S6 kinase. En revanche les facteurs protéiques activés en amont de mTOR sont moins bien connus : une isoforme de la p85/PI3 kinase y serait impliquée. Il reste encore à approfondir les mécanismes exacts par lesquels mTOR contrôle le passage de la phase G1 à la phase S du cycle cellulaire ainsi que les autres cibles cellulaires de la rapamycine. On a en effet montré sur différentes cultures cellulaires que la rapamycine était capable d'accélérer la dégradation de cycline D₁ ou même d'induire l'accumulation de l'inhibiteur de cycline p27^{kip1}. On a également mis en évidence l'existence d'une activité pro-apoptotique qui dépendrait également de l'inhibition de mTOR. Il reste désormais à déterminer précisément la sensibilité des tumeurs à cette molécule selon l'expression ou au contraire la répression de certains gènes.

Les données cliniques actuelles concernent essentiellement la rapamycine en tant qu'agent immunosupresseur, associée ou non à la ciclosporine. Elle est administrée par voie orale et métabolisée par le cytochrome P450 3A en plusieurs métabolites inactifs. En phase II, la dose recommandée est de 7 mg/m²/j. On observe alors une toxicité hématologique dose-dépendante souvent asymptomatique et portant principalement sur les plaquettes, ainsi qu'une forte augmentation des taux de cholestérol et de triglycérides.

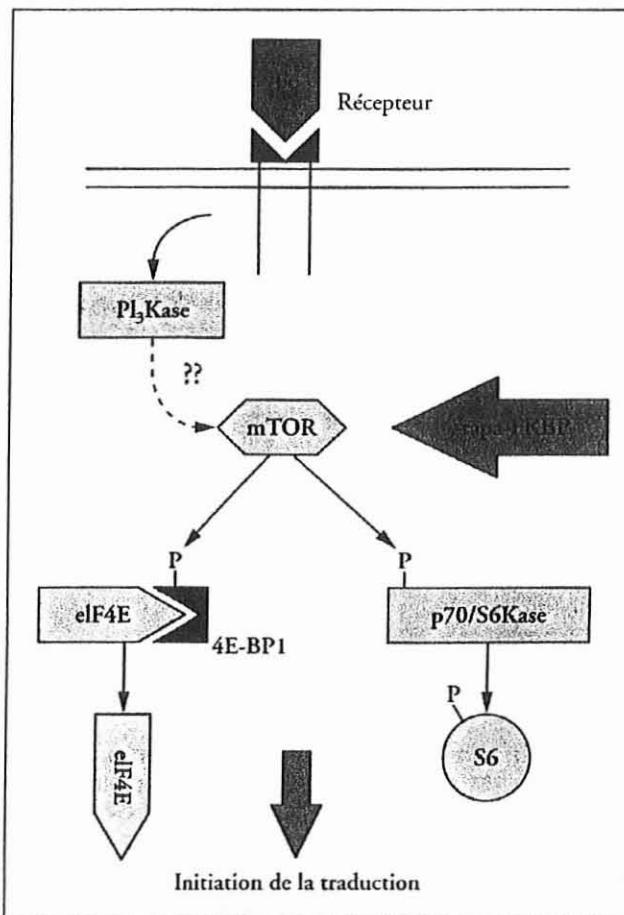


Figure 2. Voie de transduction impliquant mTOR. Fc: facteur de croissance; PI₃Kase: phosphatidyl inositol 3 kinase; mTOR: *mammalian target of rapamycin*; rapa: rapamycine; FKBP: FK506 binding protein; p70/S6Kase: kinase de la protéine ribosomique S6; eIF4E: facteur d'initiation eucaryote 4E; 4E-BP1: eIF4E binding protein.

Fig.31 Mécanisme d'action de la rapamycine [132]

Comme la molécule est peu soluble il est très difficile d'utiliser une forme parentérale de la rapamycine. Pour remédier à cet inconvénient des analogues dont les propriétés physico-chimiques permettent aisément une administration IV ont été développés. Le CCI-779 évoqué précédemment est un de ceux-ci. Il présente une activité sur différents modèles de xénogreffes de tumeurs humaines à des souris nudes, particulièrement pour des glioblastomes, médulloblastomes, et carcinomes prostatiques, pancréatiques ou du sein. On ne sait encore si le mécanisme d'action du CCI-779 correspond exactement à celui de la rapamycine, même si la fixation à la FKBP12 reste ici encore une étape indispensable à son action. Des essais cliniques de phase I sont actuellement en cours en France et aux Etats-Unis et on sait désormais que les effets immunosuppresseurs disparaissent au bout de 24 heures d'administration.

La rapamycine et ses dérivés représentent donc un ensemble de molécules intéressantes au mécanisme d'action original et au profil de toxicité favorable.

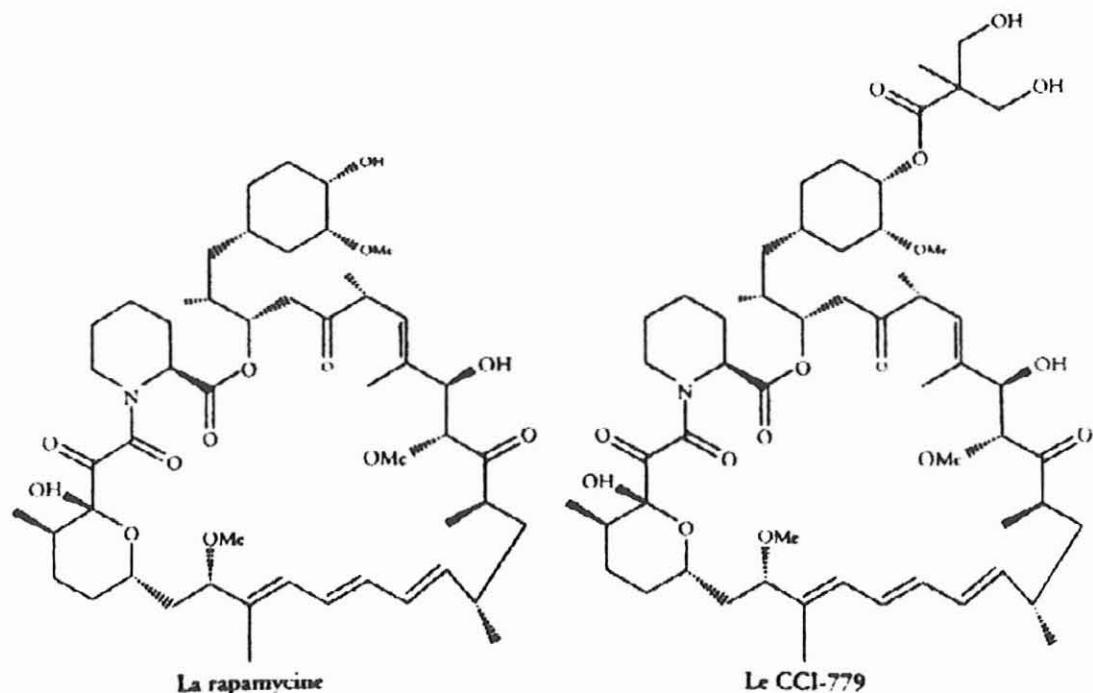


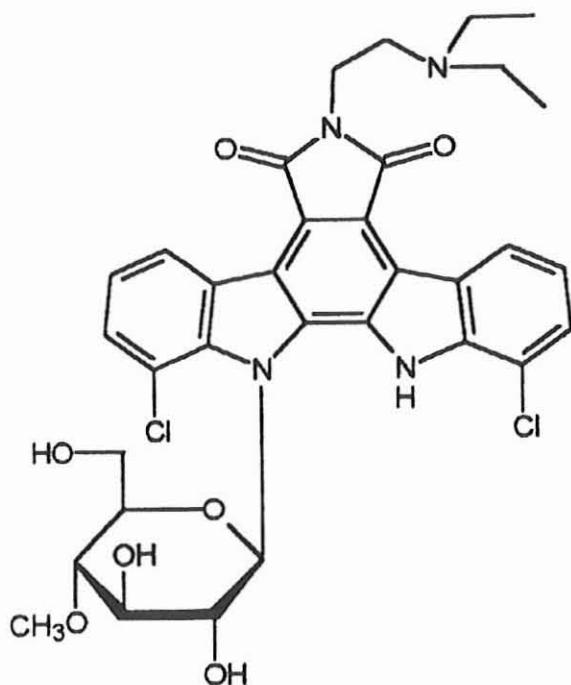
Fig.32 Structures de la rapamycine et du CCI-779 [132]

*5.4.8 La rebeccamycine (Bactérie *Saccharothrix aerocoligenes*)*

La rebeccamycine est un antibiotique antitumoral de type indocarbazole isolé de l'actinomycète *Saccharothrix aerocoligenes* [115]. Sa faible solubilité dans l'eau a conduit le laboratoire Bristol-Myers Squibb à synthétiser un dérivé hydrosoluble : le tartrate de rebeccamycine ou NSC 655649 (fig.33). Ainsi, la rebeccamycine et ses analogues sont des agents intercalants potentiels qui présentent également un effet inhibiteur à l'encontre des deux types de topo-isomérases : les topo-isomérases I et II. A la différence des autres inhibiteurs de la topo-isomérase II qui stabilisent le complexe enzymatique tertiaire formé avec l'ADN, la rebeccamycine agit en inhibant l'activité catalytique de l'enzyme qui permet la modulation des brins d'ADN. Vis à vis de la topo-isomérase I maintenant, l'activité est très marquée puisque la rebeccamycine stabilise le complexe formé par l'enzyme et l'ADN clivé, tout comme le font également la camptothécine et ses dérivés [133]. A l'instar de la bryostatine 1 et de l'UCN-01, la rebeccamycine exerce également un effet stabilisateur sur les PCK. Pour exercer son action, elle possède une structure proche de celle déjà rencontrée chez les anthracyclines : une structure plane polycyclique capable de s'insérer entre les paires de bases munie d'un ose latéral stabilisant la molécule et lui permettant d'interagir avec l'acide nucléique, il s'agit ici d'un glucose. Le tartrate de rebeccamycine présente également une activité antimicrobienne vis à vis de deux bactéries Gram positif : *Bacillus cereus* et *Streptomyces chartreusis* ainsi que sur une bactérie Gram négatif : *Escherichia coli*. On observe également un effet à l'encontre de la levure *Candida albicans* et du virus HIV-1 [134].

In vivo, le tartrate de rebeccamycine a démontré une activité antitumorale contre un grand nombre de modèles tumoraux comme la leucémie P388 murine, le mélanome B-16, le sarcome M5076, le carcinome pulmonaire M109, ainsi qu'à l'encontre de modèles résistant à l'étoposide après diminution de l'action sur la topo-isomérase II. Néanmoins quelques cas de résistances croisées sont à noter sur des modèles cellulaires qui augmentent leur expression de glycoprotéine P pour accentuer l'efflux médicamenteux hors de la cellule. En revanche l'activité augmente lors d'administrations répétées. Sur l'animal, les études de toxicité ont révélé une myelosuppression, une augmentation des enzymes hépatiques et rénales, du cholestérol, des triglycérides et des protéines. On note également une nécrose hépatocellulaire, une hyperplasie de la vésicule biliaire, une hyperplasie lymphoïde, des œdèmes et hémorragies pulmonaires, une déplétion de la moelle osseuse, ou une nécrose locale au site d'injection.

Les premiers essais cliniques de phase I du NSC 655649 ont commencé chez des adultes et des enfants selon un schéma d'administration en simple bolus d'une heure tous les 21 jours [135], ou en administration quotidienne sur cinq jours selon des cycles de 21 jours également [136]. Les données pharmacocinétiques ont ainsi pu être établies avec en particulier une longue demi-vie de près de 35 heures ainsi qu'une toxicité dose-limitante principalement hématologique avec thrombocytopénie et neutropénie. Lors du schéma d'administration de 60 minutes, la doses recommandée lors des essais de phase II a été établie à $585 \text{ mg/m}^2/\text{jour}$, cette même dose selon le second mode d'administration et chez l'adulte s'élève à $141 \text{ mg/m}^2/\text{jour}$. La rebeccamycine représente, là encore, une molécule intéressante. La recherche de ses dérivés a finalement conduit à l'obtention de nombreux analogues extrêmement actifs dont le NSC 655649 fait partie. Parmi les transformations chimiques apportées à la rebeccamycine, on peut par exemple citer l'incorporation d'un substituant bromo-acétyl, N-methyl imide ou N-methyl amide [137], ou le remplacement du glucose latéral par un 2'-aminoglucose même si cette dernière modification ne semble pas constituer un réel progrès [138].



Rebeccamycin Analogue

Fig.33 Structure de la rebeccamycine [134]

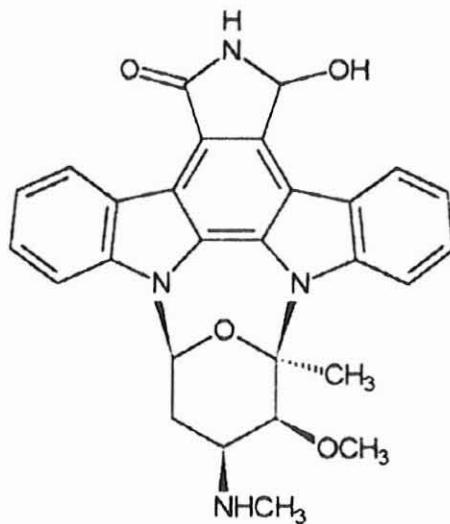
5.4.9 L'UCN-01 (Bactérie *Streptomyces* N-126)

La 7-hydroxystaurosporine (fig.34) également appelée UCN-01 par les chercheurs, est un analogue de la staurosporine isolée de l'espèce N-126 de *Streptomyces* par Kyowa Hakko Kogyo Co, Ltd, centre japonais d'études cancéreuses travaillant en collaboration avec le NCI [115]. Face à son potentiel antitumoral séduisant, les chercheurs décidèrent d'étudier son mécanisme d'action.

Le mécanisme d'action de l'UCN-01 est extrêmement complexe et n'est pas encore précisément élucidé. On a d'abord découvert que l'action de l'UCN-01 résultait, tout comme pour la bryostatine 1, d'une modulation de l'activité de certaines isoformes de protéines-kinases C ou PCK [139]. Or, si la bryostatine 1 agit comme un simple régulateur de PCK, l'UCN-01, lui, inhibe directement ces enzymes. Ce composé se révéla en fait comme étant un antagoniste potentiel et sélectif des isoenzymes α , β et γ de PCK, avec une activité légère sur les isoenzymes σ et ϵ et aucune sur l'isoforme PCK ζ . Par cette spécificité d'action, l'UCN-01 diffère de la staurosporine par le fait qu'elle bloque le cycle cellulaire en phase G1 tandis que la staurosporine empêche le passage de G2 à M. Or, l'UCN-01, tout comme le flavopiridol est également un inhibiteur de kinases cylines-dépendantes CDK cdc2 et à un niveau plus faible cdk2 ce qui provoque une diminution du nombre de cellules en phase G2 proportionnellement à l'augmentation de cellules en phase G1/S. Ces effets semblent coïncider avec l'induction d'une apoptose cellulaire. En définitive, il apparaît donc que l'inhibition des PCK seule ne suffit pas à expliquer l'activité de la molécule, et que la modulation de l'activité des cdc2 est corrélée à l'inhibition de la prolifération cellulaire et associé à l'apoptose observée lors de l'exposition au UCN-01. Plus récemment il fut démontré que UCN-01 est l'une des molécules inhibitrice des éléments de contrôle de phase G2 les plus puissantes, particulièrement à l'encontre de cellules avec une protéine p53 perturbée. Cette protéine p53 joue en effet un rôle essentiel en cancérologie puisque produite à partir de l'anti-oncogène p53, elle permet de stopper transitoirement le fonctionnement des cellules dont le génome est altéré, et de limiter ainsi le processus tumoral. L'abrogation du contrôle de la phase G2 par UCN-01 a ainsi été associée à l'inhibition de la phosphorylation de la cdc2-tyrosine et donc l'inactivation de la kinase cdc2.

In vitro, l'UCN-01 a dévoilé son activité antitumorale vis à vis de différentes lignées murines et humaines de cellules cancéreuses. L'évaluation de son action sur cinq lignées cancéreuses de carcinome du sein ont révélé différentes sensibilités pour maintenir l'inhibition de la prolifération cellulaire. In vivo la molécule a ensuite montré un effet sur des cellules de fibrosarcome, de leucémie myeloïde aiguë, de carcinome épidermoïde humain, de carcinome du sein, du poumon, du rein et du côlon. La prolongation de l'inhibition de la prolifération tumorale est obtenue en augmentant la durée d'exposition à la molécule. Des études ont également été menées en association avec la mitomycine C : l'UCN-01 semble alors potentialiser les effets antiprolifératifs de cette substance à l'encontre de cellules de carcinome épidermoïde humain in vitro, et dévoile une action synergique in vivo avec cette même molécule contre les xénogreffes des carcinomes épidermoïdes et du côlon, ainsi que sur des modèles de sarcomes et de leucémies. L'UCN-01 augmente également la cytotoxicité in vitro des radiations ionisantes et du cisplatine, particulièrement sur des cellules dont la fonction p53 est défective.

D'une manière générale, l'UCN-01 est une molécule qui développe l'efficacité d'agents endommageant l'ADN et des antimétabolites, particulièrement vis à vis de tumeurs à p53 altérée pour lesquelles la chimiothérapie standard est trop souvent insuffisamment efficace. Les toxicités doses-limitantes, sont là encore d'ordre gastro-intestinal ou hématologique. Des altérations tissulaires locales ont également été observées au niveau du site d'injection. Les essais cliniques de phase I ont ensuite essentiellement reposé sur l'administration continue sur 72 heures toutes les 2 semaines d'UCN-01 seul (Etats-Unis) [141], ou sur une perfusion de 3 heures toutes les 3 semaines (Japon) [142], ainsi que sur des cures de 24 heures par semaine en association avec d'autres agents antitumoraux adaptés. Lorsqu'il est administré seul selon le programme américain, les toxicités dose-limitantes de l'UCN-01 se manifestent principalement par une atteinte pulmonaire, une hyperglycémie avec possibilité d'acidose lactique, des nausées et des vomissements. Les données pharmacocinétiques ont pu également être établies avec une demi vie extrêmement longue de 57,44 heures et une MTD de 42,5 mg/m²/j. D'autres toxicités réversibles incluent des myalgies, des céphalées ainsi qu'une hypotension. Les effets indésirables dans le modèle nippon semblent moins sévères. D'autres dérivés de la staurosporine comme le CPG 41251 (N-benzoylstaurosporine) [143] ou le CEP 751 sont également à l'essai clinique, ce qui pourrait là encore témoigner d'une future nouvelle classe moléculaire d'antitumoraux [144].



UCN-01

Fig.34 Structure de l'UCN-01 [115]

Conclusion

Nous venons de le voir, la nature demeure encore aujourd’hui une intarissable source de substances thérapeutiques dont il reste à l’Homme le privilège d’en entrevoir les vertus et l’originalité. Dans le domaine du cancer, ces précieuses molécules ont montré plus d’une fois que leur efficacité n’était pas vainqueur, puisqu’elles représentent une proportion importante de médicaments chimiothérapeutiques parmi la liste de spécialités répertoriées. L’intérêt de telles molécules réside dans le fait qu’elles diffèrent chacune par leur histoire, leur origine, leur mécanisme d’action, et ainsi par leurs indications et leurs protocoles d’administration. Certaines d’entre elles comme les taxoïdes ou les anthracyclines font désormais partie des médicaments de choix utilisés dans le traitement du cancer. Mais de la simple plante ou culture bactérienne jusqu’au conditionnement médicamenteux final prêt à l’emploi, le cheminement est très long : il s’agit d’un travail de longue haleine à chaque étape duquel intervient l’expérience honorable d’un groupe de chercheurs passionnés. En effet tout cela nécessite l’investissement de chacun en matière d’ethnopharmacologie, de chimiotaxonomie, d’isolement et d’identification chimique, de production, de recherche clinique pour enfin parvenir quelques années plus tard à l’ultime ampoule injectable qui viendra renforcer l’arsenal disponible pour combattre la maladie. Malheureusement de telles investigations restaient, jusque dans les années quatre-vingts, dispendieuses en temps et en rendement, si bien que pendant quelques temps on laissa dans l’oubli certaines molécules aussi intéressantes furent-elles, pour se consacrer à une recherche exclusivement chimique plus dirigée et moins onéreuse. Depuis maintenant dix ans les progrès technologiques en matière d’informatique, d’automatisation et de biologie moléculaire, ont fait revenir les molécules naturelles sur le devant de la scène et actuellement, une multitude de substances séduisantes d’origine animale, végétale, ou le plus souvent d’origine marine ou microbienne, subissent un nombre conséquent d’études cliniques dans le but espéré de pouvoir un jour aboutir à une spécialité médicamenteuse indiquée en chimiothérapie anticancéreuse. Certaines d’entre elles, comme les inhibiteurs des CDK (flavopiridol, dérivés de la staurosporine), semblent ouvrir la voie à de nouvelles grandes classes d’agents antitumoraux. Aussi, de par cette formidable diversité de substances que l’on découvre chaque jour secrètement dissimulées au sein même d’êtres vivants, et au vu de l’abondance de médicaments qui nous ont tant servi, ne convient-il pas de manifester un émerveillement respectueux devant cette nature qui nous le rend si bien.

Bibliographie

1. Amarenc G, Amor B, Amouroux J, et al. Larousse médical. Editions Larousse 1995, Paris : 1203 p.
2. Fichier informatique SC8 de l'INSERM. Service d'information sur les causes médicales de décès. sc8.vesinet.inserm.fr.
3. Gorin NC, Philip T, Symann M. Manuel pratique d'hématocancérologie et de chimiothérapie. Editions Frison-Roche 1996, Paris : 1198 p.
4. Gragg GM, Newman DJ, Snader KM. Naturals products in drug discovery and development. *J Nat Prod* 1997 ; 60 : 52-60.
5. Dictionnaire des spécialités pharmaceutiques Vidal. O.V.P. Editions du Vidal 2000, Paris : 2324 p.
6. Dorosz P. Guide pratique des médicaments. Editions Maloine 2000, Paris : 1778 p.
7. Potier P, Sévenet T, Guenard D, et al. A la recherche de nouveaux médicaments utilisables en chimiothérapie antitumorale. *Cahiers Cancer* 1990 Vol 2 ; 9 : 483-8.
8. Quetin-Leclerc J. Des poisons de flèches aux substances naturelles antimitotiques Ethnopharmacologie : sources, méthodes, objectifs 1990 ; 1 : 279-89.
9. Maillet M. Abrégé de biologie cellulaire. Editions Masson 1996, Paris : 328 p.
10. Waksman SA, Pugh LH, Katz E. Antibiotic and cytostatic properties of the actinomycins. *Cancer Research* 1956 ; 2 : 155-62.
11. Verweij J, Den Hartigh, Pinedo HM. Antitumor antibiotics. *Cancer chemotherapy : principles and practice*. Chabner BA and Collins JM eds 1990, Philadelphia, Lippincott : 382-96.
12. Malonne H, Atassi G. DNA topoisomerase targeting drugs : mechanisms of action and perspectives. *Anticancer Drugs* 1997 ; 8(9) : 811-22.
13. Paulusen M, Ahrens S, Braun-Munzinger G, et al. EICESS 92 (European Intergroup Cooperative Ewing's Sarcoma Study) preliminary results. *Klin Padiatr* 1999 ; 211(4) : 276-83.
14. Rosito P, Mancini AF, Rondelli R, et al. Italian cooperative study for the treatment of children and young adults with localized Ewing sarcoma of bone : a preliminary report of 6 years of experience. *Cancer* 1999 ; 86(3) : 421-8.
15. Matsui H, Suzuka K, Iitsuka Y, et al. Combination chemotherapy with methotrexate, etoposide, and actinomycin D for high-risk gestational trophoblastic tumors. *Gynecol Oncol* 2000 ; 78(1) : 28-31.
16. Bruneton J. Pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales. Editions Tec & Doc 1999, Paris. Editions médicales internationales 1999, Cachan. 1120 p.
17. Sévenet T. Dossiers documentaires nathan : Plantes, molécules et médicaments. Editions CNRS, Editions nathan 1994 Paris : 120 p.
18. Derrick PM. Medicinal natural products : a biosynthetic approach.. John Wiley & son eds 1997, Chichester : 466 p.
19. Xu G, Rong T, Lin P. Adjuvant chemotherapy following radical surgery for non-small-cell lung cancer : a randomized study. *Chung Hua Chung Liu Tsa Chih* 1998 ; 20(3) : 228-30.
20. Nakanishi Y, Inoue K, Hara N. Treatment of lung cancer, state of the art in 2000. *Gan To Kagaku Ryoho* 2000 ; 27(8) : 1247-52.
21. Recchia F, Sica G, De Filippis S, et al. Cisplatin, vindesine, mytomycine C and 13-cis retinoic acid in the treatment of advanced non-small-cell lung cancer. A phase II pilot study. *Anticancer Res* 2000 ; 20(3B) : 1985-90.
22. Kubota K. Vinorelbine in the treatment of non-small-cell lung cancer and breast cancer. *Gan To Kagaku Ryoho* 2000 ; 27(8) : 1301-6.
23. Bajetta E, Chiara Stani S, De Candis D, et al. Gemcitabine plus vinorelbine as first-line chemotherapy in advanced non-small-cell lung carcinoma a phase II trial. *Cancer* 2000 ; 89(4) : 763-8.
24. Nistico C, Garuffi C, Milella M, et al. Weekly schedule of vinorelbine in pretreated breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 2000 ; 59(3) : 223-9.
25. Norris B, Pritchard KI, James K, et al. Phase III study of vinorelbine combines with doxorubicin versus doxorubicine alone in disseminated metastatic/recurrent breast cancer : National Cancer Institute of Canada Trials Group Study MA8. *J Clin Oncol* 2000 ; 18(12) : 2385-94.
26. Mastroianni M, Di Vagno G, Melilli GA, et al. Combination of cisplatin and vinorelbine in the neoadjuvant treatment of locally advanced cervical carcinoma. Phase II study. *Minerva Ginecol* 2000 ; 52(4) : 95-8.
27. Kirpits DB, Shao Y, Demetzos K, et al. Stealth® liposomal vinorelbine : synthesis, stability, and antitumor activity against human breast and lung cancer xenografts. *Proceedings of the American Association for Cancer Research* 1999 ; 40 : A2760.
28. Boyle FM, Monk RM, Wheeler HR, et al. Prevention of experimental vinorelbine neuropathy with glutamate. *Proceedings of the American Association for Cancer Research* 1999 ; 40 : A2564.
29. Giorgio NA, Huber J, Pear L, et al. Ellipticine conjugated to anti VEGFR2 monoclonal antibodies as reagents for targeting angiogenesis. *Proceedings of the American Association for Cancer Research* 2000 ; 41 : A2457.
30. Hecht SM. Bléomycin : new perspectives on the mechanism of action. *J Nat Prod* 2000 ; 63(1) : 158-68.
31. Angelopoulou MK, Vassilakopoulos TP, Siakantaris MP, et al. EBVD combination chemotherapy plus low dose involved field radiation is a highly effective treatment modality for early stage Hodgkin's disease. *Leuk Lymphoma* 2000 ; 37(1-2) : 131-43.
32. Hernandez-Morales D, Perez J, Marin M. Advanced epidemic Kaposi's sarcoma : clinical benefit of doxorubicin-bleomycin-vincristine treatment. *Proc Annu Meet Am Soc Clin Oncol* 1999 ; 18 : A2112.
33. Chang TC, Lai CH, Hong JH, et al. Randomized trial of neoadjuvant cisplatin, vincristine, bleomycin, and radical hysterectomy versus radiation therapy for bulky stage IB and IIA cervical cancer. *J Clin Oncol* 2000 ; 18(8) : 1740-7.
34. Allegra CJ, Grem JL, Yeh GC, et al. Antimétabolites. *Cancer Chemother Biol Response Modif* 1988 ; 10 : 1-22.
35. Preisler HD, Venugopal P, Gregory SA, et al. Poor prognosis acute myelogenous leukemia : response to treatment with high dose cytarabine, mitoxantrone, amifostine. *Leuk Res* 2000 ; 24(8) : 671-80.
36. Rosen PJ, Rankin C, Head DR, et al. A phase II study of high dose ARA-C and mitoxantrone for treatment of relapsed or refractory adult acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Res* 2000 ; 24(3) : 183-7.
37. Tothova E, Frickova M, Kafkova A, et al. Hematological and cytogenetic response of interferon alpha 2b alone and combined interferon alpha plus cytarabine as a first-line treatment in chronic myeloid leukemia. *Neoplasma* 2000 ; 47(2) : 125-8.
38. Ahmed S, Vaitkevicius VK, Zalupski MM, et al. Cisplatin, cytarabine, caffeine, and continuously infused 5-fluorouracil (ACE) in the treatment of advanced pancreatic carcinoma : a phase II study. *Am J Clin Oncol* 2000 ; 23(4) : 420-4.
39. Albert K. Do not confuse podophyllum peltatum with podophyllum hexandrum. *Pharm Ztg* 1999 ; 144(20) : 34-35.
40. Stone KM. Human papillomavirus infection and genital warts : update on epidemiology and treatment. *Clin Infect Dis* 1995 ; 20(suppl 1) : S91-7.
41. Beutner KR, Wiley DJ, Douglas JM, et al. Genital warts and their treatment. *Clin Infect Dis* 1999 ; 28(suppl 1) : S37-56.
42. Beuzeboc P. Pharmacologie clinique du phosphate d'étoposide (Etopophos®). *La Lettre du Cancérologue* 1997 ; 2(suppl vol 6) : S3-6.
43. Munck JN. Pharmacologie clinique de l'étoposide oral. *La*

Lettre du Cancérologue 1996 ; Hors série : 5-10.

44. Fosella FV, Madden T, Wester M, et al. Phase I trial of GL331, a novel topoisomerase II inhibitor, for advanced refractory cancer. Proc Annu Meet Am Soc Clin Oncol 1996 ; 15 : A1571.

45. Huang TS, Lee CC, Chao Y, et al. A novel podophyllotoxin-derived compound GL331 is more potent than its congener VP-16 in killing refractory cancer cells. Pharm Res 1999 ; 16(7) : 997-2002.

46. Damayanthi Y, Lown JW. Podophyllotoxins : current status and recent developments. Curr Med Chem 1998 ; 5(3) : 205-52.

47. Rassmann I, Thodtmann R, Mross M, et al. Phase I clinical and pharmacokinetic trial of the podophyllotoxin derivative NK661 administered as intravenous short infusion. Invest New Drugs 1998 ; 16(4) : 319-24.

48. Thongprasert S. Phase II study of ifosfamide, carboplatin, etoposide and GM-CSF in small-cell lung cancer. J Med Assoc Thai 2000 ; 83(5) : 549-53.

49. Lopez-Aguilar E, Sepulveda-Vildosola AC, Rivera-Marquez H, et al. Preirradiation ifosfamide, carboplatin, and etoposide for the treatment of anaplastic astrocytomas and glioblastoma multiforme : a phase II study. Arch Med Res 2000 ; 31(2) : 186-90.

50. Rose PG, Rodriguez M, Waggoner S, et al. Phase I study of placitaxel, carboplatin, and increasing days of prolonged oral etoposide in ovarian, peritoneal, and tubal carcinoma : a gynecologic oncology group study. J Clin Oncol 2000 ; 18(16) : 2957-62.

51. Capranico G, Giaccone G, D'Incalci M. DNA topoisomerase II poisons and inhibitors. Cancer Chemotherapy and Biological Response Modifiers Annual 1999 ; 18 : 125-43.

52. Woessner R, An Z, Li X, et al. Comparison of three approaches to doxorubicin therapy : free doxorubicin, liposomal doxorubicin, and beta-glucuronidase-activates prodrug. Anticancer Res 2000 ; 20(4) : 2289-96.

53. Lyass O, Uziely B, Ben-Yosef R, et al. Correlation of toxicity with pharmacokinetics of polygated liposomal doxorubicin (Doxil) in metastatic breast carcinoma. Cancer 2000 ; 89(5) : 1037-47.

54. Anonymous. Epirubicin-based chemotherapy in metastatic breast cancer patients : role of dose-intensity and duration of treatment. J Clin Oncol 2000 ; 18(17) : 3115-24.

55. Rammeloo LA, Postma A, Sobotka-Plojhar MA, et al. Low-dose daunorubicin in induction treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia : no long-term cardiac damage in a randomized study of the Dutch Childhood Leukemia Study Group. Med Pediatr Oncol 2000 ; 35(1) : 13-9.

56. Trimble EL, Arbuck SG, McGuire WP. Options for primary chemotherapy of epithelial ovarian cancer : taxanes. Gynecol Oncol 1994 ; 55(3 Pt 2) : S114-21.

57. Arbuck SG, Dorr A, Friedman M. Paclitaxel (Taxol) in breast cancer. Hematology/Oncology Clinics of North America 1994 ; 8(1) : 121-37.

58. Ettinger DS. Overview of paclitaxel (Taxol) in advanced lung cancer. Sem in Oncol 1993 ; 20(4) Suppl 3 : 46-9.

59. Postma TJ, Hoekman K, van Riel JM, et al. Peripheral neuropathy due to biweekly paclitaxel, epirubicin, and cisplatin in patients with advanced ovarian cancer. J Neurooncol 1999 ; 45(3) : 241-6.

60. Cocconi G, Mambrini A, Quarta M, et al. Vinorelbine combined with paclitaxel infused over 96 hours (VI-TA-96) for patients with metastatic breast carcinoma. Cancer 2000 ; 88(12) : 2731-8.

61. Nabholz JM, North S, Smylie M, et al. Docetaxel (Taxotere) in combination with anthracyclines in the treatment of breast cancer. Semin Oncol 2000 ; 27(2 suppl 3) : 11-8.

62. Mattson K, Vansteenkiste J, Stupp R, et al. Phase II study of docetaxel alternating with cisplatin in chemotherapy-naïve patients with advanced non-small-cell lung cancer. Anticancer Drugs 2000 ; 11(1) : 7-13.

63. Bennouna J, Monnier A, Rivière A, et al. A phase II study of docetaxel and vinorelbine combination chemotherapy in patients with advanced non-small-cell lung cancer. Eur J Cancer 2000 ; 36(9) : 1107-12.

64. Kurata T, Shimada Y, Tamura T, et al. Phase I and pharmacokinetic study of a new taxoid, RPR 109881A, given as a 1-hour intravenous infusion in patients with advanced solid tumors. J Clin Oncol 2000 ; 18(17) : 3164-71.

65. Vernillet L, Semonid D, Vergniol JC, et al. Pharmacokinetics of a new taxoid (RPR 109881A) : comparison of five different administration schedules. Proc Annu Meet Am Soc Clin Oncol 1998 ; 17 : A749.

66. Chabot GG, Robert J, Lokiec F, et al. Pharmacocinétique de l'irinotécan. Bull Cancer 1998 ; No spécial : 11-20.

67. Pourquier P, Pommier Y. Les topo-isomérase I : nouvelles cibles pour le traitement des cancers. Bull Cancer 1998 ; No spécial : 5-10.

68. Van Cutsem E, Peeters M. L'irinotécan en monothérapie dans le traitement des cancers colorectaux : résultats des études de phase II. Bull Cancer 1998 ; No spécial : 33-7.

69. Cottu PH, Extra JM, Lerebours F, et al. Spectre d'activité clinique de l'irinotécan. Bull Cancer 1998 ; No spécial : 21-6.

70. Mitry E, Dureux M, Rougier P. Chimiothérapie par irinotécan en deuxième ligne de traitement des cancers colorectaux métastatiques : études de phase III. Bull Cancer 1998 ; No spécial : 38-42.

71. Dureux M, Gil-Delgado M, André T, et al. L'irinotécan en association dans le cancer du côlon. Bull Cancer 1998 ; No spécial : 43-6.

72. Couteau C, Armand JP. Les associations avec l'irinotécan dans les tumeurs solides (hors carcinomes coliques). Bull Cancer 1998 ; No spécial : 47-50.

73. Les autres camptothécines : avancées récentes sur les analogues de la camptothécine autres que l'irinotécan et le topotécan. Bull Cancer 1998 ; No spécial : 51-8.

74. Bookman MA, Blessing JA, Hanjani P, et al. Topotécan in squamous cell carcinoma of the cervix : a phase II study of the Gynecologic Oncology Group. Gynecol Oncol 2000 ; 77(3) : 446-9.

75. White SC, Cheeseman S, Thatcher N, et al. Phase II study of oral topotecan in advanced non-small-cell lung cancer. Clin Cancer Res 2000 ; 6(3) : 868-73.

76. Clark P, Sutton P, Smith D, et al. A phase I study of a day Schedule of intravenous topotecan (T) and etoposide (E) in untreated small-cell-lung-cancer (SCLC). Proc Annu Meet Am Soc Clin Oncol 1999 ; 18 : A1926.

77. Nagao K, Fukuoka M, Fujita A, et al. A phase II study of irinotecan combined with cisplatin in non-small-cell lung cancer. CPT-11 Lung Cancer Study Group. Gan To Kagaku Ryoho 2000 ; 27(3) : 413-21.

78. Cao S, Rustum YM. Synergistic antitumor activity of irinotecan in combination with 5-fluorouracil in rats bearing advanced colorectal cancer : role of drug sequence and dose. Cancer Res 2000 ; 60(14) : 3717-21.

79. Pettit GR. Progress in the discovery of biosynthetic anticancer drugs. J Nat Prod 1996 ; 59 : 812-21.

80. Reisdorf D. La nature passée au crible. Biofutur 1997 ; 168 : 10-2.

81. Mitchell T. Découvrir de nouveaux médicaments. Biofutur 1997 ; 168 : 39-41.

82. Russell TH, Murphy P. L'océan pharmaciens. Biofutur 1998 ; 179 : 34-37.

83. Verbist JF. La mer contre le cancer. Biofutur 1998 ; 179 : 38-9.

84. Bouvenot G, Eschwege E, Schwartz D. Le médicament : naissance, vie et mort d'un produit pas comme les autres. Editions Nathan, Editions Inserm 1993, Paris : 110 p.

85. Cragg GM, Newman DJ. Discovery and development of antineoplastic agents from natural sources. Cancer Investigation 1999 ; 17(2) : 153-63.

86. Budd GT, Elson PJ, Chan KK, et al. Single-dose phase I and pharmacokinetic trial of perillyl alcohol (POH) as a chemopreventive for breast cancer. Proc Annu Meet Am Soc Clin Oncol 1999 ; 18 : A714.

87. Mc Hugh MM, Kuo SR, Walsh-O'Beirne MH, et al. Bizelesin, a bifunctional cyclopropylpyrroloindole alkylating agent, inhibits simian virus 40 replication in trans by induction of an inhibitor. Biochemistry 1999 ; 38(35) : 11508-15.

88. Pinsuwan S, Alvarez-Nunez FA, Tabibi ES, et al. Degradation kinetics of 4-dedimethylamino sencycline, a new antitumor agent, in aqueous solutions. *Int J Pharm* 1999 ; 181(1) : 31-40.

89. Rafel M, Cervantes F, Beltran JM, et al. Deoxycoformycin in the treatment of patients with hairy cell leukemia : results of a spanish collaborative study of 80 patients. *Cancer* 2000 ; 88(2) : 352-7.

90. Neckers L, Schulte TW, Mimnaugh E. Geldanamycin as a potential anti-cancer agent : its molecular target and biochemical activity. *Invest New Drugs* 1999 ; 17(4) : 361-73.

91. Blum D, Torch S, Nissou MF, Benabid AL, et al. Extracellular toxicity of 6-hydroxydopamine on PC12 cells. *Neurosci Lett* 2000 ; 283(3) : 193-6.

92. Lin HL, Liu TY, Chau GY, et al. Comparison of 2-methoxyestradiol-induced, docetaxel-induced, and paclitaxel-induced apoptosis in hepatoma cells and its correlation with reactive oxygen species. *Cancer* 2000 ; 89(5) : 983-94.

93. Martello LA, Mc Daid MH, Regl DL, et al. Taxol and discodermolide represent a synergistic drug combination in human carcinoma cell lines. *Clin Cancer Res* 2000 ; 6(5) : 1978-87.

94. Hamel E, Sackett DL, Vourloumis D, et al. The coral-derived natural products eleutheroxin and sarcodictyins A and B : effects on the assembly of purified tubulin with and without microtubule-associated proteins and binding at the polymer taxoid site. *Biochemistry* 1999 ; 38(17) : 5490-8.

95. Engel N, Toupet C, Stratman A, et al. The biosynthetic gene cluster for the microtubule-stabilizing agents epothilone A and B from *Sorangium cellulosum* So ce90. *Chem Biol* ; 7(2) : 97-109.

96. Zhou DC, Zittoun R, Marie JP. Homoharringtonine : an effective new natural product in cancer chemotherapy. *Bull Cancer* 1995 ; 82(12) : 987-95.

97. Sonveaux N, Vigano C, Shapiro AB, et al. Ligand-mediated tertiary structure changes of reconstituted P-glycoprotein. A tryptophan fluorescence quenching analysis. *J Biol Chem* 1999 ; 274(25) : 17649-54.

98. Kasturi VK, Dearing MP, Piscitelli SC, et al. Phase I study of a five-day dose schedule of 4-ipomeanol in patients with non-small-cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 1998 ; 4(9) : 2095-102.

99. Tolcher AW, Aylesworth C, Rizzo J, et al. A phase I study of rhizoxin (NSC 332598) by 72-hour continuous intravenous infusion in patients with advanced solid tumors. *Ann Oncol* 2000 ; 11(3) : 333-8.

100. Bhargava P, Trocky N, Marshall J, et al. A phase I safety, tolerance and pharmacokinetic study of rising dose, rising duration continuous infusion of MSI-1256F (squalamine lactate) in patients with advanced cancer. *Proc Annu Meet Am Soc Clin Oncol* 1999 ; 18 : A623.

101. Witt O, Schmejkal S, Pekrun A. Tributyrin plus all-trans-retinoic acid efficiently induces fetal hemoglobin expression in human erythroleukemia cells. *Am J Hematol* 2000 ; 64(4) : 319-21.

102. Pettit GR. The bryostatins. *Fortschr Chem Org Naturst* 1991 ; 57 : 153-195.

103. Pettit GR, Gao F, Blumberg PM, et al. Antineoplastic agents. 340. Isolation and structural elucidation of bryostatins 16-18. *J Nat Prod* 1996 ; 59 : 286-89.

104. Zoltan S, Mitcjeff FD, Colin BS, et al. Bryostatin 1 protects protein kinase C-δ from down regulation in mouse keratinocytes in parallel with its inhibition of phorbol ester-induced differentiation. *Molecular Pharmacology* 1994 ; 46 : 840-850.

105. Vrana JA, Saunders AM, Chellapan SP, et al. Divergent effects of bryostatin 1 and phorbol myristate acetate on cell cycle arrest and maturation in human myelomonocytic leukemia cells (U937). *Differentiation* 1998 ; 63(1) : 33-42.

106. Jarvis WD, Grant S. Protein kinase C targeting in antineoplastic treatment strategies. *Invest New Drugs* 1999 ; 17(3) : 227-40.

107. Baron-Delage S, Cherqui G. Protéine kinase C et potentiel tumoral. *Bull Cancer* 1997 ; 84(8) : 829-32.

108. Pagliaro L, Daliani D, Amato R, et al. A phase II trial of bryostatin 1 for patients with metastatic renal cell carcinoma. *Cancer* 2000 ; 89(3) : 615-8.

109. Propper DJ, Macaulay V, O'Byrne KJ, et al. A phase II study of bryostatin 1 in metastatic malignant melanoma. *Br J Cancer* 1998 ; 78(10) : 1337-41.

110. Varterasian ML, Mohammad RM, Shurafa MS, et al. Phase II trial of bryostatin 1 in patients with relapsed low-grade non-Hodgkin's lymphoma and chronic lymphocytic leukemia. *Clin Cancer Res* 2000 ; 6(3) : 825-8.

111. Lansiaux A, Baily C. Les dolastatines. *Bull Cancer* 1999 ; 86(11) : 897-901.

112. Jordan MA, Walker D, de Arruda M, et al. Suppression of microtubule dynamics by binding of cemadotin to tubulin : possible mechanism for its antitumor action. *Biochemistry* 1998 ; 37(50) : 17571-8.

113. Wolff I, Bruntsch U, Cavalli F, et al. Phase I clinical study of LU 103793 (cemadotin) given on a weekly (wkly) x 4 schedule. *Proc Annu Meet Am Soc Clin Oncol* 1997 ; 16 : A783.

114. Lynch TC, Eder JP, Fram R, et al. A phase I clinical and pharmacokinetic study of cemadotin, a dolastatin analogue, as a 5-day continuous intravenous infusion (CIVI) in pretreated solid tumor patients. *Proc Annu Meet Am Soc Clin Oncol* 1998 ; 17 : A808.

115. Christian MC, Pluda JM, Ho PTC, et al. Promising new agents under development by the division of cancer treatment, diagnosis, and centers of the National Cancer Institute. *Seminars in Oncology* 1997 ; 24(2) : 219-240.

116. Lansiaux A, Baily C. L'ecteinascidin 743. *Bull Cancer* 1999 ; 86(2) : 139-41.

117. Ryan D, Supko J, Eder J, et al. A phase I and pharmacokinetic trial of ecteinascidin 743 (Et 743) administered as a 72 hour continuous infusion. *Proc Annu Meet Am Soc Clin Oncol* 1999 ; 18 : A725.

118. Cvitkovic E, Riofrio M, Goldwasser, et al. Final results of a phase I study of ecteinascidin 743 (Et 743) 24 hour (h) continuous infusion (CI) in advanced solid tumors (AST) patients (pts). *Proc Annu Meet Am Soc Clin Oncol* 1999 ; 18 : A690.

119. Senderowicz AM. Flavopiridol : the first cyclin-dependent kinase inhibitor in human clinical trials. *Invest New Drugs* 1999 ; 17(3) : 313-20.

120. Buolamwini JK. Cell cycle molecular targets in novel anticancer drug discovery. *Curr Pharm Des* 2000 ; 6(4) : 379-92.

121. Sausville EA, Johnson J, Alley M, et al. Inhibition of CDKs as a therapeutic modality. *Ann N Y Acad Sci* 2000 ; 910 : 207-21.

122. Stadler WM, Vogelzang NJ, Amato R, et al. Flavopiridol, a novel cyclin dependant kinase inhibitor, in metastatic renal cancer : a university of chicago phase II consortium study. *J Clin Oncol* 2000 ; 18(2) : 371-5.

123. Bennett P, Mani S, O'Reilly S, et al. Phase II trial of flavopiridol in metastatic colorectal cancer : preliminary results. *Proc Annu Meet Am Soc Clin Oncol* 1999 ; 18 : A1065.

124. Wang R, Brunner T, Zhang L, et al. Fungal metabolite FR 901228 inhibits c-Myc and Fas ligand expression. *Oncogene* 1998 ; 17(12) : 1503-8.

125. Nakajima H, Kim YB, Terano H, et al. FR 901228, a potent antitumor antibiotic, is a novel histone deacetylase inhibitor. *Exp Cell Res* 1998 ; 241(1) : 126-33.

126. Bates S, Sandor V, Bakke S, et al. A phase I study of FR 901228 (depsipeptide), a histone deacetylase inhibitor. *Proc Annu Meet Am Soc Clin Oncol* 1999 ; 18 : A693.

127. Zhang WJ, Ohnishi K, Yoshida H, et al. Spicamycin and KRN 5500 induce apoptosis in myeloid and lymphoid cell lines with down-regulation of bcl-2 expression and modulation of promyelocytic leukemia protein. *Jpn J Cancer Res* 2000 ; 91(6) : 604-11.

128. Kawasaki K, Murakami T, Ita M, et al. KRN 5500, a novel antitumor agent, induces apoptosis or cell differentiation in HL-60 cells. *Cytometry* 2000 ; 39(3) : 211-6.

129. Kanzawa F, Nishio K, Fukuoka K, et al. In vitro interactions of a new derivative of spicamycin, KRN 5500, and other anticancer drugs using a three-dimensional model. *Cancer Chemother Pharmacol* 1999 ; 43(5) : 353-63.

130. Matsumura Y, Kamiya Y, Yamamoto N, et al. A phase I

study of KRN 5500 in patients with refractory solid tumors (stomach, colon, lung). Proc Annu Meet Am Soc Clin Oncol 1999 ; 18 : A841.

131. Matsumura Y, Yokoyama M, Kataoka K, et al. Reduction of the side effects of an antitumor agent, KRN 5500, by incorporation of the drug into polymeric micelles. Jpn J Cancer Res 1999 ; 90(1) : 122-8.

132. Alexandre J, Raymond E, Armand JP. La rapamycine et le CCI-779. Bull Cancer 1999 ; 86(10) : 808-11.

133. Arimondo PB, Bailly C, Boutorine A, et al. Targeting topoisomerase I cleavage to specific sequences of a DNA by triple helix-forming oligonucleotide conjugates. A comparison between a rebeccamycin derivative and camptothecin. C R Acad Sci III 1999 ; 322(9) : 785-90.

134. Moreau P, Anizon F, Sancelme M, et al. Syntheses and biological activities of rebeccamycin analogues. Introduction of a halogenoacetyl substituent. J Med Chem 1999 ; 42(4) : 584-92.

135. Langevin A, Weitman S, Kuhn J, et al. A trial of rebeccamycin analogue (NSC 655649) in children with solid tumors : a pediatric oncology group phase I cooperative agreement study. Proc Annu Meet Am Soc Clin Oncol 1999 ; 18 : A764.

136. Dowlati A, Remick S, Majka S, et al. A phase I clinical and pharmacokinetic study of rebeccamycin analog (NSC 655649) given daily for 5 consecutive days. Proc Annu Meet Am Soc Clin Oncol 1999 ; 18 : A694.

137. Moreau P, Anizon F, Sancelme M, et al. Syntheses and biological evaluation of indocarbazoles, analogues of rebeccamycin, modified at the imide heterocycle. J Med Chem 1998 ; 41(10) : 1631-40.

138. Bailly C, Qu X, Anizon F, et al. Enhanced binding to DNA and topoisomerase I inhibition by an analog of the antitumor antibiotic rebeccamycin containing an amino sugar residue. Mol Pharmacol 1999 ; 55(2) : 377-85.

139. Jarvis WD, Grant S. Protein kinase C targeting in antineoplastic treatment strategies. Invest New Drugs 1999 ; 17(3) : 227-40.

140. Senderowicz AM, Sausville EA. Preclinical and clinical development of cyclin-dependent kinase modulators. J Natl Cancer Inst 2000 ; 92(5) : 376-87.

141. Senderowicz AM, Headlee D, Lush R, et al. Phase I trial of infusional UCN-01, a novel protein kinase inhibitor, in patients with refractory neoplasms. Proc Annu Meet Am Soc Clin Oncol 1999 ; 18 : A612.

142. Tamura T, Sasaki Y, Minami H, et al. Phase I study of UCN-01 by 3-hour infusion. Proc Annu Meet Am Soc Clin Oncol 1999 ; 18 : A611.

143. Gescher a. Staurosporine analogues, pharmacological tools or useful antitumour agents ? Crit Rev Oncol Hematol 2000 ; 34(2) : 127-35.

144. Akinaga S, Sugiyama K, Akiyama T. UCN-01 (7-hydroxystaurosporine) and other indocarbazole compounds : a new generation of anti-cancer agents for the new century ? Anticancer Drug Des 2000 ; 15(1) : 43-52.

DEMANDE D'IMPRIMATUR

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR
EN PHARMACIEprésenté par **Jean-Etienne CHABRIER**Sujet :**Molécules cytostatiques d'origine naturelle,
situation actuelle, perspectives d'avenir**Jury :

Président : M. François MORTIER, Professeur

Juges :

Mme. Martine ULMER, Pharmacien, Docteur en nutrition
M. Philippe GASPARD, Pharmacien hospitalier temps partiel,
Docteur en pharmacie

Vu,

Nancy, le

17 novembre 2000

Le Président de thèse,

M. François MORTIER
Professeur

Vu et approuvé,

Nancy, le 23 novembre 2000

Le Doyen de la Faculté de Pharmacie
de l'Université Henri Poincaré - Nancy I,

Chantal FINANCE


Vu,

Nancy, le 01 DEC. 2000 n° 347

Le Président de l'Université Henri Poincaré - Nancy I



Molécules cytostatiques d'origine naturelle, situation actuelle, perspectives d'avenir

Thèse soutenue le 14 Décembre 2000

Par Jean-Etienne CHABRIER

RESUME :

Le cancer se caractérise par une prolifération tissulaire anarchique et incontrôlée à partir d'une cellule aux mécanismes de régulation altérés. Cette maladie sournoise constitue un véritable problème de santé dans notre société occidentale moderne où elle représente la deuxième cause de mortalité, juste derrière les pathologies cardio-vasculaires. Pour la combattre, la médecine dispose aujourd'hui de différentes méthodes dont la plus efficace et la plus largement employée reste la chimiothérapie, consistant à administrer, selon un protocole prédéfini, un ensemble de spécialités cytotoxiques. Or, parmi les molécules employées à cette fin, près de la moitié d'entre elles sont en réalité des substances dérivant directement ou non, du métabolisme d'organismes vivants qu'il s'agisse de plantes, d'animaux, ou de micro-organismes.

En se reposant sur la pharmacotaxonomie, la chimiotaxonomie ou encore l'ethnopharmacologie, de grandes firmes pharmaceutiques et autres instituts de recherche ont développé, dès les années soixante, des campagnes de « criblage » naturel destinées à découvrir au sein de différentes formes de vie, des substances susceptibles d'être exploitées en chimiothérapie. Si certaines d'entre elles ont abouti aux spécialités que nous utilisons actuellement (anthracyclines, taxoïdes, camptothécine...) d'autres, pour des raisons économiques et écologiques, ne purent être correctement analysées.

Alors que le « criblage » naturel semblait dépassé en tant que source de médicament, les progrès en matière de chimie, de robotique et d'informatique permirent dans les années quatre-vingt-dix, d'étudier à nouveau les substances cytostatiques naturelles. Ainsi, de nombreuses molécules de provenance et de mécanisme d'action novateurs subissent actuellement un ensemble d'essais cliniques en vue d'une commercialisation prochaine. Ces substances, souvent d'origine marine (bryostatine 1, dolastatine 15...) ou bactérienne (KRN 5500, rebeccamycine...) sont peut-être les grands médicaments chimiothérapeutiques de demain.

MOTS CLES :

Cancer, Cytostatiques d'origine naturelle, Ethnopharmacologie, Chimiothérapie, Molécules nouvelles

Directeur de thèse	Intitulé du laboratoire	Nature
M. François MORTIER Professeur	Laboratoire de pharmacognosie	Expérimentale <input type="checkbox"/> Bibliographique <input checked="" type="checkbox"/> Thème <input type="checkbox"/>

Thèmes

1 – Sciences fondamentales
3 – Médicament
5 - Biologie

2 – Hygiène/Environnement
4 – Alimentation – Nutrition
6 – Pratique professionnelle