

La nature pour inspirer le chimiste :

Substances naturelles, phytochimie et chimie médicinale

Françoise Guéritte est Directrice de recherche à l'Institut national de la santé et de la recherche médicale (INSERM) et travaille à l'Institut de chimie des substances naturelles (ICSN) du CNRS. Dans le cadre de ses travaux sur les molécules naturelles bioactives, elle a fait partie de l'équipe qui a synthétisé le taxotère, cet anticancéreux qui a sauvé des millions de vies, et dont l'histoire est racontée dans ce chapitre entre autres¹.

1 Quand la nature inspire le chimiste

La nature et sa biodiversité offre aux chercheurs une multitude de sujets de recherche, en particulier pour trouver des molécules aux propriétés biologiques intéressantes : thérapeutiques, phytosanitaires, etc. Par son impressionnante richesse et sa complexité, en plus de sa beauté bien souvent, la nature est source d'inspiration pour les chimistes (**Figure 1**).

1.1. Une biodiversité riche, source infinie pour le chimiste

Nous savons en effet que la Terre regorge de millions d'espèces, des micro-organismes, des plantes ou encore des organismes marins, et très peu ont encore été étudiées, que ce soit d'un point de vue chimique ou biologique (**Figure 2**).

Il reste donc un immense travail pour le chimiste qui étudie les substances naturelles, car

1. L'auteur tient à remercier, pour leur travail efficace et toujours passionné, Vincent Dumontet, Marc Litaudon, Barbara Morleo, Cyril Poullain et Fanny Roussi, membres permanents de l'équipe « Pôle Substances Naturelles – Plantes » qu'elle dirige, ainsi que Thierry Sévenet, directeur de recherche Émérite, pour ses nombreux conseils toujours avisés.



Figure 1

Montage de l'Institut de chimie des substances naturelles (ICSN) dans une forêt tropicale. Cette image représente la nature comme source infinie d'inspiration pour les chimistes pour synthétiser des molécules.



Figure 2

Il reste encore beaucoup à explorer dans la biodiversité de la nature, qui offre une infinie diversité chimique. A) Les micro-organismes représentent plusieurs millions d'espèces. Moins de 10 % des bactéries ont été étudiées, et moins de 5 % pour les champignons ; B) les plantes sont à ce jour estimées à environ 300 000 espèces, dont seulement 10 % ont été étudiées ; C) les organismes marins (éponges, algues, coraux...) sont estimés à 500 000 espèces, dont très peu ont été étudiées.

cette biodiversité très riche va conduire à une diversité chimique et structurale d'autant plus importante. Parmi les molécules isolées de tous ces organismes, des substances sont étudiées par les biologistes qui les utilisent dans leurs recherches pour déterminer par exemple les fonctions d'une protéine, et certaines de ces substances

deviendront même des médicaments, comme l'aspirine et le taxotère, représentés sur la **Figure 3**. Mentionnons que plus de 50 % des médicaments ont une relation avec la nature. Ainsi la nature est une source régulière de médicaments, qu'ils soient directement isolés du milieu naturel ou synthétisés à partir de molécules extraites de la nature.

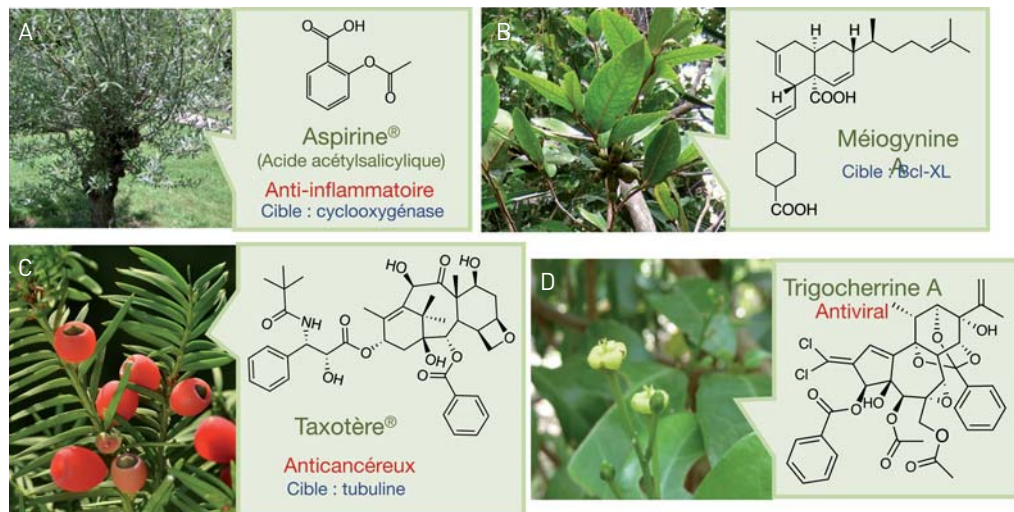


Figure 3

Exemples de substances naturelles bioactives, des plus simples aux plus complexes. La nature est une source régulière de nouveaux médicaments et de molécules originales.
 A) L'acide acétylsalicylique (ou aspirine®) est dérivé de l'acide salicylique que l'on trouve dans l'écorce de saule ;
 B) la méiogynine A est isolée des écorces de Meioyone cylindrocarpa ; C) le taxotère® (docetaxel) est synthétisé à partir d'un composé qui se trouve dans les feuilles d'if (Taxus baccata) ; D) la trigocherrine A est issue de l'arbuste Trigonostemon cherrieri.

1.2. De la nature à la molécule bioactive : les chimistes à l'œuvre

Dans leur recherche de molécules bioactives parmi les substances naturelles, les chimistes ont plusieurs étapes à réaliser. Nous examinerons ici le cas des plantes (Figure 4) :

La première tâche est d'isoler le produit, actif ou non, à partir des plantes :

- en tout premier lieu doit être réalisée l'**identification botanique**. Il est important de caractériser de manière précise les plantes, objets de l'étude chimique ; elles possèdent toutes un nom de genre et un nom d'espèce ;
- on procède alors au **broyage** et à l'**extraction**, comme on le fait pour n'importe quelle

plante comme le thé ou le café, afin d'obtenir un extrait contenant plusieurs centaines de molécules différentes, que l'on peut visualiser sur un diagramme (chromatogramme) obtenu par chromatographie liquide haute performance² (CLHP) : un amas de signaux apparaît correspondant aux différentes molécules. Il s'agit pour les chimistes de fractionner puis purifier le mélange pour aboutir à une substance pure, qui sera détectée sous forme d'un pic unique sur le chromatogramme. La structure de cette molécule est

2. La chromatographie en phase liquide à haute performance est une technique d'analyse basée sur la séparation sous pression des molécules d'un mélange par différence d'hydrophobicité (hydrophobe = peu soluble dans l'eau).

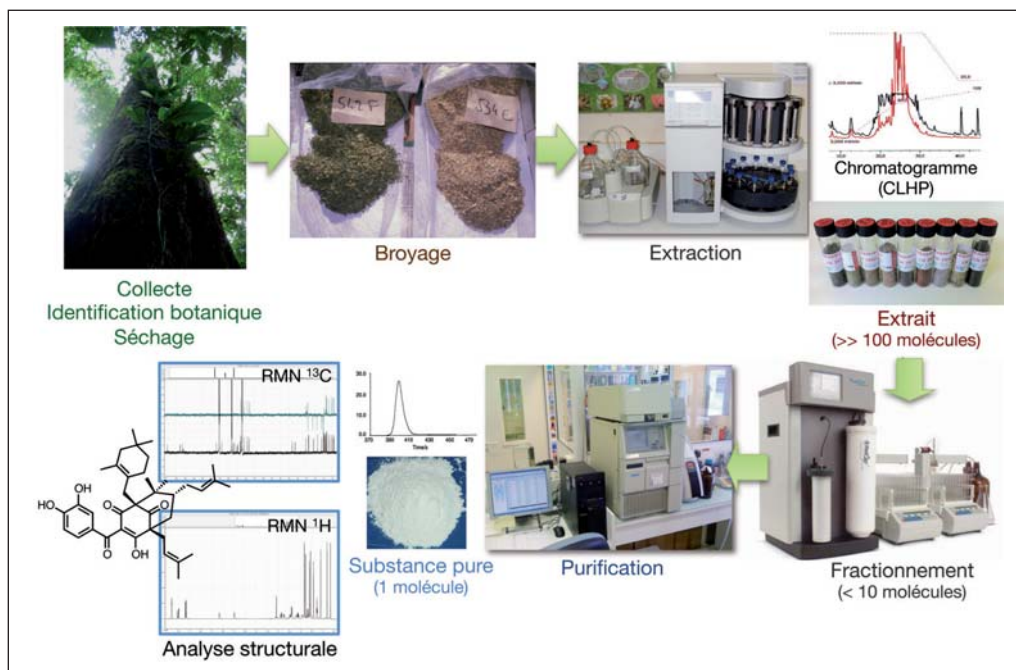


Figure 4

Les étapes de la plante à la molécule.

ensuite déterminée par spectroscopie de RMN du proton ^1H et du carbone ^{13}C (voir le Chapitre de M. Rohmer, **Encart : « La résonance magnétique nucléaire (RMN), outil quotidien du chimiste pour étudier les molécules organiques »**).

Toutes ces étapes allant de la plante à la structure de la molécule font partie de l'étude phytochimique.

1.3. Comprendre les propriétés des molécules naturelles pour la recherche thérapeutique

L'objet de la **chimie médicinale** est ensuite d'étudier les propriétés structurales et biologiques de la substance qui a été isolée : elle sera considérée comme bioactive si, en interagissant par exemple avec une protéine (ou une enzyme), elle conduit à un effet

biologique (**Figure 5**). Dans le modèle d'interaction qui est étudié, la substance naturelle (ligand) est comme une clé et la protéine (récepteur) est sa serrure : mieux la clé s'intégrera dans la serrure, plus l'activité biologique sera importante.

À partir de ce modèle, le chimiste étudie les relations qui existent entre la structure de la substance et l'activité biologique mesurée dans l'interaction avec la protéine. En menant ses recherches avec le biologiste, il étudiera également le mécanisme d'action de la molécule, ainsi que sa biodisponibilité, c'est-à-dire son devenir *in vivo*, en vue de la développer en tant que médicament.

Racontons maintenant l'histoire de quelques médicaments connus, sur la base de ce principe.

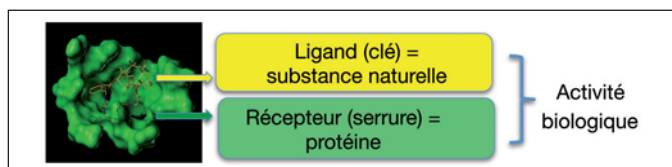


Figure 5

L'interaction d'un ligand avec son récepteur.

2 Histoire du développement de médicaments connus et découverte de nouvelles molécules actives

2.1. L'aspirine

2.1.1. La découverte

Faisons un petit retour dans l'histoire sur l'aspirine, ce médicament que nous connaissons tous (**Encart : « L'histoire de l'aspirine, en quelques dates »**, et voir la **Figure 3A**). Sa découverte provient d'une observation de la nature : comme on constatait que le saule blanc poussait dans l'eau sans problème, il devait sûrement contenir des mo-

lécules intéressantes. Dans les temps anciens, Hippocrate conseillait bien déjà la tisane de feuilles de saule pour soulager douleurs et fièvre. Cela se poursuit avec Edward Stone, qui conseillait quant à lui l'écorce de saule ; et il a fallu attendre les années 1825 pour que soit isolé, à partir des écorces de saule, le composé responsable de ces vertus thérapeutiques : la salicine (**Figure 6**). À la même époque, l'acide spirique est isolé de la Reine des prés, dont la structure est identique à celle de l'acide salicylique, présent aussi dans l'écorce de saule, et obtenu chimiquement à partir de la salicine.

L'HISTOIRE DE L'ASPIRINE, EN QUELQUES DATES

L'aspirine, sa découverte

-400 : Hippocrate conseille la tisane de feuilles de saule blanc pour soulager douleurs et fièvres

1763 : Utilisation de l'écorce de saule recommandée par Edward Stone pour soigner les fièvres

1825 et 1829 : Isolement de la salicine de l'écorce de saule par Francesco Fontana et Henri Leroux

1835 : Préparation de l'acide salicylique à partir de la spirée par Karl Jakob Lowig

L'aspirine, médicament anti-inflammatoire

1853 : Synthèse de l'acide acétylsalicylique par Charles Frederic Gehrard

1897 : Production industrielle de l'acide acétylsalicylique par la firme Bayer (Felix Hoffmann)

1899 : Mise sur le marché de l'aspirine par Bayer (Brevet)

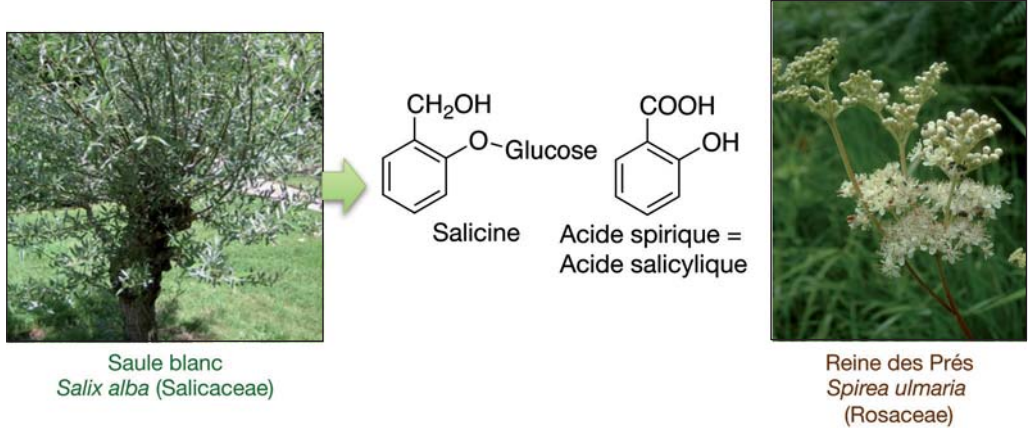


Figure 6

Le saule, la spirée... et l'aspirine.

2.1.2. Le développement du médicament

Là-dessus les chimistes ont pris le relais en trouvant une molécule encore plus active que l'acide salicylique : par une simple réaction d'acétylation sur le groupement hydroxyle, ils forment l'acide acétylsalicylique (Figure 7), commercialisé sous le nom d'aspirine.

Les études de son activité ont montré qu'elle présente des activités anti-inflammatoires en interagissant avec une enzyme, la cyclooxygénase.

2.2. Le taxol et le taxotère

2.2.1. La découverte

Le taxol est une célèbre molécule anticancéreuse qui a été isolée pour la première fois à partir de l'if du Pacifique *Taxus brevifolia*. Sa décou-

verte a été un hasard dans les années 1960 et provient d'un criblage (test de nombreuses molécules) au National Cancer Institute, qui avait mis en place un important programme pour rechercher des molécules anticancéreuses. C'est ainsi que 108000 extraits avaient été préparés à partir de 35000 plantes puis évalués pour leur cytotoxicité sur des cellules cancéreuses. Parmi les extraits actifs se trouvait un extrait des écorces d'if du Pacifique. Après purification de cet extrait, on a trouvé le taxol cytotoxique et également actif *in vivo* (Figure 8).

2.2.2. Extraction à partir du milieu naturel

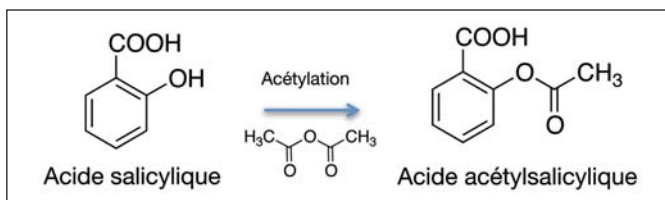
La Figure 9 représente les différentes étapes qui ont été réalisées à partir des écorces de *Taxus brevifolia* : après extraction et purification, le taxol a été isolé avec un rendement très faible à partir d'écorces sèches.

2.2.3. Étude de l'activité biologique du taxol

Les études ont montré que le taxol agit sur la tubuline,

Figure 7

La réaction d'acétylation de l'acide salicylique conduit à l'acide acétylsalicylique, qui montre une activité anti-inflammatoire supérieure.



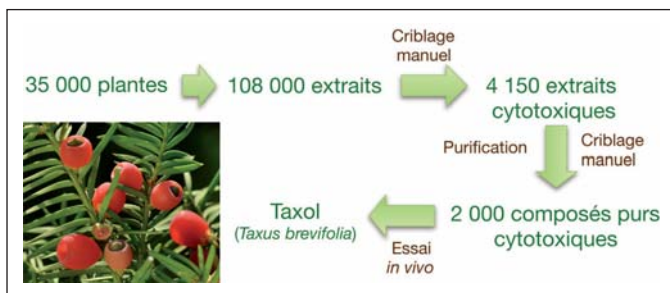


Figure 8

Découverte du taxol par criblage au cours de la recherche de molécules naturelles anticancéreuses (National Cancer Institute).

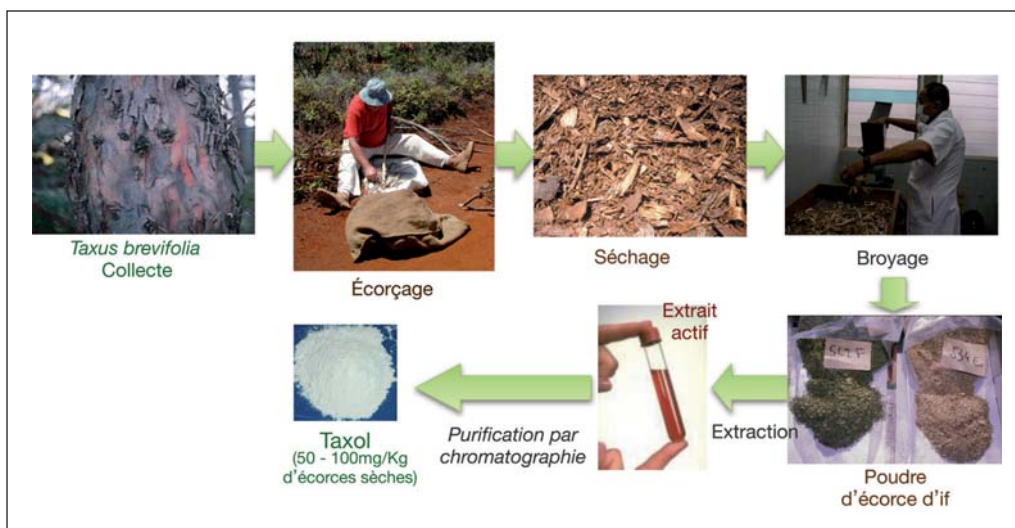


Figure 9

Extraction et purification du taxol à partir de l'if.

cette protéine qui forme les microtubules, fibres constitutives du cytosquelette des cellules (qui lui confèrent l'essentiel de ses propriétés mécaniques). Cette activité provoque l'inhibition de la division cellulaire, en particulier de cellules cancéreuses, ce qui en fait un anticancéreux.

2.2.4. Développement du taxol comme anticancéreux : vers la synthèse biomimétique

À l'époque où le taxol avait été découvert, la question de son approvisionnement était problématique, car l'if est un arbre protégé et à croissance

lente, et les quantités de taxol extraites sont très faibles.

D'où les travaux importants des chimistes qui se sont penchés sur la possibilité de le synthétiser au laboratoire, évitant ainsi des déforestations massives. Les réflexions se sont dirigées vers une synthèse dite **biomimétique** de cette molécule complexe, c'est-à-dire en mimant ce qui est réalisé dans la nature quand elle la biosynthétise.

Ils se sont pour cela penchés sur la phytochimie de l'if, dans le but de trouver un précurseur au taxol. Il a donc fallu étudier toutes les différentes parties de l'if. C'est ainsi qu'à

partir des feuilles a été isolé un composé, la 10-désacétylbaccatine III (DAB), de structure légèrement plus simple que le taxol, et, chose intéressante, isolable en quantités beaucoup plus importantes (Figure 10). La question est maintenant de voir comment passer de cette molécule DAB au taxol ?

Les chimistes ont réalisé plusieurs transformations du DAB par des réactions d'estérification, en premier lieu avec l'acide cinnamique (qui est aussi un produit naturel) conduisant à un ester cinnamique qui, par une réaction d'hydroxyamination, mène à un intermédiaire précurseur du taxol via les étapes finales de déprotection puis acylation (Figure 11). Cet intermédiaire a été appelé taxotère...

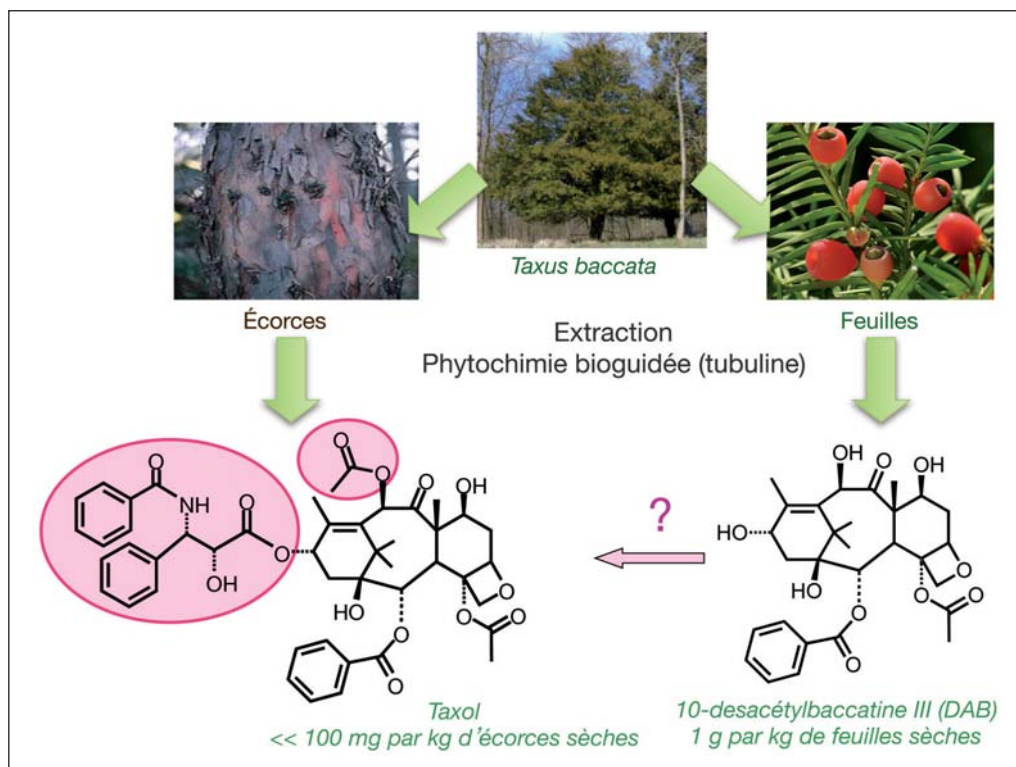
2.2.5. La surprise du taxotère

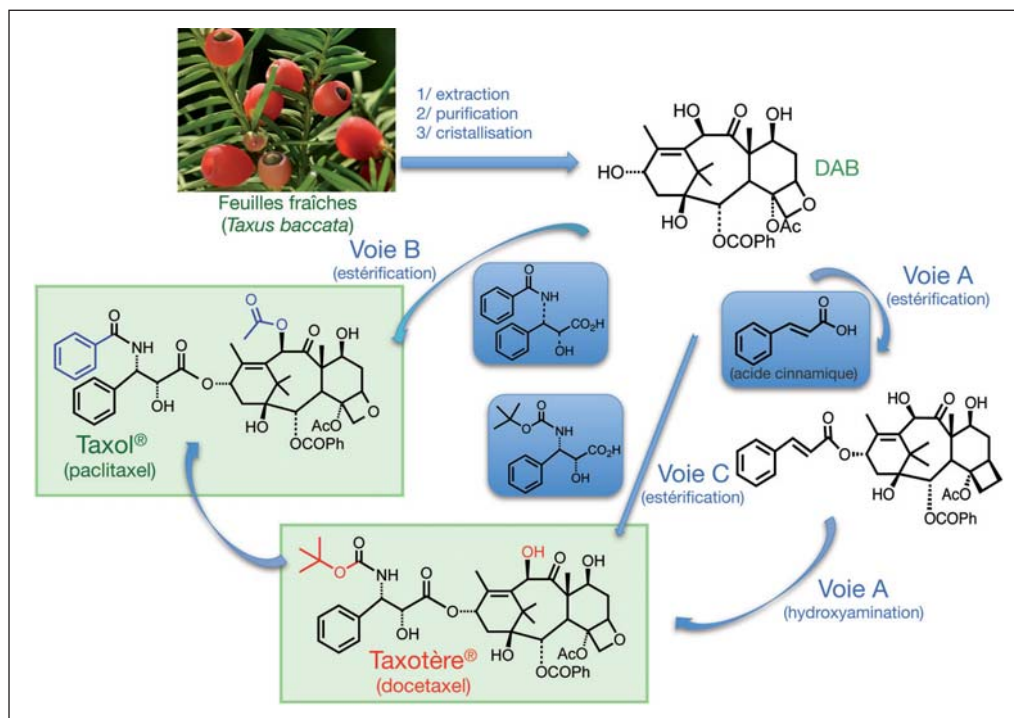
Au cours de ces travaux de synthèse chimique du taxol, les chimistes de l'équipe de Pierre Potier à l'Institut de chimie des substances naturelles ont eu l'idée d'évaluer l'activité de toutes les molécules intermédiaires obtenues au cours de la synthèse, et il s'est avéré que l'un d'entre eux, le taxotère, possédait également une activité sur la tubuline, même plus importante que pour le taxol ! C'est ainsi que le taxotère a fini par devenir un médicament (développé par les Laboratoires Rhône-Poulenc Rorer, devenus il y a quelques années Sanofi-Aventis).

Si l'on compare la voie de synthèse biomimétique du taxol avec celle réalisée dans la nature, on réalise bien que la

Figure 10

Réflexions sur la phytochimie du taxol en vue d'une synthèse chimique biomimétique.





nature est sans conteste plus ingénieuse que le chimiste. Dans la structure de la DAB, on identifie un squelette à trois cycles, appelé le taxadiène (**Figure 12**), structure que la nature peut construire très simplement alors que le chimiste n'y parvient pas. Elle utilise pour cela des voies métaboliques faisant intervenir les isoprènes (voir le **Chapitre de M. Rohmer**) : elle réalise l'addition de quatre isoprènes (élongation) qui conduit au géranylgeraniol diphosphate (GGP), lequel est transformé en tricyclic taxadiène, le tout étant effectué par une seule enzyme, la taxadiène synthétase ! Il s'agit-là d'une transformation que le chimiste n'a pas encore réussi à réaliser. Dans la plante, le DAB et le taxol sont formés *via* plusieurs réactions d'oxydation enzymatique du taxadiène et d'estérification, respectivement.

2.2.6. Tests de l'activité du taxol

Au cours des études de chimie médicinale, la structure du taxol a été modélisée en trois dimensions (**Figure 13** en haut à gauche). On constate sur ce modèle que les groupements I, II et III du taxol, qui semblent éloignés les uns des autres sur la formule développée, sont en fait très proches les uns des autres d'après le modèle ; c'est cette proximité qui s'avère importante pour contribuer à l'activité du taxol.

Pour vérifier cela, les chimistes ont cherché à placer une autre molécule que la DAB au niveau de l'enzyme-cible du taxol (la tubuline β) : il peut s'agir d'une molécule qu'ils auront synthétisée avec un squelette identique à celui du taxol, mais beaucoup plus simple, ou encore un ensemble de

Figure 11

Voies de synthèse chimique biomimétique du taxol et de son dérivé le taxotère.

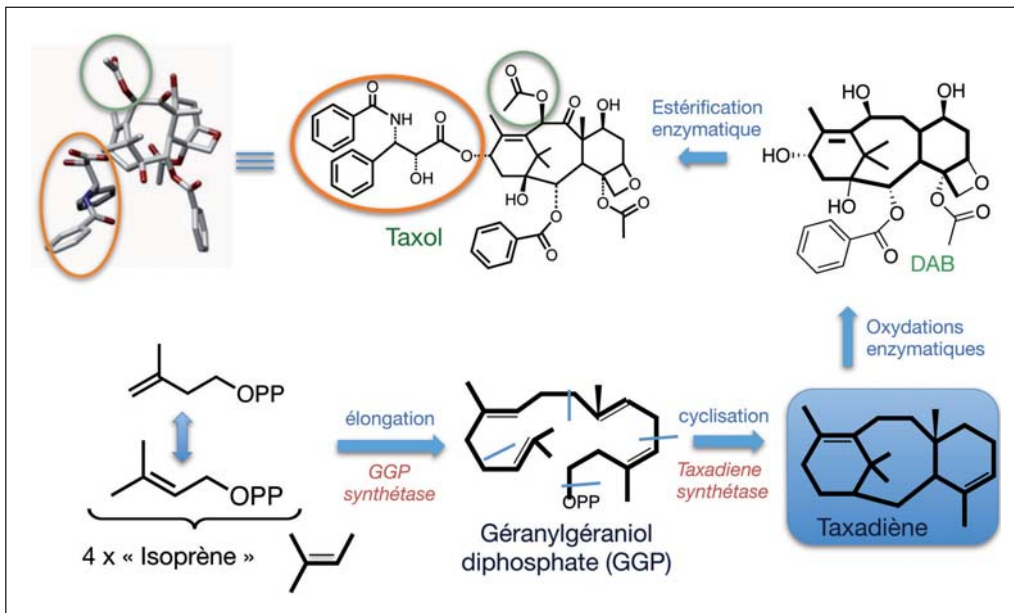


Figure 12

Biosynthèse du taxol via la synthèse du taxadiène : la nature est plus « ingénieuse » que le chimiste !

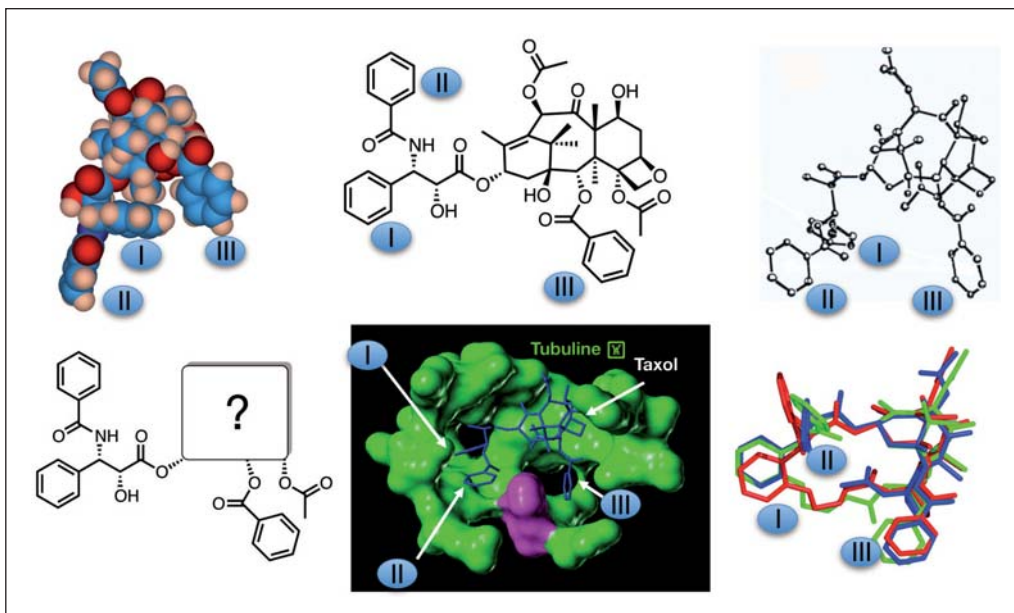


Figure 13

Étude en chimie médicinale de l'interaction du taxol et de modèles analogues avec la tubuline. La présence et la proximité des groupements I, II et III s'avère essentielle pour l'activité anticancéreuse du taxol.

groupements qui ont été liés entre eux pour les rigidifier et pour en optimiser l'activité (Figure 13 en bas à droite) De nombreuses études ont été réalisées sur ce projet, et un grand nombre de produits se sont montrés effectivement très actifs sur la tubuline β .

2.3. La méiogynine

2.3.1. Étude de l'activité biologique

La méiogynine n'est pas un médicament à ce jour, mais elle a été étudiée récemment au laboratoire du fait qu'elle est l'une des rares molécules à interagir avec la protéine Bcl-xL, qui est anti-apoptotique³. L'équipe recherchait des molécules naturelles interagissant avec cette dernière, qui est surexprimée dans les cellules cancéreuses et qui peut se lier à une protéine pro-apoptotique BAK, l'ensemble des deux conduisant à l'arrêt de la division cellulaire, et donc à l'arrêt de la croissance de la tumeur.

L'idée était de trouver une molécule naturelle qui se mette à la place de la protéine pro-apoptotique et qui devienne donc un inhibiteur de l'interaction Bcl-xL/BAK, stimulant ainsi l'apoptose. Cette recherche a été effectuée sur la protéine Bcl-xL par criblage d'un ensemble de molécules naturelles, soit 6400 extraits bruts issus de 3200 plantes. Un extrait d'écorce de la plante *Meiogynne cylindrocarpa*, une plante

3. L'apoptose est la mort cellulaire programmée, un mécanisme naturel de destruction de cellules détériorées.

de Malaisie appartenant à la famille des Annonaceae, répondait favorablement sur cet essai. Après purification de l'extrait, on a découvert cette nouvelle molécule appelée méiogynine, qui effectivement interagissait avec la protéine anti-apoptotique Bcl-xL (Figure 14).

Cependant, la méiogynine présente une activité plutôt modeste, et l'autre problème est qu'à l'endroit où elle avait été récoltée en Malaisie, une déforestation intense a eu lieu entre-temps. Entre alors en jeu le chimiste, qui cherche à synthétiser la molécule, voire à en modifier la structure en vue d'en optimiser l'activité.

2.3.2. Étude de la biosynthèse de la méiogynine

Tout comme le taxol, la méiogynine est un terpène ; les chimistes ont cherché à établir des hypothèses sur le mécanisme de sa biosynthèse dans la plante, afin de s'en inspirer pour en réaliser la synthèse chimique. Cette molécule pourrait provenir de la dimérisation de deux monomères, qui sont relativement semblables, et qui pourraient réagir par une réaction de Diels-Alder, comme nous savons qu'il existe dans la nature des enzymes capables de catalyser ce type de réaction (Figure 15). Cette hypothèse est confortée par le fait que

Figure 14

Recherche par phytochimie bioguidée d'inhibiteurs de la protéine anti-apoptotique Bcl-xL, surexprimée dans les cellules cancéreuses. Suite à de nombreux tests, la méiogynine s'est révélée capable d'inhiber l'interaction entre Bcl-xL et la protéine pro-apoptotique BAK.

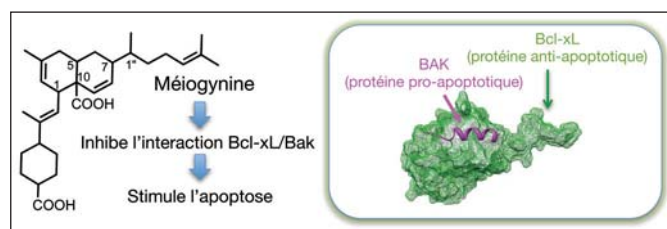
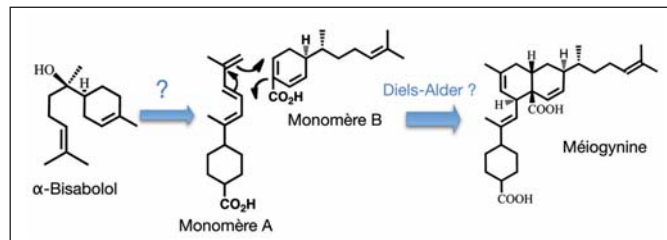


Figure 15

Hypothèse biogénétique pour la méiogynine en vue de sa synthèse biomimétique.



l'on a trouvé dans la plante la molécule α -bisabolol, qui serait peut-être un précurseur de ces monomères.

2.3.3. Synthèse chimique de la méiogynine

Partant de ces hypothèses, les chimistes ont entrepris la synthèse de la méiogynine, à partir de deux précurseurs naturels, le *R*-citronellal et le *S*-citronellal, deux molécules dites énantiomères car images l'une de l'autre dans un miroir, du fait des configurations opposées (*R*) et (*S*) de leurs carbones asymétriques : leurs propriétés chimiques sont identiques,

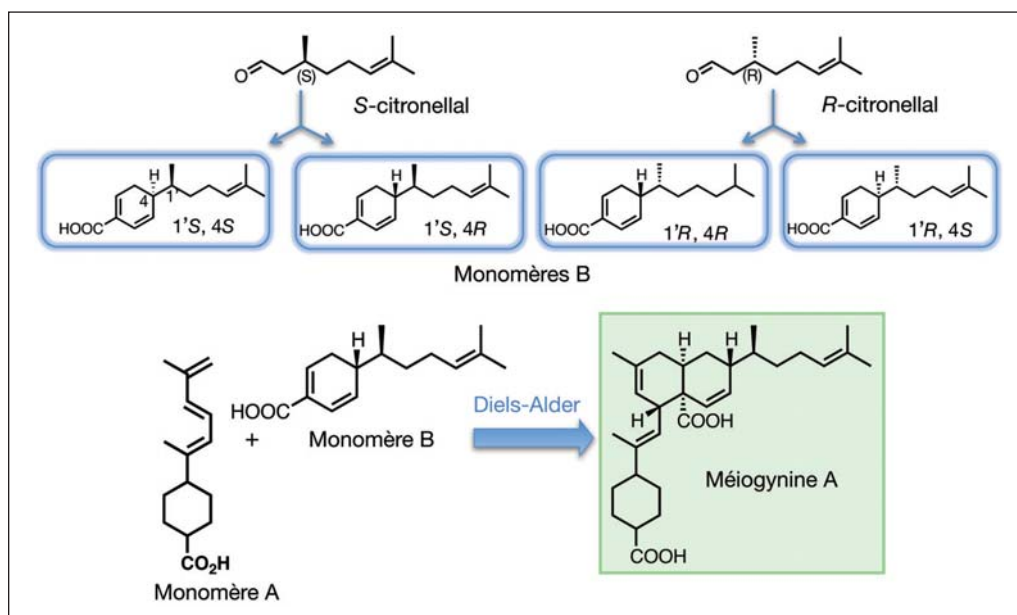
mais leurs propriétés biologiques peuvent différer.

En quatre étapes, ces précurseurs ont été transformés en différents monomères B. Ces monomères ont ensuite été engagés chacun dans une réaction de Diels-Alder, et l'un d'entre eux a conduit avec succès à la méiogynine A (Figure 16).

Les trois autres monomères ont, quant à eux, conduit chacun à trois molécules qui diffèrent de la méiogynine A uniquement par la configuration des carbones asymétriques (les quatre molécules sont dites diastéréoisomères).

Figure 16

Synthèse biomimétique de la méiogynine A.



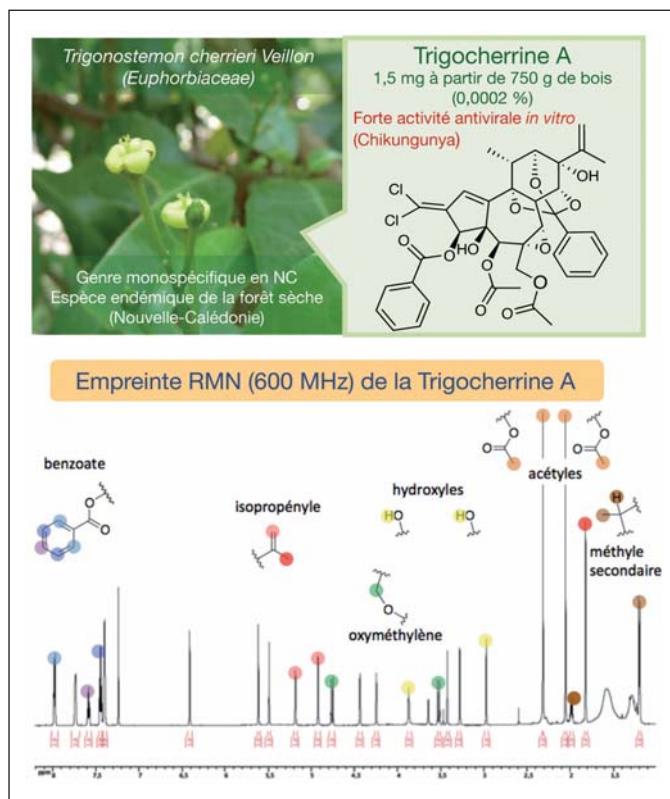


Figure 17

A) La trigocherrine A a été extraite une fois à partir du *Trigonostemon cherrieri*, espèce en voie de disparition selon la classification IUCN (International Union for Conservation of Nature) ; B) empreinte RMN de la trigocherrine A.

2.3.4. Tests des activités biologiques

Les activités biologiques de ces quatre molécules ont été testées et l'une d'entre elles, qui n'a pour l'instant jamais été retrouvée dans la plante, a présenté une activité quatre fois supérieure à celle de la méiogynine A ! Ce qui montre bien l'importance de l'arrangement spatial des atomes dans l'activité biologique d'une molécule.

2.4. La trigocherrine

Un dernier exemple concerne une étude montrant que le botaniste et le chimiste peuvent apporter tous deux leur petite pierre à la préservation de la nature. Au Laboratoire

de botanique de l'Institut de recherche pour le développement (IRD), J.-M. Veillon avait découvert par hasard en Nouvelle-Calédonie dans les années 1990 une espèce unique, *Trigonostemon cherrieri*, espèce endémique de la forêt sèche en voie de disparition aujourd'hui.

Les chercheurs ont voulu voir quels produits renfermait cette plante pour être capable de pousser dans la forêt sèche et résister à une multitude de micro-organismes entre autres. Une molécule a été trouvée en très faibles quantités : la trigocherrine A. Sa structure a pu être établie grâce à l'analyse par RMN, montrant que cette molécule est unique du fait

qu'elle possède deux atomes de chlore sur une double liaison (**Figure 17**). Elle s'est par ailleurs avérée posséder une forte activité antivirale *in vitro*, et particulièrement sur le virus du Chikungunya.

Nous avons donc une nouvelle espèce et une nouvelle molé-

cule. Il aurait été intéressant d'étudier toute cette famille de nouvelles molécules, mais la récolte de la plante n'est pas souhaitable puisqu'elle est protégée. Une fois de plus, l'intervention du chimiste en synthèse organique est essentielle pour contourner ce problème.

La nature, une source infinie de molécules et d'inspiration pour le chimiste

Nous l'avons vu, la biodiversité recèle encore d'immenses quantités de molécules inconnues des chimistes à ce jour, offrant un champ de recherche qui peut être considéré comme infini, tant que l'on peut continuer à l'explorer, à en extraire les molécules, à les caractériser et à en étudier les propriétés biologiques, ce travail allant de pair avec les progrès sans précédents de la biologie et de ses outils pour comprendre le fonctionnement du vivant, ses protéines, ses gènes, etc. (voir par exemple le **Chapitre de P. Monsan**).

Ce champ de recherche est d'autant plus grand que le chimiste est capable de partir de structures connues de molécules naturelles, d'en réaliser des synthèses biomimétiques (au sujet du biomimétisme, voir aussi le **Chapitre de C. Sanchez**), et souvent de les modifier à loisir pour en optimiser l'activité biologique recherchée, notamment dans la recherche de médicaments, produisant ainsi de nouvelles structures non encore identifiées dans la nature.

Au sujet des rapports existant entre le nombre de produits naturels et ce que le chimiste est capable de préparer, on a estimé qu'il existe environ deux cent mille molécules que la nature nous a offertes. Or, le nombre de molécules que l'on

pourrait préparer avec onze atomes par exemple (en faisant abstraction des atomes d'hydrogène) a été évalué à plus de 26 millions, et en passant à treize atomes, on monte à 960 millions de molécules⁴. Parmi toutes ces possibilités, certaines pourraient devenir demain des médicaments efficaces contre des maladies comme le cancer ou encore la maladie d'Alzheimer...

Comme le nombre de structures de molécules offertes par la nature ou imaginables et synthétisables par le chimiste est quasi-infini, il est impératif de prendre en compte la gestion rationnelle des ressources naturelles pour permettre à la chimie de continuer à synthétiser des molécules à grande échelle. Pour faire face au problème de pénurie de ressources à venir d'ici une trentaine d'années, de nouvelles voies de recherche sont en cours, comme développé dans les *Chapitres de P. Monsan, C. Rupp-Dahlem* et *J. Amouroux*. Nous y découvrons une nouvelle fois comment les chimistes interviennent en adoptant de nouvelles stratégies, et comment les collaborations pluridisciplinaires (biologie, physico-chimie, informatique, ...) se révèlent fécondes.

4. *Molécules virtuelles*, Journal Horizons du FNS, n°81, juin 2009.