

Nature et chimie : des alliées pour accéder à de nouveaux médicaments

Janine Cossy est professeure à l'ESPCI Paris¹ et membre de l'Académie des Sciences.

La chimie a mauvaise presse et pourtant, elle peut être utile et vitale. Parfois on fait même de la chimie sans le savoir – comme Monsieur Jourdain faisait de la prose sans le savoir. Imaginons deux personnes qui se retrouvent à déjeuner dans un restaurant, le jeune homme commence à dire à la jeune femme : « Ha... Ce sourire, ces dents blanches : merci la chimie pour le dentifrice... » (**Figure 1A**) ; puis il

poursuit : « Vos cheveux sont doux et soyeux : sans chimie, pas de shampoings ! » (**Figure 1B**), et d'ajouter : « Votre parfum sucré et envoûtant : encore la chimie !!! » (**Figure 1C**) ; « Et ce ravissant chemisier en fibre synthétique : la chimie !!! » (**Figure 1D**).

Évidemment, après tant de compliments, ce qui doit se passer, arrive : ils tombent amoureux : le coup de foudre (**Figure 1E**). Le coup de foudre, ajoute-t-il, il est dû à la libération de phényléthylamine

1. www.espci.fr

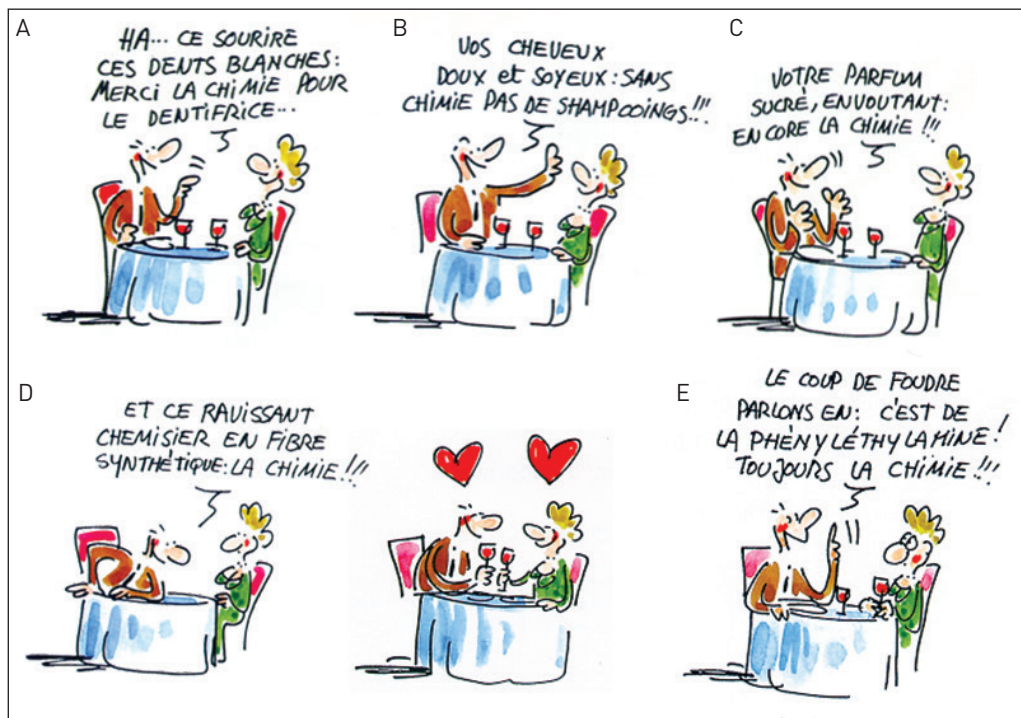


Figure 1

Un couple s'aperçoit que la chimie est omniprésente.

Source : L'Actualité Chimique, n° 229, nov. 1999.

par les amoureux², c'est donc encore de la chimie !

N'allez pas dire aux gens : « Ne tombez pas amoureux sinon vous allez polluer la planète ! ».

Mais les situations ne sont pas toujours aussi agréables que le coup de foudre, en particulier les maladies, qui peuvent rendre la vie difficile (Figure 2). Citons, par exemple, les maladies cardiovasculaires et la dépression, qui sont en augmentation parmi les populations, le diabète, qui affecte même les enfants, la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, les migraines, le cancer, le sida, l'herpès...

Où peut-on trouver des solutions à ces fléaux ? Peut-être

dans la nature, appelée « le magasin du Bon Dieu » par un grand chimiste et pharmacien, Pierre Potier. Si le Bon Dieu a créé les produits naturels biologiquement actifs, en même temps il a dû créer le vent car ces produits sont dispersés dans la terre, dans la mer, dans les airs... (Figure 3). S'il y a une grande diversité de produits biologiquement actifs, en général ils sont présents en très faible quantité dans la nature, et c'est pourquoi le Bon Dieu a créé le « chimiste organicien », en lui donnant trois missions : chercher, extraire et synthétiser (Figure 4).

1 Chercher

En France, 60 % des médicaments sur le marché sont issus de produits naturels ou

2. Phényléthylamine : neurotransmetteur qui stimule la sécrétion de dopamine et de norépinephrine, à l'origine de la sensation de plaisir.



Figure 2

De nombreuses maladies sont en augmentation.



Figure 3

La nature recèle de nombreux produits biologiquement actifs, mais en très faible quantité.



Cherche

Synthétise

Extrait

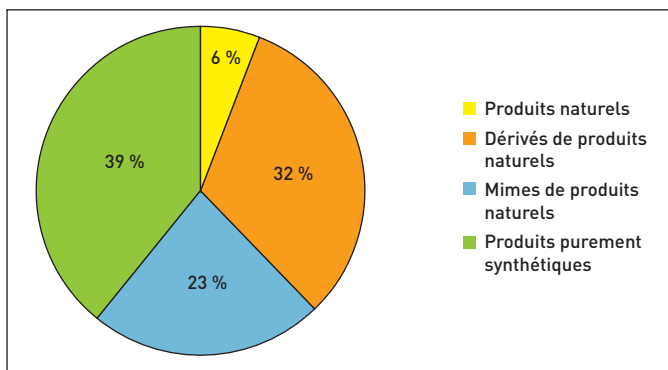
Figure 4

Le « chimiste organicien », chimiste qui fait de la chimie organique, conçoit, cherche, extrait et synthétise des molécules.

Figure 5

Les sources de médicaments en 2017.

Source : d'après *Journal of Natural product* (2017).



sont des dérivés de produits naturels : 6 % sont sous leur forme originelle, 32 % sont des dérivés de produits naturels, 23 % sont des mimes de produits naturels, et les 40 % restants sont des produits purement synthétiques (Figure 5). Dans le cas des anticancéreux, 70 % sont des produits naturels. Signalons qu'il reste encore beaucoup de produits biologiquement actifs à découvrir car seuls 2 % des ressources naturelles ont été explorés !

Pour trouver des produits naturels bioactifs, il faut savoir observer, avoir du bon sens et

ne pas négliger les médecines traditionnelles. Prenons le cas du pavot : trois mille ans avant Jésus-Christ, les Sumériens s'étaient rendus compte que les capsules de pavot extrudaient un latex et, lorsque les hommes mâchaient ce latex, ils étaient somnolents et ne ressentait plus la douleur. Quand ce latex était fumé, les fumeurs voyaient la « vie en rose », ce latex contient donc un stupéfiant, l'opium (Figure 6). Quelle est la substance responsable des propriétés observées ? Pour le savoir, il faut extraire cette substance et effectuer son identification.

Figure 6

Les propriétés multiples (somnifères, sédatives, analgésiques, ou encore stupéfiantes) des extraits des graines de pavot ont été découvertes trois siècles avant J.-C.



2 Extraire

Comment procèdent les chimistes pour isoler le principe actif d'une plante ? (Figure 7)

Reprenons le cas du pavot. Pour isoler la substance active du pavot, on récolte la fleur, on la sèche puis on réalise une extraction avec de l'eau et un solvant (alcool, éther, acétone...), lequel est évaporé pour obtenir ce qu'on appelle un extrait brut, que l'on va purifier en utilisant des techniques de séparation à l'aide, par exemple, d'une colonne remplie de silice. L'extrait brut va être fractionné et les fractions vont être collectées dans différents récipients (représentées en couleur sur la Figure 8). Ce qu'il faut savoir, c'est que les

produits sont plus ou moins bien retenus sur la silice selon leur structure et ne vont donc pas sortir en même temps de la colonne. On va réaliser des fractions et rechercher celles qui possèdent le même effet que celui du latex. Dans le cas du pavot, les premières fractions ne contiennent pas le produit avec l'effet recherché, en revanche on trouve l'effet recherché dans la quatrième fraction. Celle-ci contient donc le principe actif mais il est accompagné d'autres produits (impuretés), qu'il faut donc éliminer et pour obtenir le produit actif pur. Une fois le produit débarrassé de ces impuretés (par chromatographie, distillation, cristallisation...), sa structure est déterminée par différentes méthodes d'analyse telles que la résonance



Figure 7

Les chimistes ont depuis longtemps extrait des molécules biologiquement actives à partir du milieu naturel.

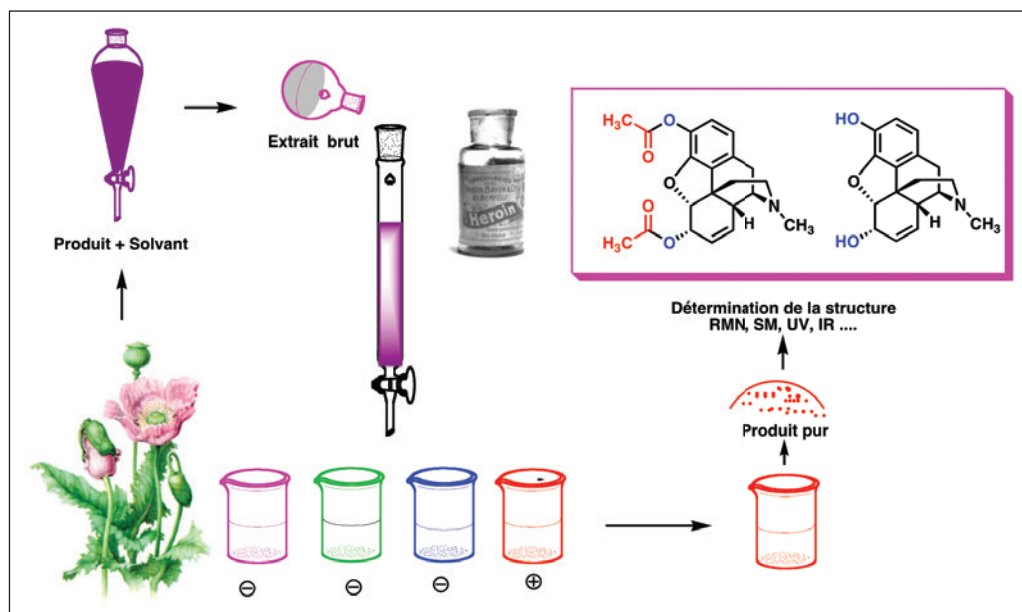


Figure 8

Étapes d'une purification dirigée d'un principe actif. Cette purification donne une première molécule, la morphine (en haut à droite), qui est un produit naturel. Ce produit a été modifié par les chimistes (transformation des groupements -OH, en bleu, en acétates, en rouge) et ils ont obtenu l'héroïne.



Figure 9

Paracelse, médecin suisse du XVI^e siècle, déclarait : « Tout est poison, rien n'est poison, c'est la dose qui fait le poison. »

magnétique nucléaire (RMN), la spectrométrie de masse (SM), la spectrométrie ultraviolet (UV), l'infrarouge (IR), etc. (Figure 8). Le produit actif présent dans le latex du pavot est la morphine.

Il faut savoir que chaque fois que les chimistes trouvent un produit naturel, ils vont effectuer des modifications chimiques pour avoir un produit soit plus actif, soit moins toxique et/ou plus spécifique. Dans le cas de la morphine, un groupement hydroxyle (-OH, en bleu) a été transformé en acétate (en rouge) et les chimistes ont eu accès à... l'héroïne ! (Figure 8). Le pavot étant une plante annuelle, sa récolte et son extraction ne sont pas néfastes à la flore puisque tous les ans le pavot peut repousser.

Signalons que la morphine, connue pour être dangereuse, peut être donnée à des enfants dans certaines pathologies, mais évidemment en très petite quantité. Dans ce cadre, citons la phrase d'un médecin suisse du XVI^e siècle, Paracelse, qui déclarait « *Tout est poison, rien n'est poison, c'est la dose qui fait le poison* » (Figure 9).

Il faut faire attention à quelques idées reçues et fausses concernant les produits naturels. Ce n'est pas parce qu'on traite une maladie avec un produit naturel qu'il n'est pas dénué d'effets secondaires et/ou de toxicité. Citons le cas d'une femme qui avait lu que les huiles essentielles pouvaient avoir un effet bénéfique sur la santé, si bien qu'elle en a enduit son enfant, lequel en est décédé du fait de l'utilisation d'une quantité trop importante de ce produit.

Prenons maintenant l'exemple de l'if. Au Moyen Âge : on s'était rendu compte que ce conifère était un empoisonneur de bétail. Les ifs ont donc été supprimés des pâtures et on les a plantés à côté des cimetières afin que le bétail n'aille pas les brouter. Or, lors de leurs longues courses, les cavaliers s'arrêtaient sous les ifs avec leurs chevaux, lesquels mourraient trois jours après.

Il a fallu attendre les années 1960 pour que des chercheurs américains s'intéressent à l'if de Californie et essaient de trouver le principe actif responsable de la mort des animaux. Les chercheurs ont réalisé des extractions grossières de l'écorce, des aiguilles et des fruits de l'if afin d'extraire le principe actif responsable de la toxicité. Ces chercheurs se sont rendus compte que l'écorce contenait un produit toxique contre les cellules cancéreuses qu'ils ont appelé *taxol*.

Il est à noter qu'à partir de 20 kg d'écorce sèche, seul 1 g de taxol est extrait (Figure 10). Or, si on veut guérir tous les cancéreux de la Terre avec le produit extrait de l'écorce d'if, il va falloir détruire toutes les forêts d'ifs du monde, ce qui conduirait non seulement à un désastre écologique – un if ne repousse pas en un an –, mais on ne pourrait d'ailleurs pas guérir tous les cancéreux. Il fallait donc trouver une solution.

À l'époque, Pierre Potier, directeur de l'Institut de Chimie des Substances Naturelles (ICSN, associé au CNRS), s'était dit que s'il y avait un principe actif dans l'écorce d'if, il y avait peut-être

le même principe actif dans ses aiguilles. Si c'est le cas, les forêts d'ifs ne seraient plus détruites puisque les aiguilles repoussent annuellement. Son équipe s'était donc mise

à extraire les produits présents dans les aiguilles d'if... Et ils n'ont pas trouvé le taxol, mais ils ont extrait un autre produit, la déacétylbaccatine [Figure 11]. Celle-ci semble

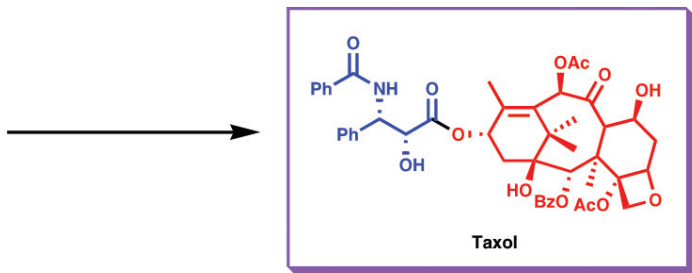


Figure 10

Issu de l'if, le taxol est une molécule toxique contre les cellules cancéreuses.



20 Kg d'écorce sèche
1g de produit

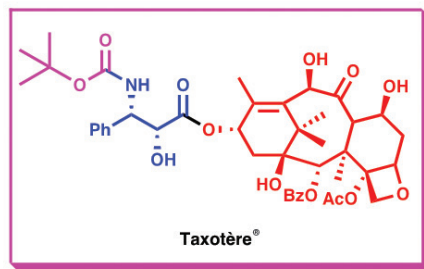
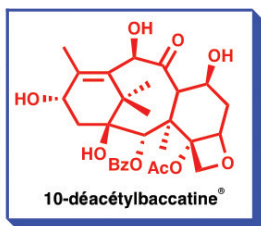
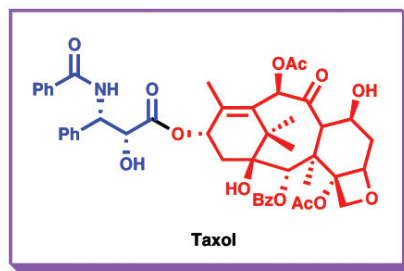


Figure 11

L'équipe de Pierre Potier à l'Institut de Chimie des Substances Naturelles (ICSN, Gif-sur-Yvette) a synthétisé le Taxotère®, anticancéreux actuellement commercialisé par Sanofi.

être un précurseur du taxol et, pour la transformer en taxol, il suffit de rajouter chimiquement un petit fragment, ce qu'un chimiste organicien est capable de faire. Au cours de ce travail de transformation chimique de la déacétylbaccatine, les chimistes de l'ICSN ont obtenu un intermédiaire qui s'est révélé être très actif sur les cellules cancéreuses et qu'ils ont appelé *Taxotère*[®]. Ce produit a été mis sur le marché par Rhône-Poulenc à l'époque, et il est actuellement commercialisé par Sanofi.

Pour notre part, nous nous intéressons à la synthèse d'antibiotiques, d'anti-inflammatoires et principalement à la synthèse d'antitumoraux/anticancéreux. Le cancer est un véritable fléau qu'il faut éradiquer. En France, on compte environ 1 000 nouveaux cas de cancer par jour et 400 décès par jour. Trois millions de personnes vivent avec un cancer latent. La détection précoce est l'une des conditions pour avoir des chances de guérir d'un cancer, en recourant à des thérapies telles que la

chimiothérapie, la radiothérapie et/ou la chirurgie.

La chimiothérapie utilise souvent des produits de faible index thérapeutique, ce qui signifie qu'il faut beaucoup de produit pour avoir une activité anticancéreuse intéressante. De plus, les anticancéreux sont toujours associés à des effets secondaires importants tels que la diminution du nombre de cellules sanguines, une grande fatigue, des nausées, des vomissements, la chute des cheveux, la perte des ongles...

Le cancer est une maladie complexe, il n'y a pas un cancer mais une diversité de cancers. Comme chacun sait, il s'agit d'une prolifération anormale de cellules. Cependant, cette prolifération peut être stoppée à différents stades du cycle cellulaire (*Figure 12*). Ce cycle peut être arrêté au moment où il commence ou lorsque la cellule grossit, au stade de la réplication de l'ADN, lorsque la cellule commence à se diviser, ou encore au stade de la mitose (*Figure 12*).

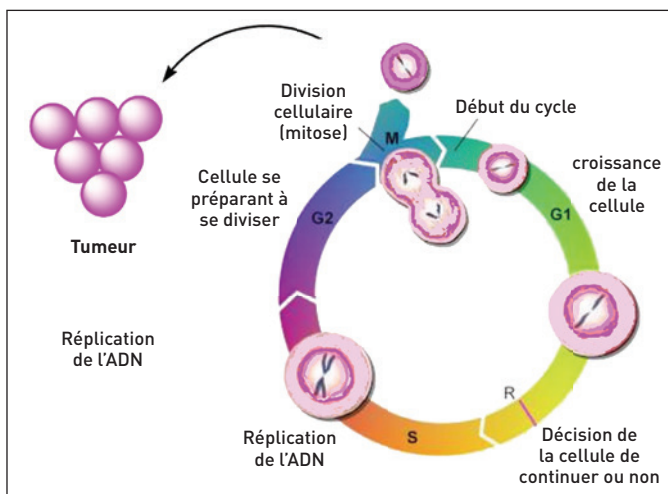


Figure 12

La prolifération des cellules cancéreuses peut être stoppée à différents stades du cycle cellulaire.

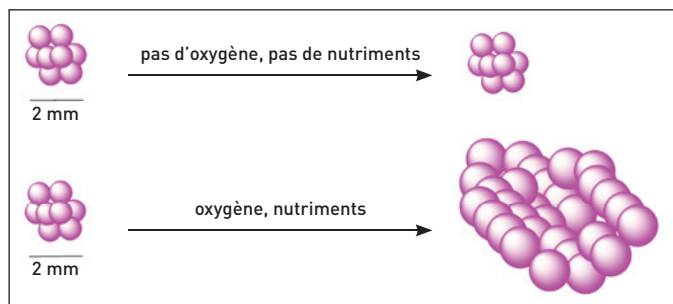


Figure 13

Une tumeur de 2 mm ne peut pas grossir en l'absence d'un minimum de nutriments et d'oxygène.

Si on ne peut pas arrêter la division cellulaire, une tumeur va se développer. Il faut savoir qu'une tumeur de 2 mm ne pourra pas se développer si elle n'a pas de nutriments et/ou d'oxygène (Figure 13).

Cependant, pour survivre, la tumeur va envoyer un signal : le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF)³, qui est un petit peptide³. Ce dernier va se fixer sur un récepteur porté par les vaisseaux sanguins, dont il va entraîner la prolifération autour de la tumeur. Celle-ci sera alors alimentée en nutriments et en oxygène, et pourra grossir (Figure 14).

Pour que le petit peptide soit actif, il faut qu'il adopte une conformation 3D repliée (Figure 15). Or, dans les cellules cancéreuses, les petits

peptides et les protéines sont sous la forme non repliée, donc non actifs. C'est là qu'intervient la protéine Hsp 90, une protéine dite « chaperone », qui permet le repliement des peptides dans une conformation 3D, leur permettant de devenir actifs.

L'obtention d'un peptide actif à partir d'un peptide non actif passe par la formation d'un « complexe intermédiaire » du peptide non replié avec Hsp 90 et, grâce à l'ATP (source d'énergie), le complexe intermédiaire est alors transformé en « complexe mature », qui va se dissocier et donner naissance au peptide dans sa conformation 3D repliée. Celui-ci devient actif, entraînant le développement de la tumeur. La lutte contre le cancer passe donc par l'inactivation de la protéine chaperone Hsp 90 en bloquant la

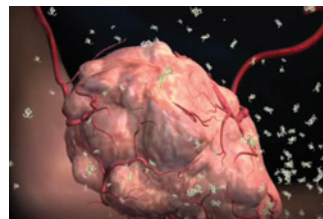


Figure 14

Les vaisseaux sanguins apportent à la tumeur l'oxygène et les nutriments nécessaires à sa croissance.

3. Peptide : enchaînement d'un petit nombre d'acides aminés.

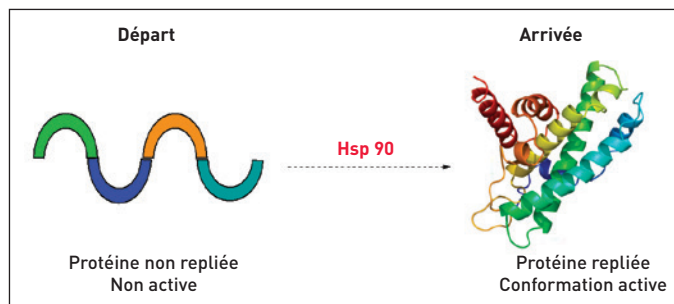


Figure 15

Les protéines ou les peptides sont actifs lorsqu'ils sont dans une conformation 3D repliée. Ce repliement est induit par la protéine chaperone Hsp 90.

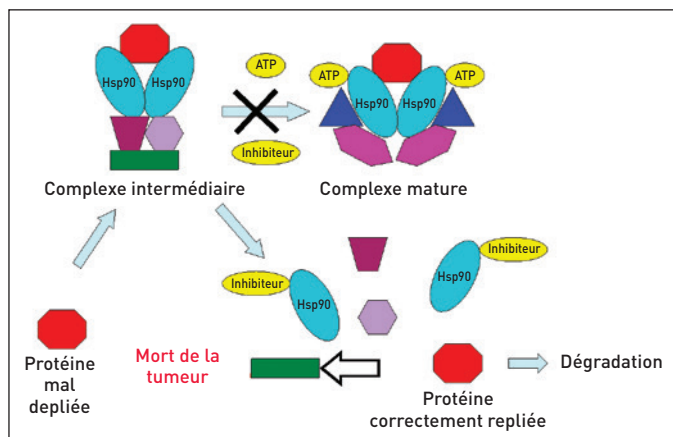


Figure 16

Mécanisme d'action de la protéine chaperone Hsp 90 (sans inhibiteur et avec inhibiteur).

formation du complexe mature (Figure 16).

À ce stade, une difficulté apparaît. Dans les cellules normales sous stress (dû à une augmentation de température, à un pH anormal, à l'absence de nutriments, à des métaux lourds, ou encore à la cigarette...), il va y avoir une accumulation de peptides non repliés dans la cellule normale et la protéine chaperone Hsp 90 va également intervenir pour régénérer les peptides dans leur conformation 3D repliée, devenant actifs et assurant la vie de la cellule normale. Comme dans le cas des cellules cancéreuses, un inhibiteur de la protéine chaperone Hsp 90 entraînera le non repliement des peptides, ce qui induira la mort des cellules normales qu'il faut absolument éviter...

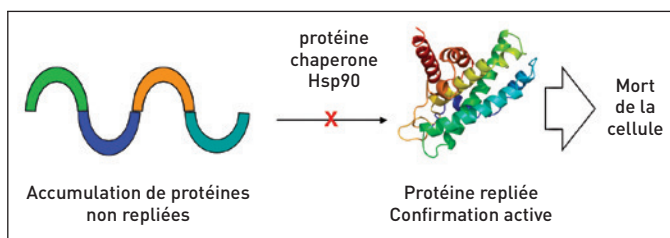
Il faut donc trouver un inhibiteur plus actif sur la protéine Hsp 90 présente dans les cellules cancéreuses que sur la protéine Hsp 90 présente dans les cellules normales (Figure 17).

En 1979, des inhibiteurs de Hsp 90 ont pu être isolés d'une espèce de champignon, en particulier l'herbimycine. La structure de cette molécule a été établie comme étant une benzoquinone (en noir) incluse dans un macrocycle (en rouge) (Figure 18). Des tests biologiques effectués au National Cancer Institute (NCI, États-Unis) ont permis de constater que ce produit inhibait la croissance des cellules cancéreuses avec un IC_{50} de 10 nanomolaires (nM) (Figure 19). L' IC_{50} est la quantité de produit nécessaire pour inhiber le processus de développement cellulaire de 50 %, elle représente donc l'efficacité du produit. L'herbimycine est un inhibiteur de la protéine chaperone Hsp 90 et elle est 500 fois plus active dans les cellules cancéreuses que dans les cellules normales.

Ce produit est très peu abondant dans la nature, seuls quelques microgrammes ont été isolés et il n'y a pas de précurseur pour atteindre cette molécule (Figure 19). Le recours à la synthèse chimique devient alors indispensable pour obtenir l'herbimycine en quantités appréciables.

Figure 17

Un inhibiteur de la protéine chaperone Hsp 90 permet d'arrêter le repliement des protéines dans leur conformation 3D repliée, induisant la mort de la cellule.



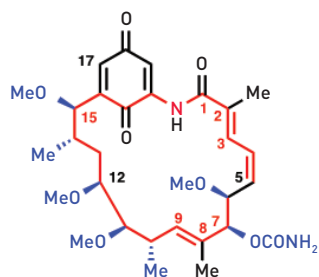


Figure 18

L'herbermycine A est un inhibiteur de Hsp 90.

3 Synthétiser

Le chimiste doit trouver des stratégies et des méthodes, ainsi que des outils synthétiques appropriés, pour obtenir efficacement les molécules cibles. Dans un premier temps, le chimiste va concevoir une stratégie (analyse rétrosynthétique) et, dans un deuxième temps, il réalisera la construction de la molécule au laboratoire selon la stratégie qu'il aura établie (Figure 20).

3.1. Analyse rétrosynthétique et stratégie

Comment établit-on des stratégies de synthèse ? En

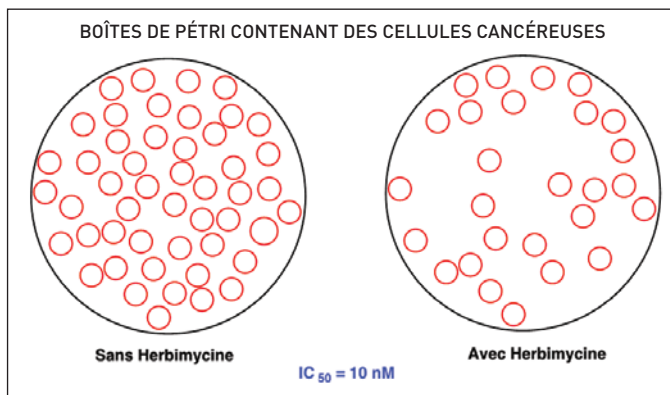


Figure 19

L'herbermycine a une meilleure affinité pour les cellules cancéreuses que pour les cellules normales. Une diminution de la croissance des cellules cancéreuses est observée en présence d'herbermycine dans une boîte de Pétri.

réalisant une analyse rétrosynthétique, qui consiste à dessiner la molécule et à rompre virtuellement des liaisons qui semblent stratégiques afin de pouvoir les construire ensuite expérimentalement au laboratoire. Si on représente l'herbermycine par des sphères telles que dessinées sur la Figure 21, certaines liaisons vont être coupées virtuellement pour avoir des petits fragments, représentés par les billes rouge, bleue, noire et violette. Une fois ce

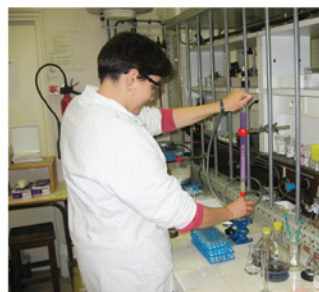


Figure 20

Les chimistes effectuent la synthèse des molécules d'origine naturelle ou synthétique selon des stratégies préalablement établies.

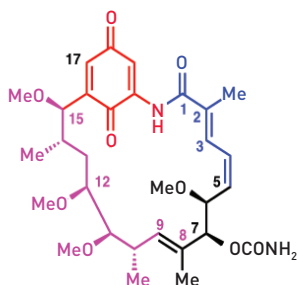
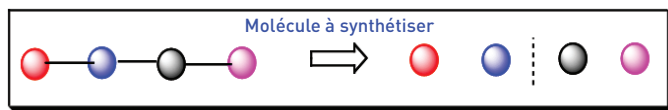


Figure 21

La rétrosynthèse consiste à imaginer des coupures de liaisons pour accéder à des fragments qui seront synthétisés puis assemblés pour accéder à la molécule désirée.

travail effectué, le chimiste va réaliser la synthèse de ces billes et les assembler pour obtenir la molécule désirée.

Il existe plusieurs façons de réaliser la synthèse d'une molécule complexe à partir de fragments, soit selon une stratégie linéaire, soit selon une stratégie convergente.

Dans le cas de la stratégie linéaire, les fragments rouge et bleu sont synthétisés puis assemblés pour obtenir une molécule rouge-bleue (Figure 22). On réalise ensuite la synthèse du fragment noir qui est assemblé avec la molécule rouge-bleue pour obtenir la molécule rouge-bleue-noire. Le fragment violet est ensuite synthétisé et assemblé avec la molécule rouge-bleue-noire pour obtenir la molécule finale. En

considérant cette voie de synthèse linéaire, si pour chaque étape le rendement est de 50 %, le rendement global en produit désiré est de 12 %.

Une autre stratégie, beaucoup plus intéressante que la synthèse linéaire, est la synthèse convergente (Figure 23). La synthèse des mêmes fragments rouge, bleu, noir et violet sera toujours réalisée, mais l'assemblage de ces fragments va être différent. Dans un premier temps, les fragments rouge et bleu vont être assemblés pour donner la molécule rouge-bleue, et, en parallèle, on va réaliser l'assemblage du fragment noir avec le fragment violet pour accéder à la molécule noire-violette. Dans un deuxième temps, les molécules rouge-bleue et noire-violette vont être assemblées pour accéder à la molécule finale. Selon cette stratégie, la molécule désirée sera obtenue avec un rendement de 25 % si les étapes A et B ont un rendement de 50 % (Figure 23).

C'est la stratégie convergente, beaucoup plus intéressante que la stratégie linéaire, qui a été utilisée pour réaliser la synthèse de l'herbimycine. Les liaisons indiquées par des traits pointillés sur la Figure 24 ont été coupées virtuellement, et quatre fragments doivent alors être synthétisés.

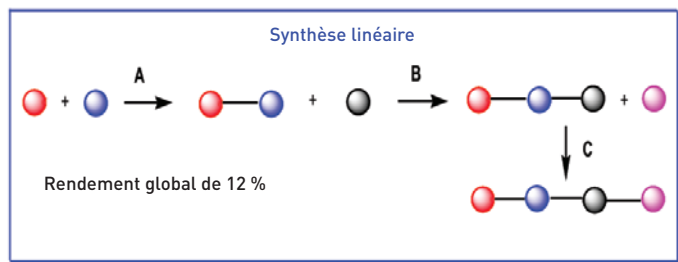


Figure 22

Synthèse linéaire.

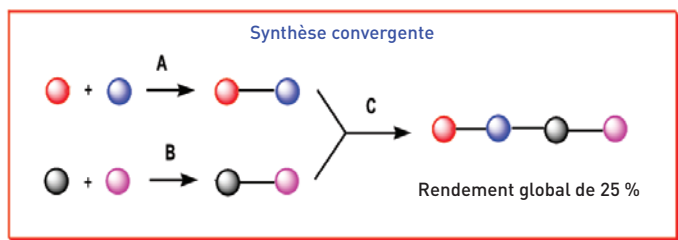


Figure 23

Synthèse convergente.

3.2. Synthèse

Les quatre fragments résultants de l'analyse rétrosynthétique ont donc été synthétisés et assemblés (Figure 25). Il restait ensuite à construire le macrocycle de l'herbimycine.

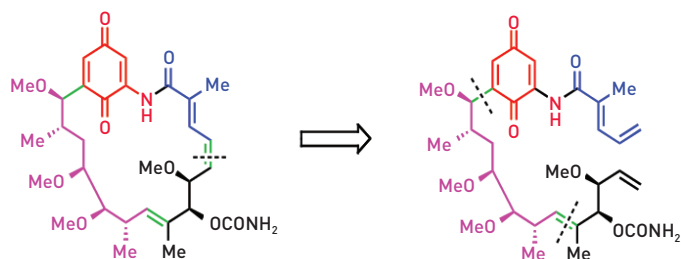


Figure 24

Analyse rétrosynthétique de l'herbimycine A.

Herbimycine A

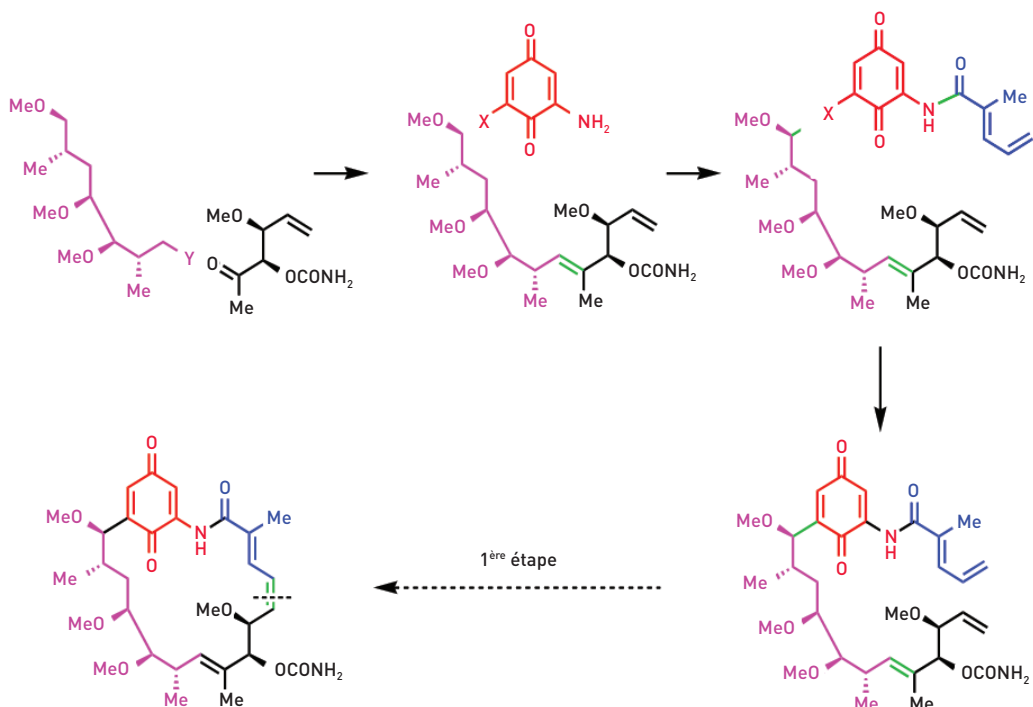
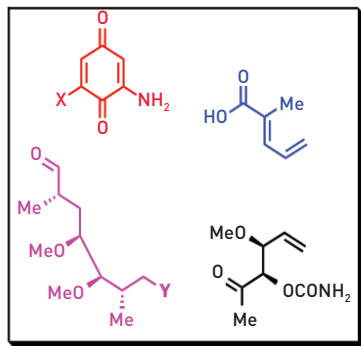


Figure 25

Étapes de synthèse de l'herbimycine A.

Figure 26

Yves Chauvin, Robert H. Grubbs et Richard R. Shrock, prix Nobel de chimie 2005 pour la métathèse des oléfines.

Source : R. Paz, L. B. Hetherington, www.nobelprize.org.



La fermeture du cycle, qui est l'une des étapes finales, doit se faire rapidement et efficacement pour ne pas perdre la matière précieuse synthétisée auparavant.

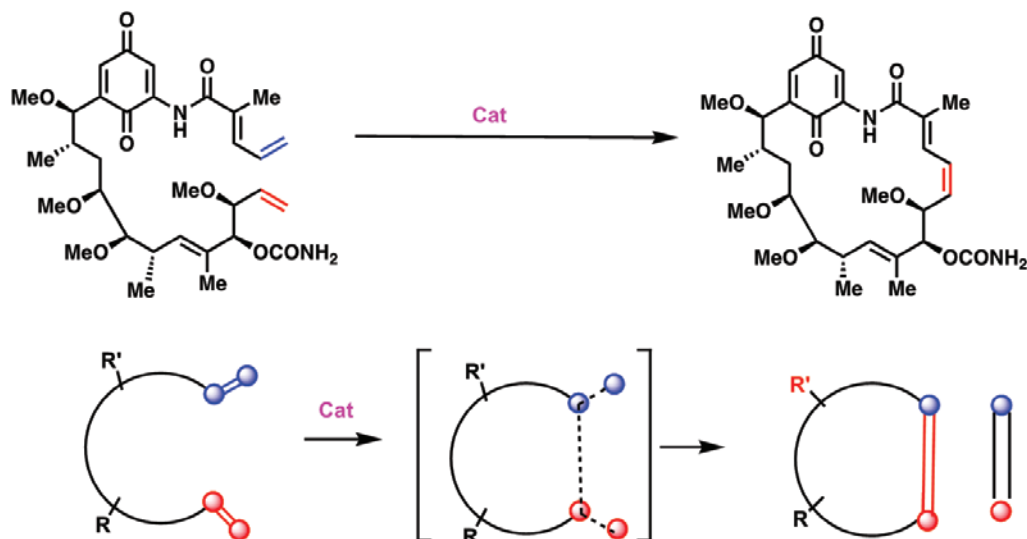
Grâce aux travaux sur la métathèse d'oléfines⁴, effectués par Y. Chauvin, R. H. Grubbs, et R. R. Shrock (prix Nobel de chimie en 2005) (Figure 26), et l'utilisation d'un catalyseur puissant mis au point par Grubbs, l'herbimycine a été formée

efficacement par construction d'une double liaison, présente dans le macrocycle de l'herbimycine (Figure 27, en rouge à droite), grâce à une métathèse d'oléfines (liaisons bleue et rouge à gauche).

Cette synthèse a été réalisée en deux ans, mais le côté positif de la synthèse est que nous avons pu avoir accès à des dérivés qui se sont révélés plus actifs et plus sélectifs que le produit naturel lui-même. C'est ainsi qu'en remplaçant un groupe méthyle (-CH₃), indiqué par une chaîne en rose (Figure 28), l'activité de l'herbimycine a été améliorée (Figure 28).

Figure 27

Étape de fermeture de cycle par métathèse intramoléculaire.



3.3. Vectorisation de drogues vers la tumeur

Après avoir déterminé l'activité des molécules sur les cellules, il faut les tester *in vivo*, c'est-à-dire sur des souris et d'autres animaux vivants, avant d'étudier leur efficacité chez l'homme. Il faut savoir que tout produit peut avoir des effets secondaires indésirables et qu'il est important de pouvoir les minimiser. Comment peut-on diminuer les effets secondaires d'un candidat-médicament ? Une réponse peut être le ciblage spécifique des cellules cancéreuses (Figure 29).

Comparons le médicament à une roquette et la cellule cancéreuse à un ballon de baudruche. Si on veut faire éclater uniquement le ballon de baudruche par la roquette, il faut que la roquette soit attirée spécifiquement vers ce ballon.

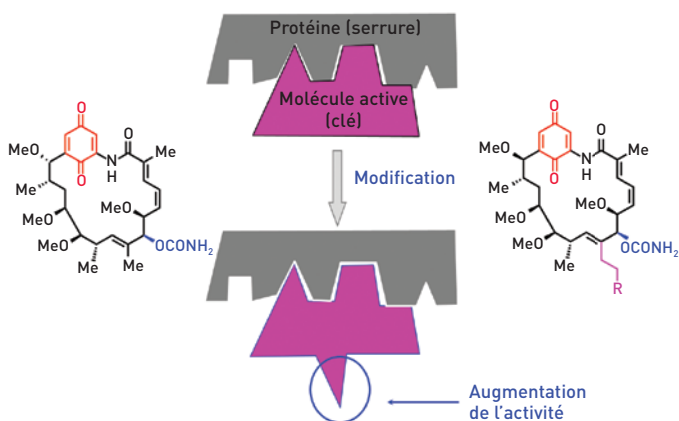


Figure 28

L'ajout d'une chaîne (en bas en rose) augmente l'activité de la molécule.

Sachant que les cellules cancéreuses possèdent à leur surface des antigènes, et qu'il existe des anticorps qui les reconnaissent spécifiquement, l'idée était donc d'attacher un anticorps à la roquette (le médicament). L'anticorps attaché à la roquette reconnaîtra uniquement l'antigène de la cellule cancéreuse, si bien que celle-ci sera détruite spécifiquement (Figure 30).

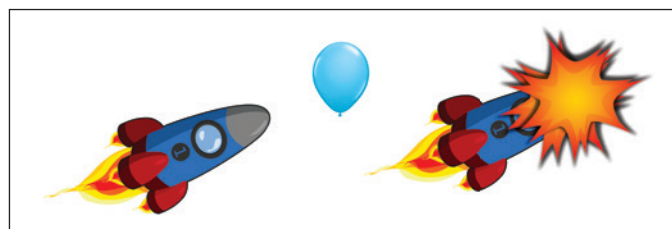


Figure 29

Pour tuer les cellules cancéreuses (symbolisées par le ballon de baudruche) par une roquette (anticancéreux), il est important de les cibler spécifiquement.

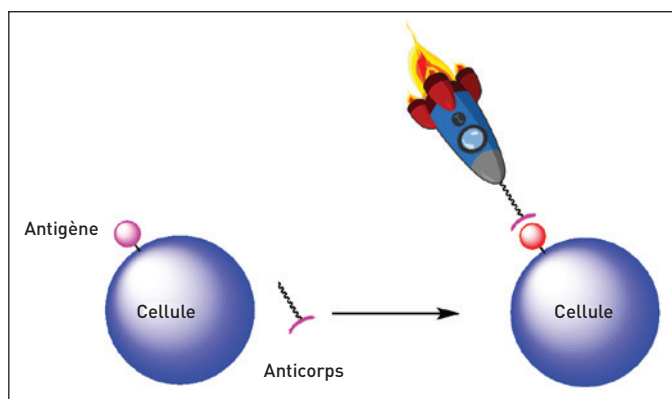


Figure 30

Ciblage spécifique des cellules cancéreuses par la roquette (médicament) armée de l'anticorps.

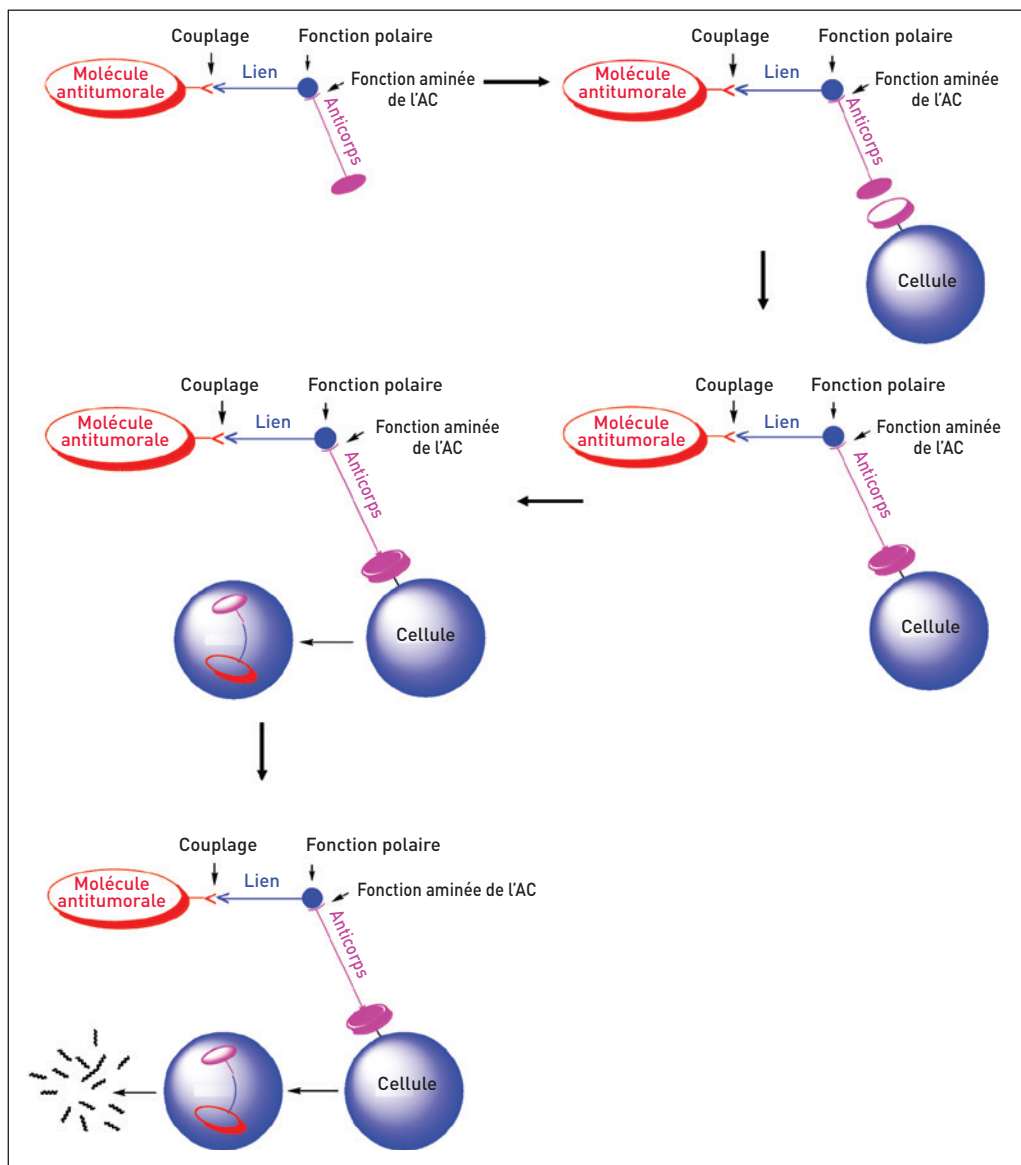
La roquette armée d'un anticorps spécifique des cellules cancéreuses s'appelle un immunoconjugué (voir aussi le *Chapitre de M.-P. Brun* dans cet ouvrage *Chimie et nouvelles thérapies*, EDP Sciences, 2020). Un immunoconjugué est constitué d'une molécule anticancéreuse (une petite molécule toxique) que l'on raccorde

à un anticorps à l'aide d'un lien. L'anticorps va reconnaître l'antigène et, après pénétration de l'immunoconjugué dans la cellule (internalisation), la cellule cancéreuse sera détruite (*Figure 31*).

Pour notre part, nous nous sommes intéressés aux tumeurs de la vessie, dont on compte environ 100 000 cas par

Figure 31

Action des immunoconjugués sur les cellules cancéreuses.



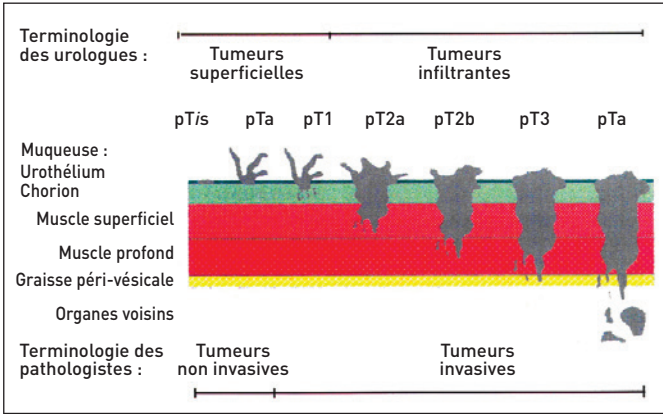


Figure 32

Les différents types de tumeurs de la vessie.

an en France. Certaines de ces tumeurs sont superficielles (**Figure 32**, à gauche) et vont probablement pouvoir être éradiquées, mais certaines sont invasives (**Figure 32**, à droite) et beaucoup plus difficiles voire impossible à éradiquer.

Pour le traitement du cancer de la vessie, seuls quelques traitements sont efficaces, en particulier le BCG, qui permet de traiter 60 % des tumeurs superficielles avec succès. Cependant, 40 % des cas ne répondent pas au traitement et une ablation de la vessie doit être effectuée, ce qui est extrêmement invalidant.

Au sein de la société Acanthe Biotech, créée avec le Dr L. Edelman, des anticorps de la tumeur de la vessie ont été préparés et des immunoconjugés ont donc été synthétisés à partir de ces anticorps. Les tests effectués avec ces immunoconjugés ont montré que l'on avait bien internalisation de l'immunoconjugué dans les cellules cancéreuses et leur destruction.

Des essais sur des souris ayant des tumeurs vésicales devront

être effectués pour montrer l'efficacité de ces immunoconjugés *in vivo*. Signalons que la synthèse de ces immunoconjugés est longue et les purifications sont parfois difficiles.

Quel autre moyen simple peut-on envisager pour vectoriser spécifiquement les molécules anticancéreuses vers la tumeur ?

Nous avons envisagé d'encapsuler l'anticancéreux dans une « coquille » (**Figure 33**). Ce principe peut être représenté par un œuf : l'anticancéreux

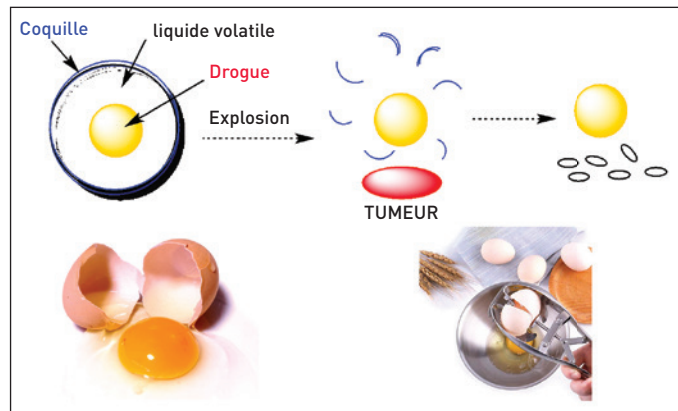


Figure 33

Le défi est de pouvoir larguer le médicament au niveau la tumeur.

Figure 34

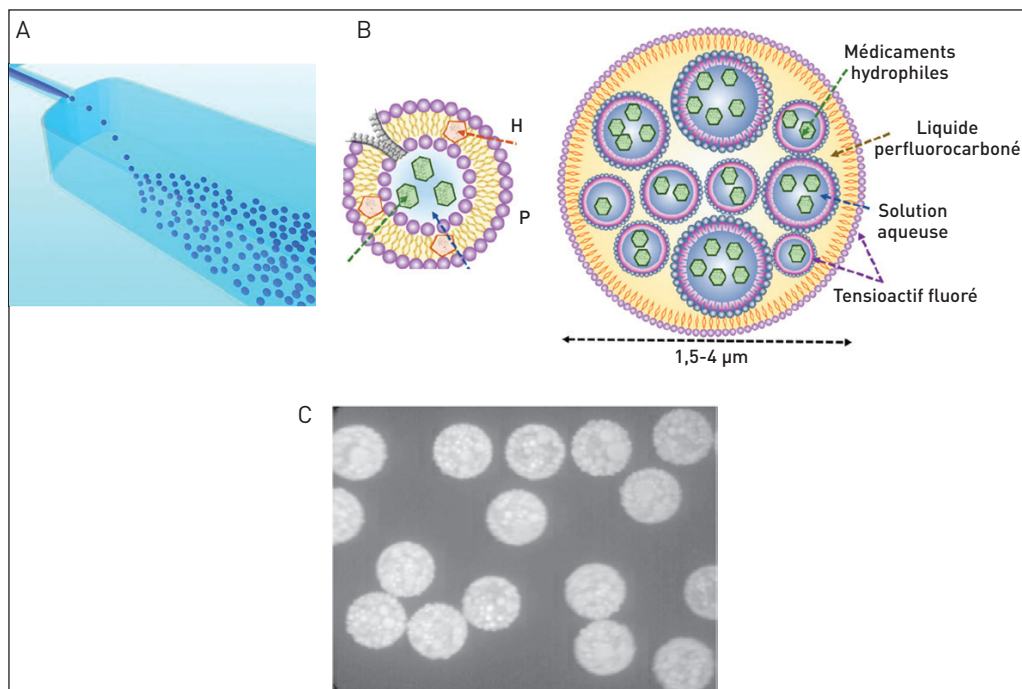
A) Système microfluidique permettant de générer des microgouttelettes contenant un produit ; B) encapsulation des médicaments dans des microgouttelettes composites ; C) microgouttelettes contenant de la fluorescéine et préparées par microfluidique.

étant le jaune d'œuf, le blanc d'œuf un liquide volatil non toxique, et la coquille permettant d'isoler le liquide contenant l'anticancéreux du milieu extérieur. Si on arrive à vectoriser l'œuf au niveau de la tumeur et si on arrive à le casser au niveau de la tumeur, on devrait pouvoir avoir le dépôt de l'anticancéreux juste au niveau de la tumeur, ce qui permettrait de la détruire spécifiquement et de minimiser et/ou supprimer les effets secondaires.

Dans le but de larguer le produit au niveau de la tumeur, nous avons encapsulé des produits dans des microgouttelettes (Figure 34A), qui sont elles-mêmes encapsulées dans des microgouttelettes (« microgouttelettes composites ») afin d'éviter les fuites du produit vers le milieu extérieur. La « coquille » est

constituée d'un fluorosurfactant (tensioactif fluoré), le blanc de l'œuf est un solvant fluoré et le jaune d'œuf correspond au produit.

Nous avons pu obtenir ces microgouttelettes composites grâce à des techniques de microfluidique (Figure 34B) et la preuve de concept a été réalisée avec de la fluorescéine (Figure 34C). Les microgouttelettes fabriquées ont une haute capacité de stockage des produits, puisque les deux tiers du volume de la microgouttelette sont occupés par le produit. Notons qu'avec ce système d'encapsulation, il est important de trouver le bon tensioactif pour qu'il n'y ait pas de fuite du produit vers l'extérieur. Ayant ces microgouttelettes en main, la phase suivante consiste à effectuer le largage



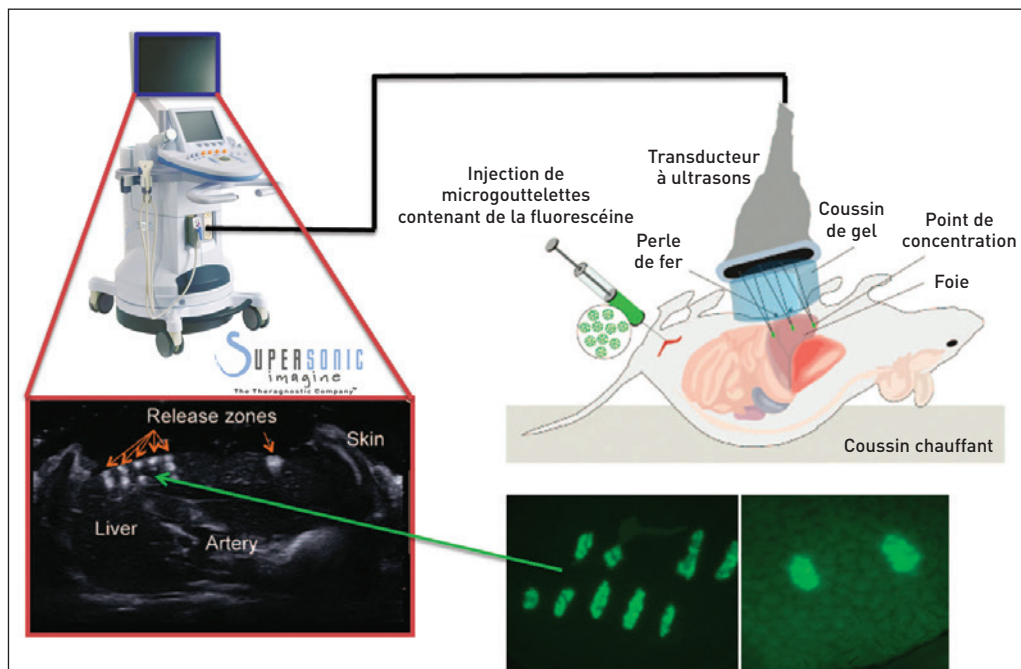


Figure 35

Test sur une souris et largage de la fluorescéine encapsulée au niveau du foie à l'aide d'un échographe ultrasonique.

du produit au niveau de la tumeur (Figure 35).

Le largage du produit contenu dans les microgouttelettes s'effectue à l'aide d'ultrasons. Les ultrasons peuvent être produits par des échographes ultrasoniques commerciaux (Figure 35) présents dans les hôpitaux et les cliniques. L'avantage des échographes ultrasoniques est qu'ils permettent à la fois de visualiser la tumeur, et d'effectuer le largage du produit encapsulé au niveau de la tumeur par éclatement des microgouttelettes. Pour établir la preuve de concept, des microgouttelettes contenant de la fluorescéine ont été injectées à une souris par voie intraveineuse et, après avoir repéré le foie

à l'aide de l'échographe, des ultrasons ont été envoyés sur ce foie. À chaque impulsion d'ultrason, on observe l'éclatement des microgouttelettes et le largage de la fluorescéine (Figure 35).

4 Tests biologiques et mise sur le marché d'un médicament

Après avoir isolé une molécule active et/ou réalisé sa synthèse, et avant de mettre un composé sur le marché, il faut effectuer des tests biologiques *in vitro* (sur des cellules), puis *in vivo*, sur des souris et autres animaux avant de pouvoir les tester sur l'homme en respectant un protocole précis qui consiste en une phase 1, 2, 3

et 4 de tests biologiques (Figure 36).

Pour la **phase 1**, qui dure en général un an, on fait appel à des volontaires sains, 10 à 20 personnes, pour confirmer la tolérance du produit et avoir des paramètres pharmacocinétiques, c'est-à-dire son devenir après son administration, son adsorption, sa distribution, son métabolisme...

Si la phase 1 est concluante, la **phase 2** est alors entreprise. Celle-ci dure de un à trois ans et elle est réalisée sur 100 à 200 patients. À ce stade, la preuve de concept est réalisée. L'efficacité et la tolérance du produit, ainsi que les effets secondaires et la toxicité, sont étudiés. La dose active est déterminée avant de passer à la phase suivante. Les tests sont tous réalisés « en double aveugle ». À ce stade, la formulation du médicament – additifs, présentation sous forme de gélules, de comprimés... – est effectuée.

Une troisième phase est alors mise en œuvre. La **phase 3**,

qui dure deux à quatre ans, est réalisée sur 1 000 à 5 000 patients. Cette phase coûte extrêmement cher, 2 000 à 10 000 euros par patient. Elle implique une vérification statistique de l'efficacité sur un nombre limité d'indications, avant d'être étendue à d'autres indications (présence d'anomalies, boutons, démangeaisons, etc.).

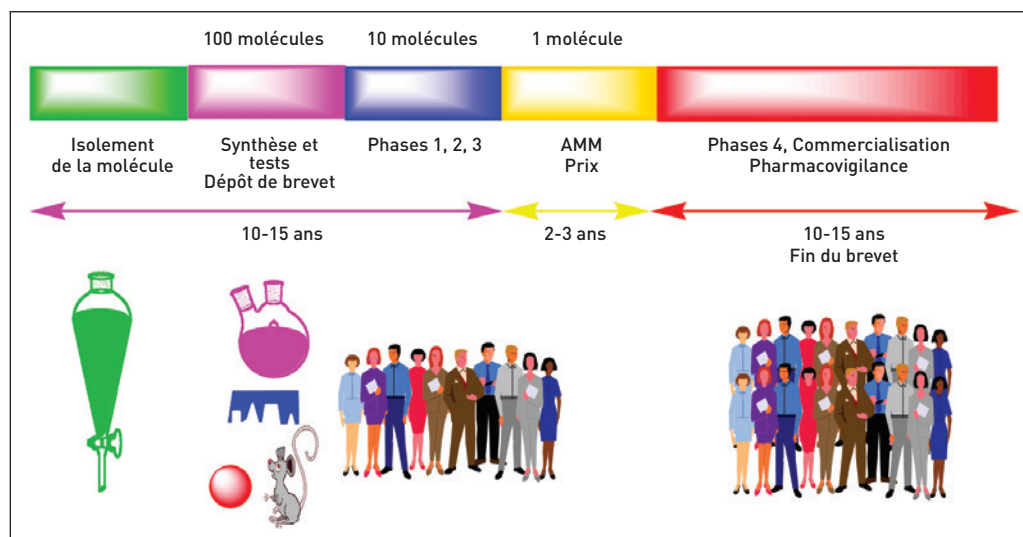
De l'isolement de la molécule ou de sa conception et/ou à sa synthèse jusqu'à la phase 3, il se passe dix à quinze ans pour réaliser tous les tests. Dans le cas des anticancéreux, le processus peut être plus rapide.

L'aboutissement du processus est l'obtention d'une autorisation de mise sur le marché (AMM) et, à ce stade, le prix de la molécule est déterminé et les conditions commerciales vont être établies. Cette phase peut durer de deux à trois ans.

La dernière phase, la **phase 4**, est la commercialisation du médicament. Il faut savoir qu'un médicament est toujours sous pharmacovigilance

Figure 36

De la phase d'isolement de la molécule aux tests in vitro et in vivo.



et qu'il peut être retiré du marché à tout moment si des effets indésirables apparaissent chez les patients. C'est ainsi que le Vioxx, un anti-inflammatoire efficace mis sur le marché par Merck aux États-Unis, a été retiré du marché. Après la prise de ce médicament, quelques personnes sont décédées. Pourquoi ? Est-ce à cause du médicament par lui-même ? Est-ce que les patients avaient pris des doses trop importantes ? Est-ce que la prise de ce médicament avait été associée à la prise d'un autre médicament entraînant un effet néfaste ? Quelle que soit la raison, les autorités ont décidé de retirer cet anti-inflammatoire du marché.

Un produit peut rester environ une quinzaine d'années sur le marché avant de tomber dans le domaine public. De la découverte de la molécule active à la

fin du brevet, qui permet de couvrir les intérêts de l'industriel, une trentaine d'années se sont écoulées (*Figure 37*).

Le parcours d'un médicament n'est pas un long fleuve tranquille, c'est un jeu de pistes et malgré tous les tests réalisés, les doses établies pour éviter les problèmes, le succès d'un médicament n'est jamais assuré. De la découverte de la molécule active à la preuve de concept, aux tests biologiques, aux preuves d'efficacité et de bénéfice pour les patients, en passant par les étapes de production industrielles et de commercialisation..., auxquelles s'ajoutent les difficultés d'ordre juridique, et en prenant en compte les succès et les échecs, cela coûte très cher, environ 1 milliard de dollars, ce qui représente plus de six airbus.

Des défis à relever pour les chimistes

Les chimistes ont des défis à relever, en particulier trouver des molécules pour lutter contre les maladies et guérir les patients. Même si la nature regorge de produits biologiques actifs, ils peuvent être imparfaits, mais comme le disait Leonard de Vinci « *Quand la nature finit de produire ses propres espèces, l'homme commence, avec l'aide de la nature, à créer une infinité d'espèces* ». C'est le cas des chimistes qui savent créer de nouvelles molécules. Essayons d'imaginer l'inimaginable pour éradiquer ces fléaux que sont les maladies, tout en respectant la Nature car elle le vaut bien !

Remerciements : Merci à toutes les personnes qui ont travaillé sur les projets décrits dans cet article en particulier : V. Bellosta, S. Canova, S. Arseniyadis, M. Bézagu, L. Edelman, P. Tabeling, M. Tanter, O. Couture, F. Monti.

Merci à ESPCI Paris, au CNRS, au Ministère de la Recherche, à Sanofi, à Acanthe Biotech et à la Fondation Pierre-Gilles de Gennes pour les financements.