

B i o M a d l l - S y m p o s i u m 2 0 1 1

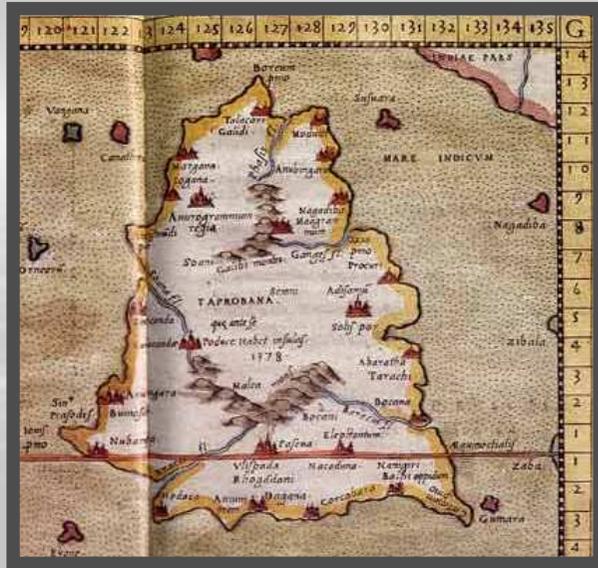
Catharanthus roseus : **de la plante aux médicaments**

Antananarivo, Jeudi 14 Avril 2011



Pierre Fabre
Pôle Actifs Végétaux

Bruno DAVID
Pôle Actifs Végétaux
Institut de Recherche Pierre Fabre
Oncopôle, Toulouse, France



?





Fruits Bardane → VELCRO®
(VELours et CROchets)



Catharanthus roseus
→ alcaloïdes antitumoraux
vinblastine + vincristine

« *serendipity = ...making discoveries, by accidents and sagacity, of things which not in quest of.* » Horace WALPOLE, 28 janvier 1754

« *...dans les champs de l'observation, le hasard ne favorise que les esprits préparés...* » Louis PASTEUR, 7 décembre 1854

1^{ier} Acte *Catharanthus* & cancer

ROLE OF CHANCE OBSERVATIONS IN CHEMOTHERAPY: *VINCA ROSEA**

By R. L. Noble, C. T. Beer,† and J. H. Cutts‡

*Department of Medical Research, University of Western Ontario,
London, Canada*

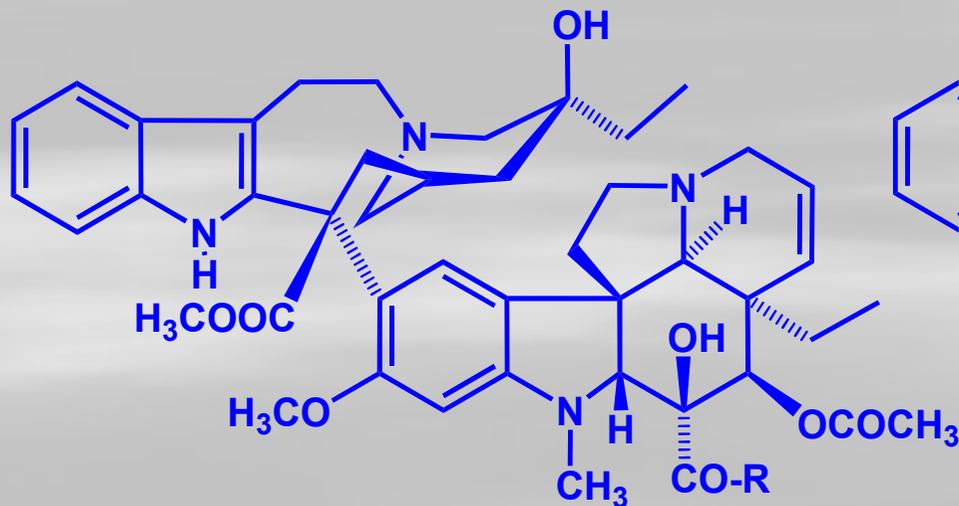
This paper may seem somewhat unorthodox in a monograph on screening procedures. However, we are eager to present the role of chance in obtaining new leads for chemotherapy and to illustrate this with a specific example. The results of our research, which are presented here in detail for the first

The disease of cancer was certainly far from our thoughts when we learned of a tea made from the leaves of a West Indian shrub that was supposedly useful in the control of diabetes mellitus.

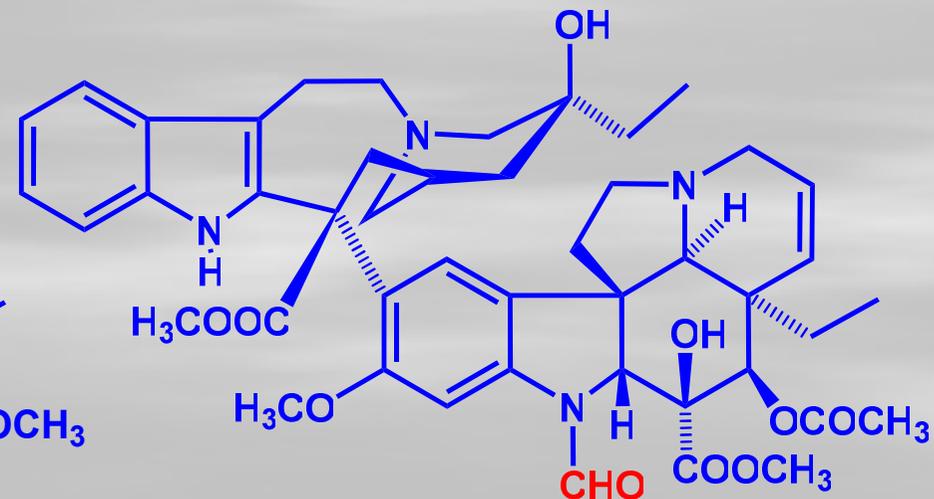
1958 : identification de composés toxiques, puis antitumoraux dans les feuilles de *Catharanthus roseus*.



1961-63 : vinblastine et vincristine utilisées dans traitement leucémies.

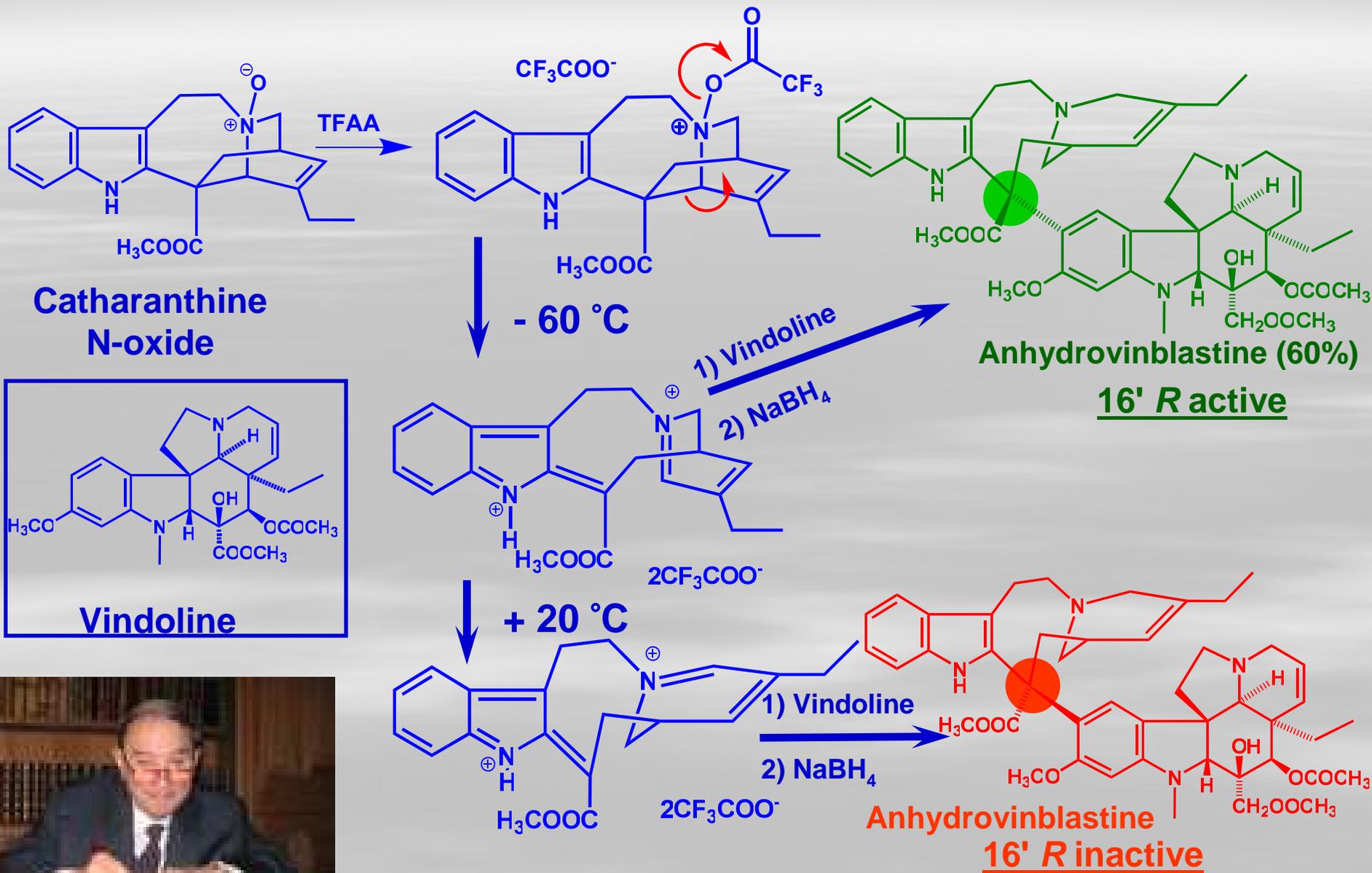


Vinblastine



Vincristine

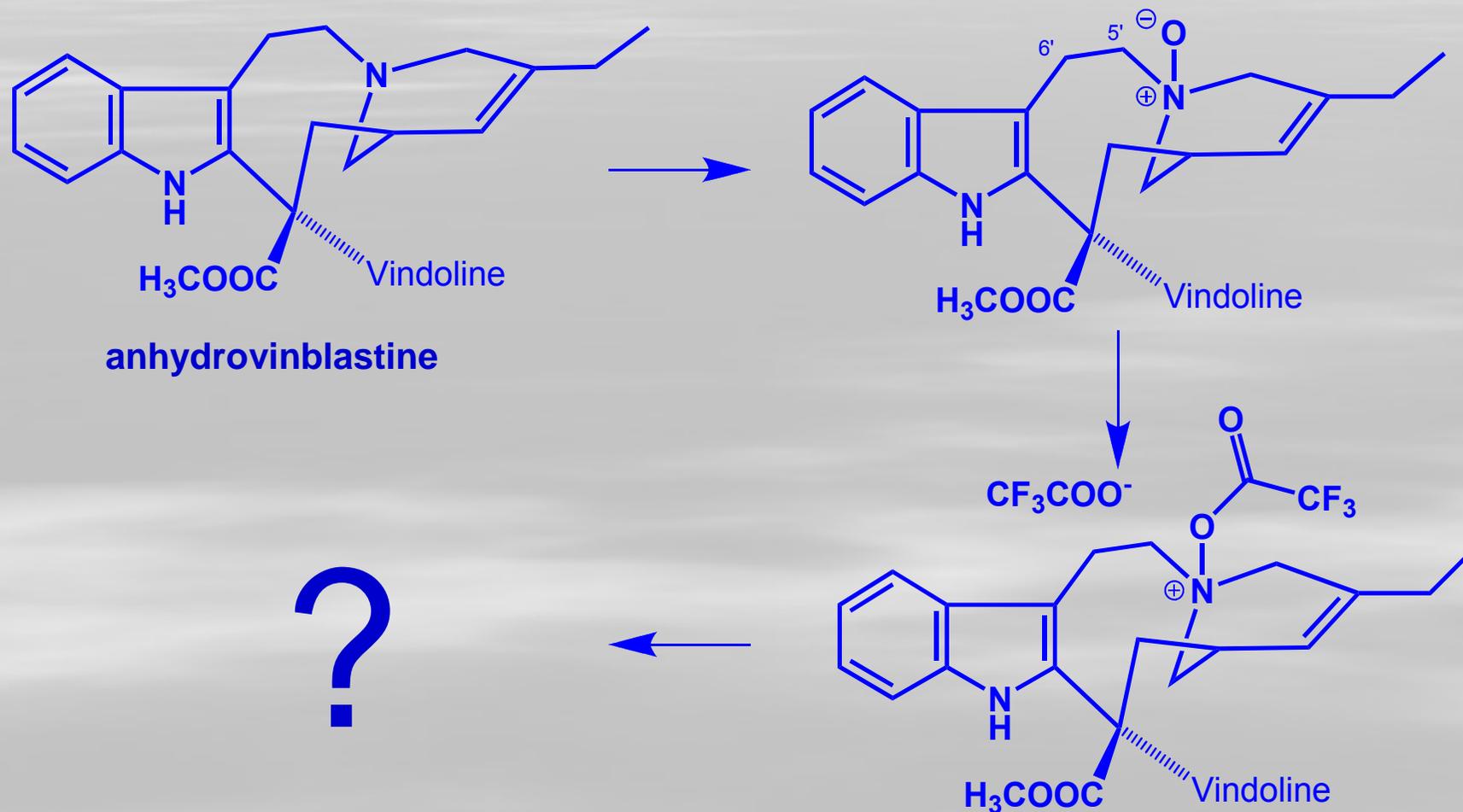
1^{ère} synthèse biomimétique AVLB (1974)



P. Potier et al., *J. C. S., Chem. Comm.*, 670, 1975

2^{ème} Acte "Polonovski sur AVL B"

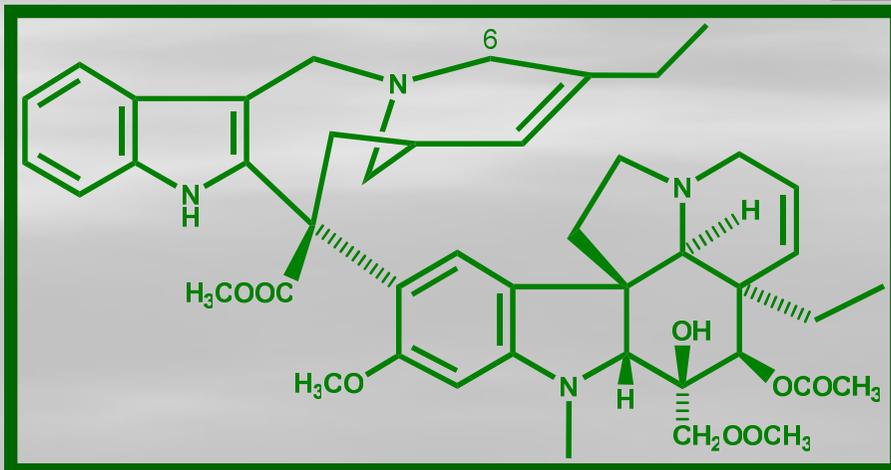
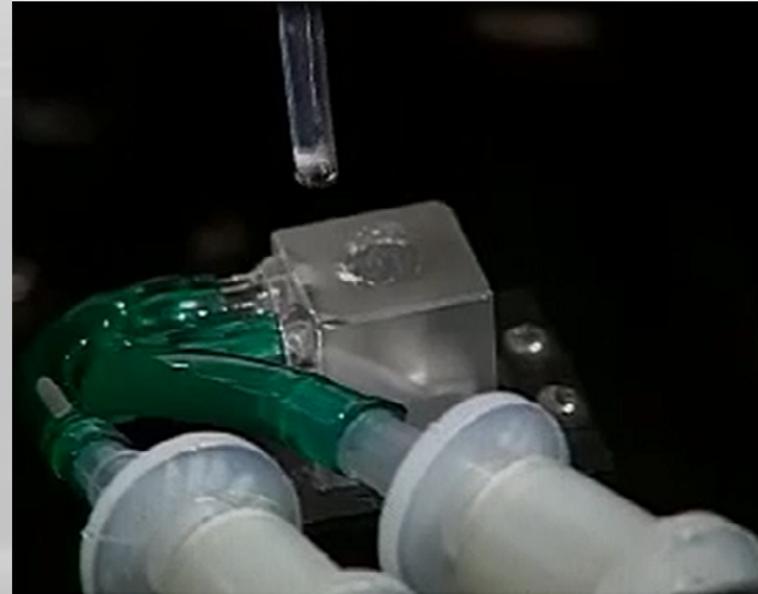
Essai de réaction de Polonovski-Potier sur AVL B (1978)



Importance du "test tubuline"

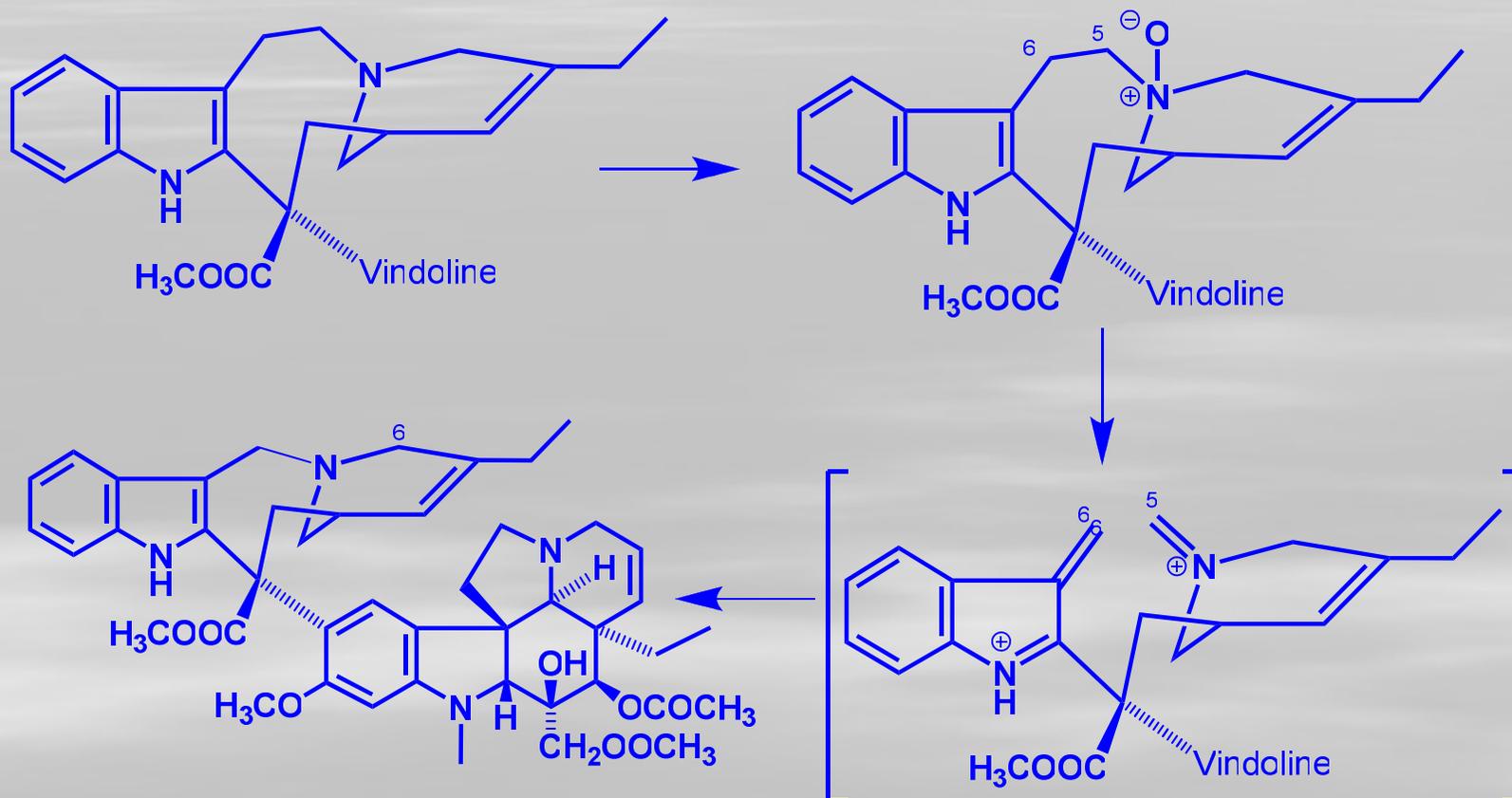
Repérage activité du brut

Étude de "X" (7% du mélange réactionnel)

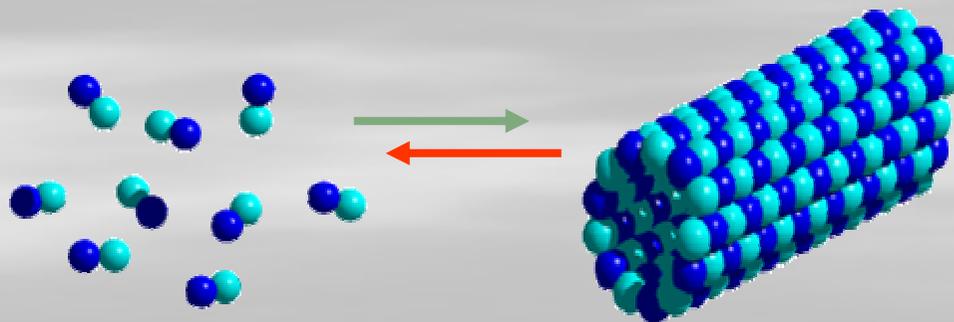
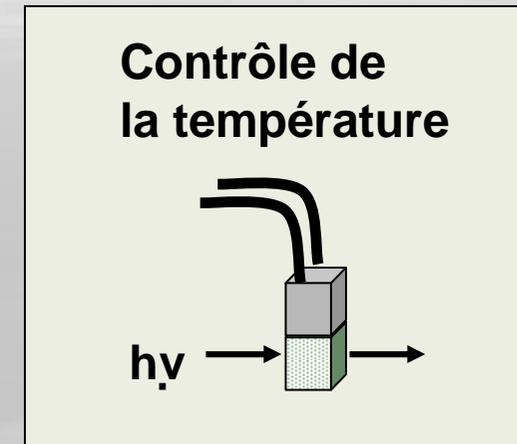
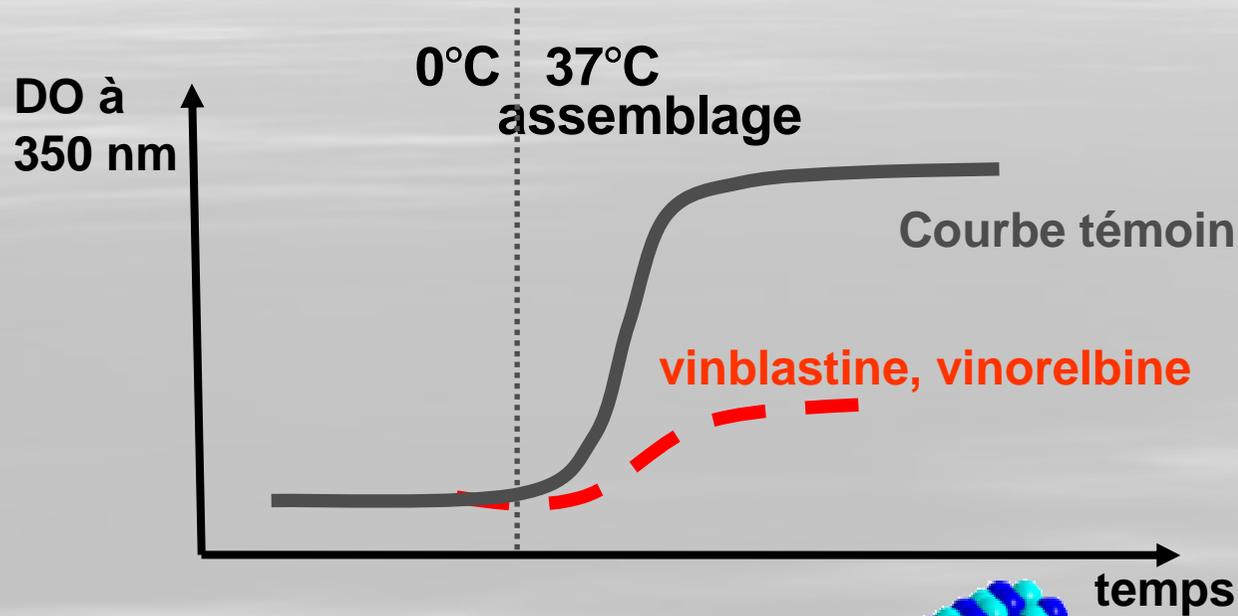


1^{er} nor-5'-vinca-alkaloïde!

Découverte de la nor-5'AVLB (1978)

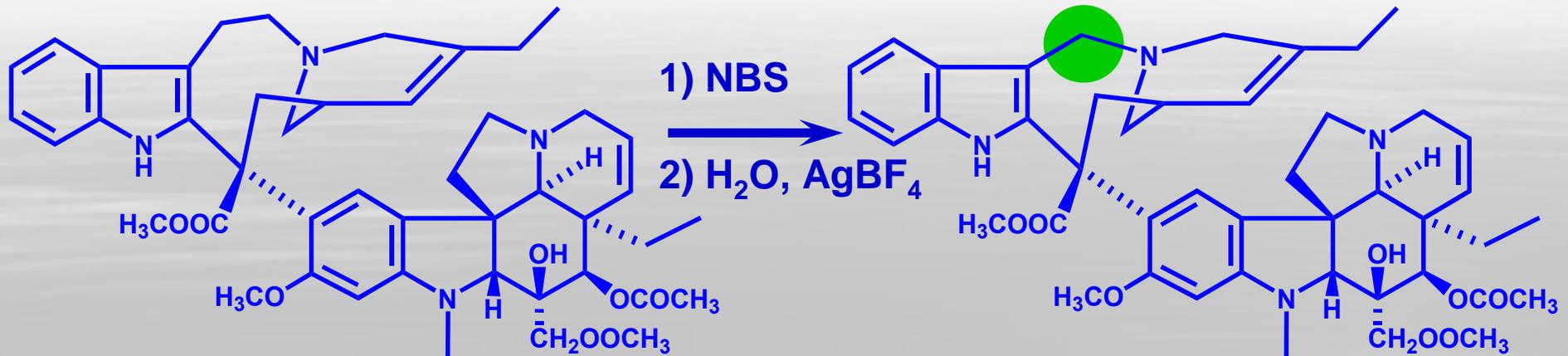


Principe du "test tubuline"



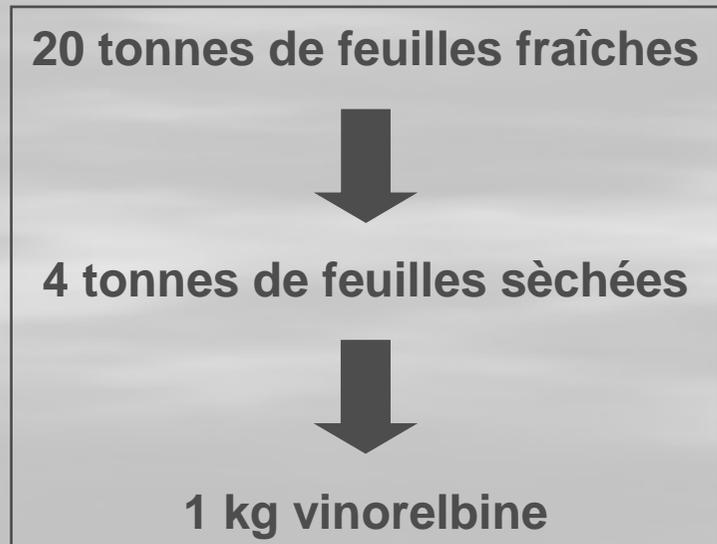
- Solution de tubuline (2mg/ml) témoin
- - Solution de tubuline + inhibiteur assemblage

Production de la vinorelbine (NAVELBINE®)



Anhydrovinblastine

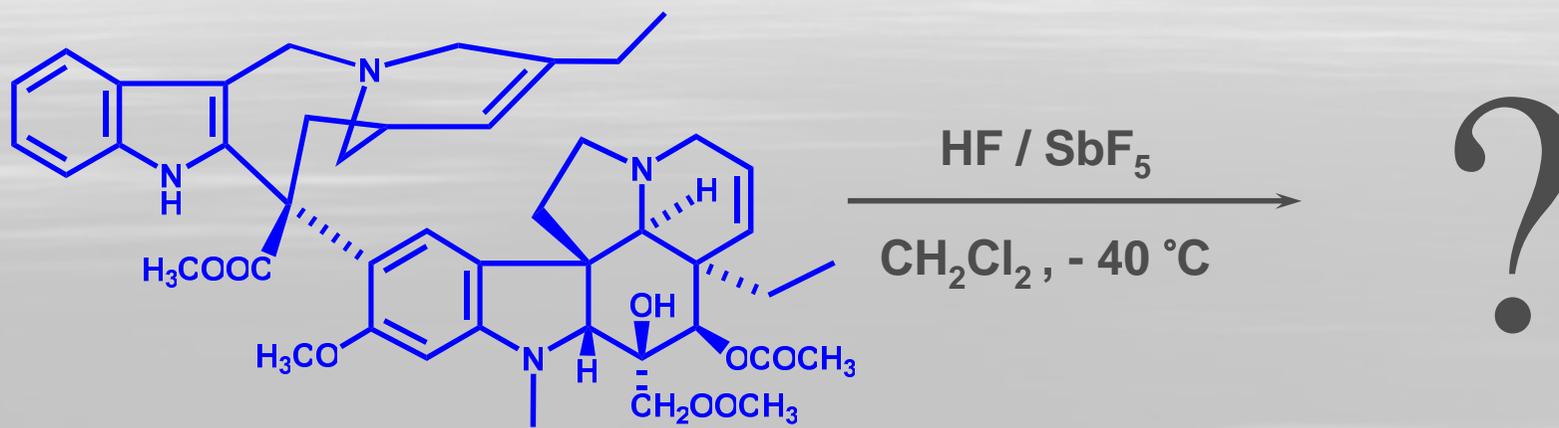
vinorelbine (NAVELBINE®)



Autorisation de Mise sur le Marché:
1989 (France)
Enregistré dans plus de 80 pays.

P. Mangeney et al., *Tetrahedron*, **35**, 2175-9, (1979)

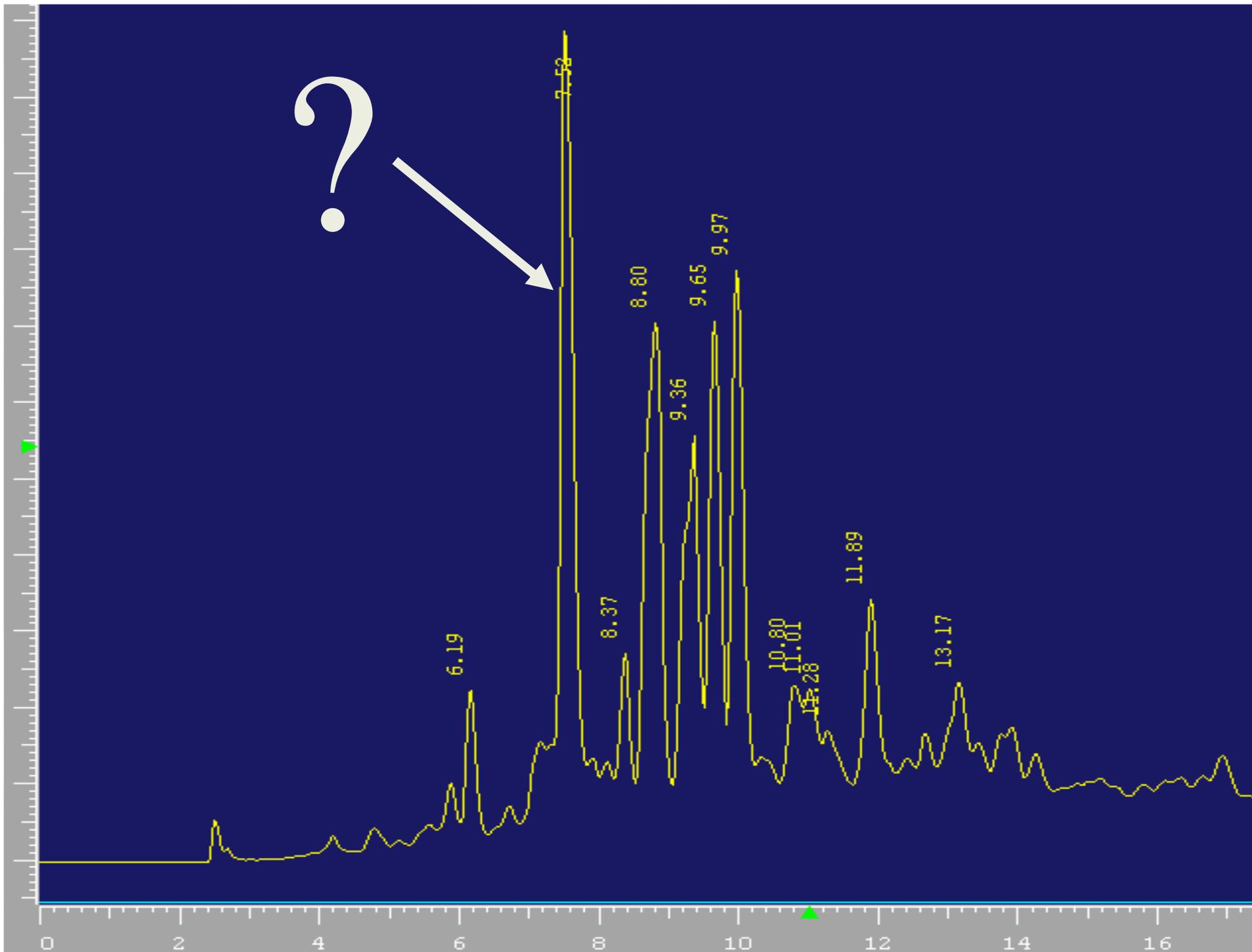
3^{ème} Acte Hémisynthèse vinflunine



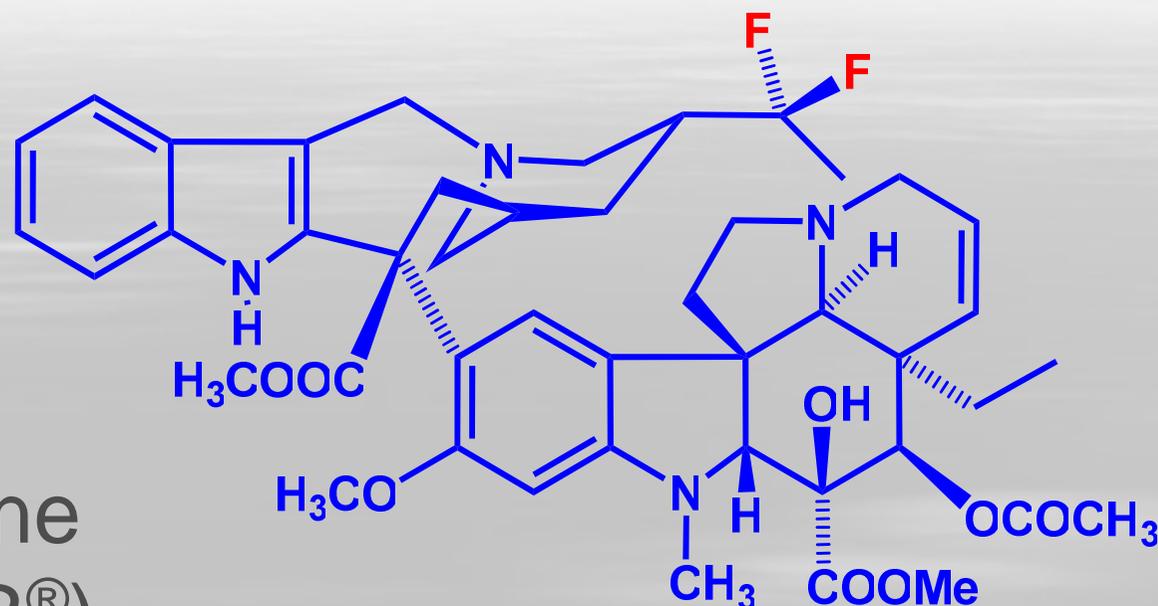
Prof. Jean-Claude JACQUESY
(CNRS + Université Poitiers)



Dr Jacques FAHY
(Institut de Recherche Pierre Fabre)



Structure du produit majoritaire



Vinflunine
(JAVLOR®)



HRFABMS :

$C_{45} H_{55} N_4 O_8 F_2 (MH^+)$

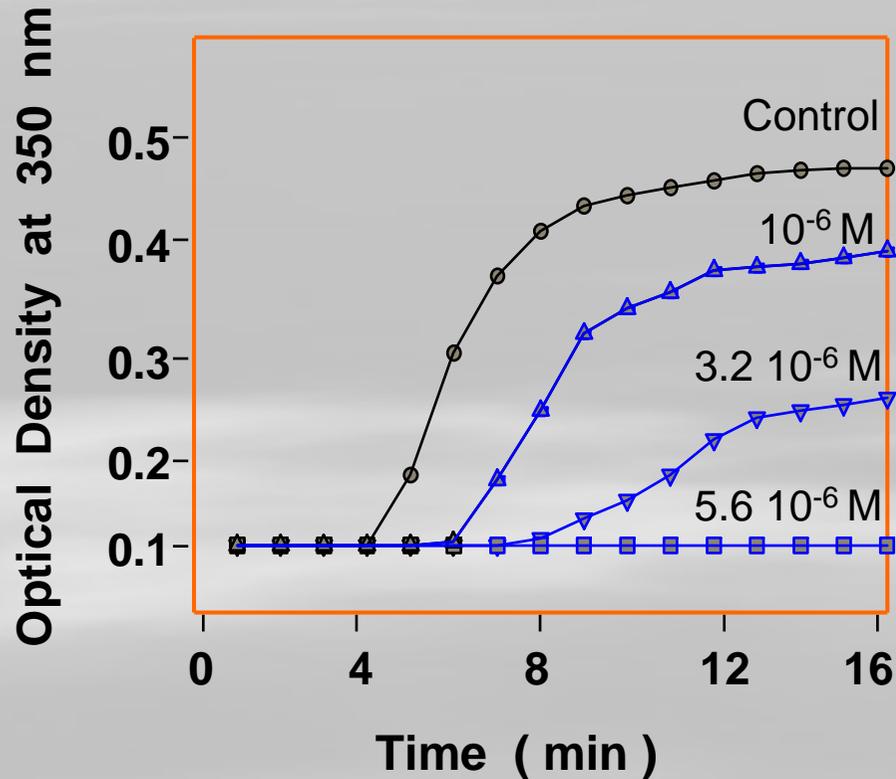
calc. : 817.3987

trouvé : 817.3999

Inhibition assemblage de la tubuline

Essai *in vitro* →

vinflunine inhibe l'assemblage de la tubuline



Composé	Inhibition de l'assemblage <i>in vitro</i> IC ₅₀ (μM)
---------	--

VINFLUNINE	3.1
-------------------	------------

vinorelbine	1.7
-------------	-----

vinblastine	2.2
-------------	-----

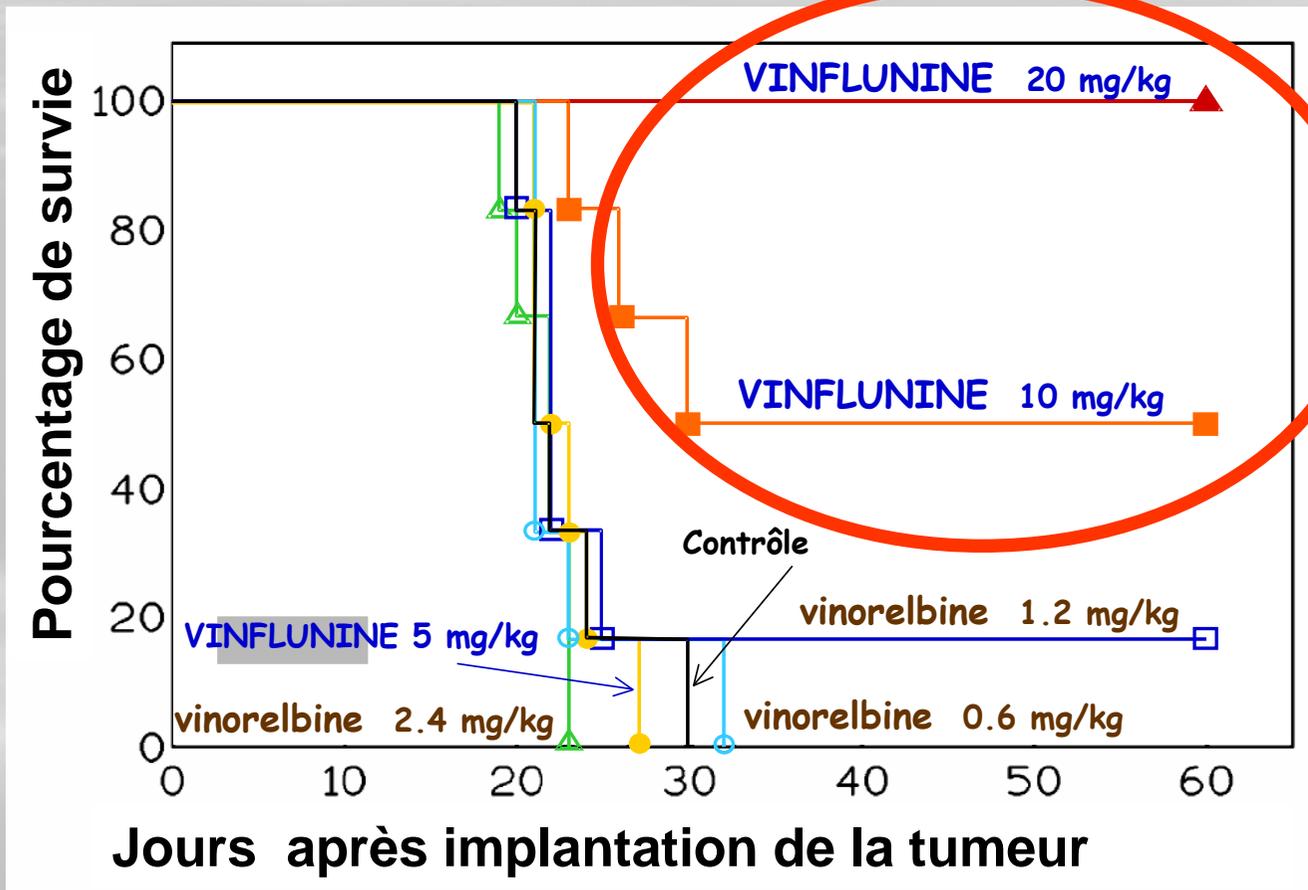
vincristine	1.7
-------------	-----

Cytotoxicité *in vitro*

Essai cellulaire P388 →
vinflunine moins cytotoxique que autres vinca-alcaloïdes

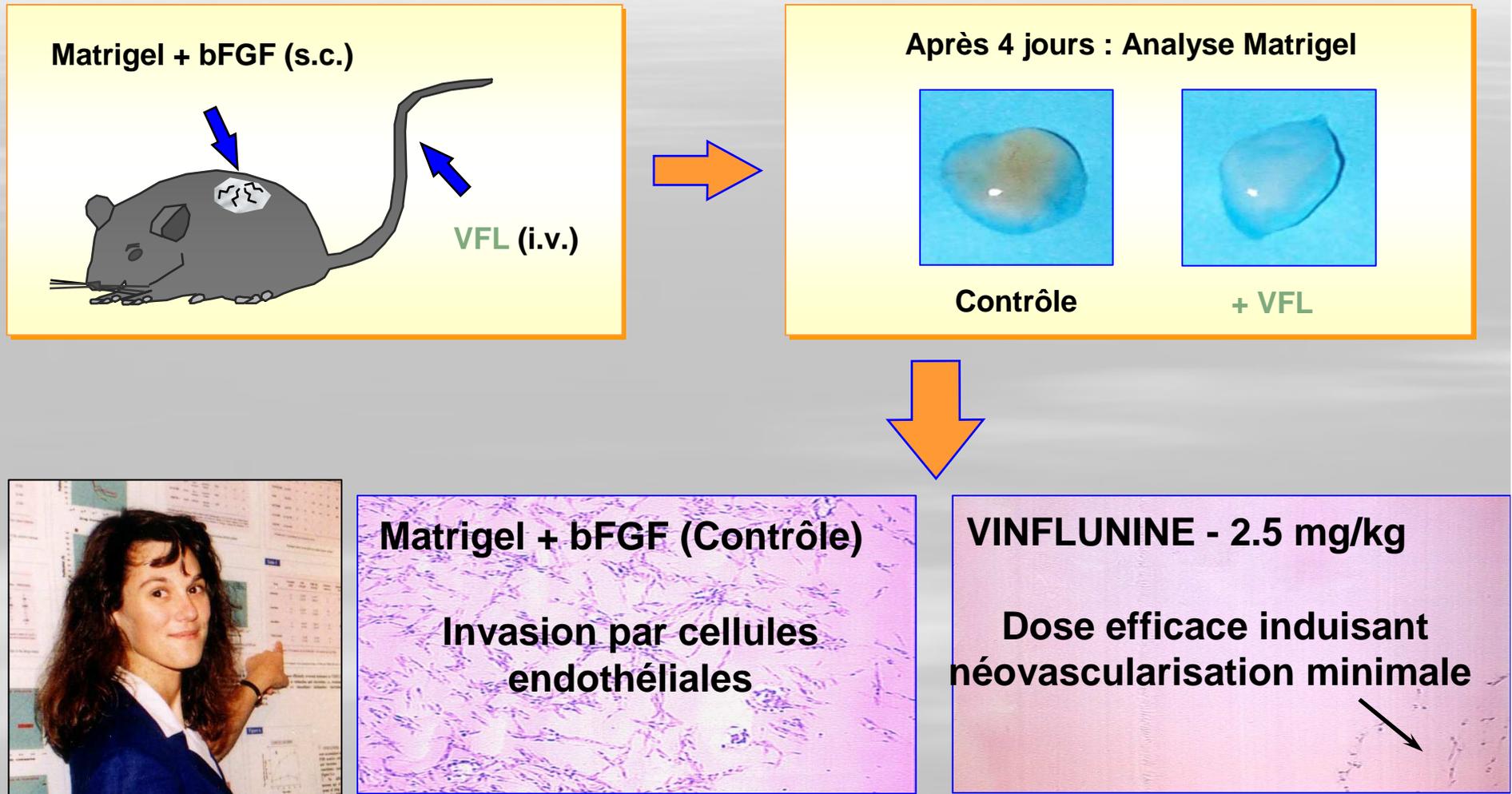
Composé	Valeur médiane IC ₅₀ (nM)
VINFLUNINE	81
vinorelbine	9
vinblastine	8
vincristine	4

Accroissement de la durée de vie de Souris avec cancer de la vessie

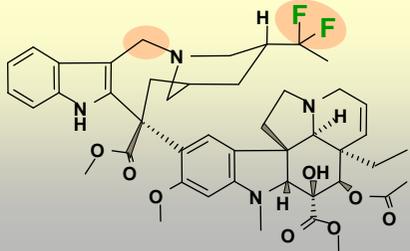
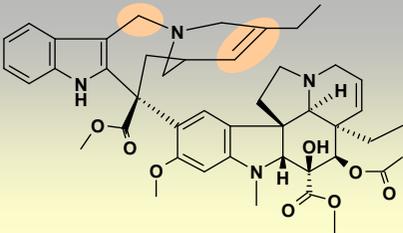


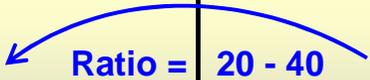
Cancer murin MB-49 de la vessie, implantation intravésicale

Propriétés anti-angiogéniques



Propriétés anti-angiogéniques remarquables

Structure	Composé	Effet antiangiogénique	Effet antitumoral
		ID ₇₀ (mg/kg)	MTD (mg/kg)
	VINFLUNINE	1	20 - 40
	vinorelbine	> 5	5 - 10



ID₇₀ = dose qui inhibe 70% de néovascularisation induite par bFGF dans Matrigel
 MTD = Maximum Tolerated Dose dans les modèles tumoraux expérimentaux

Induction apoptose

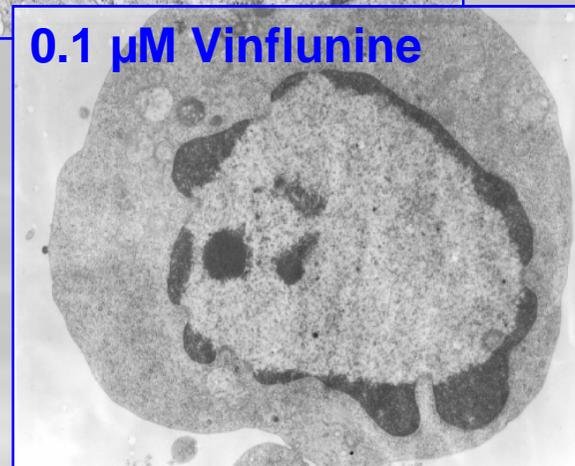
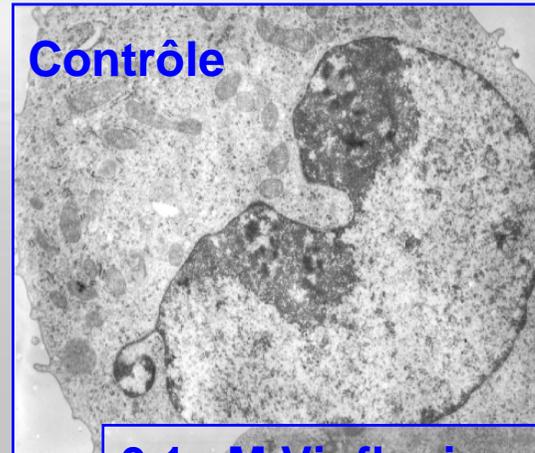
traitement par VINFLUNINE de
cellules P388 cells → APOPTOSE

Caractérisé par :

- Fragmentation de l'ADN
- Changements spécifique morphologie
- Cleavage protéolytique de PARP

Démontrée être :

- Médié par caspases 3 / 7
- Associée avec activation de JNK1
- Implications indirectes de Bcl-2 and Bfl-1/A1



Conclusion première partie

- La recherche scientifique a besoin du hasard
- Rarement processus linéaire type :
J'ai besoin, je cherche, je trouve
- Vinflunine
 - Molécules naturelles très complexes peuvent être stables et activées en milieu superacide
 - Réactions nouvelles et inattendues
 - Faisabilité industrielle
 - Effet sur tubuline et cytotoxicité réduits
 - Index thérapeutique élargi
 - Inducteur d'apoptose
 - Anti-angiogénique



Nouvelles
applications
en clinique

Convention sur la Diversité Biologique



- **Convention des Nations Unies** adoptée en juin 1992 à Rio
192 Etats + Union Européenne (Absents USA !)
La biodiversité passe sous souveraineté des Etats (29 déc. 1993)
- **Trois objectifs :**
 - **Conservation** de la biodiversité
 - **Utilisation durable** des éléments de la biodiversité
 - **Partage juste et équitable** de la ressource génétique

Il n'est plus possible d'utiliser les ressources génétiques d'un autre pays sans :

- obtenir son consentement
- lui offrir une contrepartie qui devait servir à la conservation

= **Accès et le Partage des Avantages (APA)**

Difficultés de mise en place APA

- **"Fantasme de l'or vert"** (objectif 3)
 - Côté utilisateurs : seules une trentaine de législation
 - Côté fournisseurs : désillusion, valorisations longues
- **Glissement de l'enjeu environnemental**
(objectifs 1 et 2) **vers d'autres préoccupations**
 - Développement économique
 - Revendications politiques "biopolitique"
 - Surenchères sur dérivés, inspirés, collections *ex situ*...
- **Conséquences**
 - Transactions délicates
 - Nécessité **d'organiser le marché** → ouverture en 2004 des négociations sur le régime APA
 - **Protocole de Nagoya**



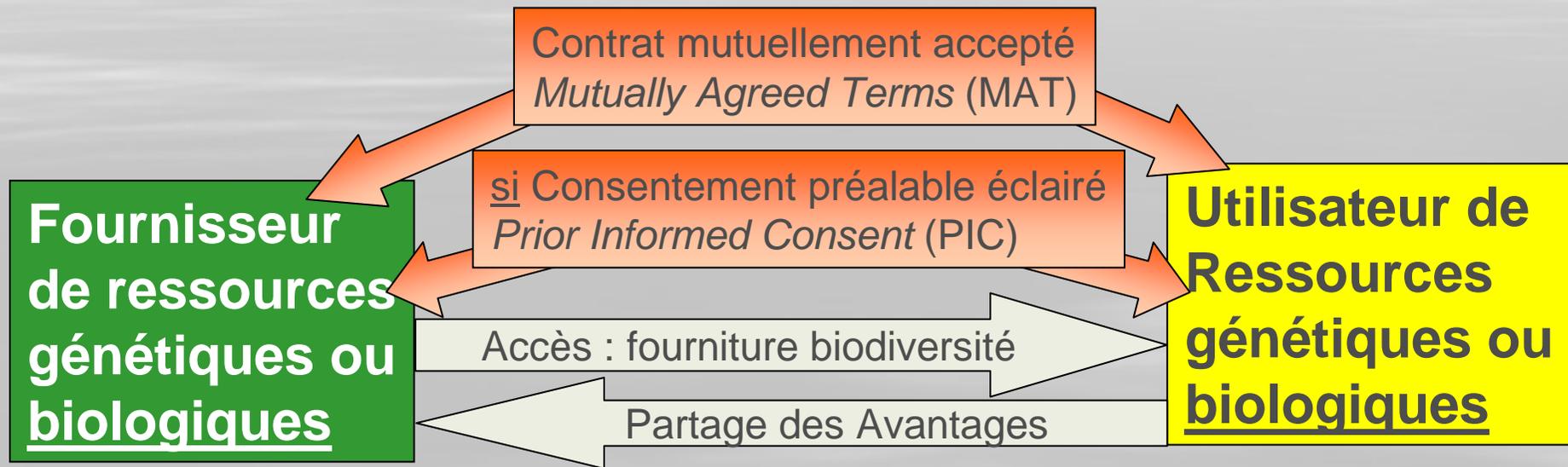
Accès et Partage des Avantages

Nagoya, Japon 18-29 octobre 2010

Objectifs du protocole de Nagoya

- **Rendre le partage juste et équitable opérationnel**
- **Garantir le respect des obligations qui en découlent (cadre juridique plus précis)**
- **Etablir un climat de confiance réciproque entre les acteurs**
- **Orienter le partage d'avantages vers la conservation**

Règles d'accès précisées



Les ressources biologiques
rentrent dans le champ !

Qui contacter pour accès ?

Point Focal National (NFP):

- Chargé d'informer sur les conditions d'accès aux ressources biologiques
- 192 pays

Autorité Nationale Compétente (CNAs):

- Établie par le gouvernement et responsable d'accorder l'accès aux ressources
- Représente les fournisseurs à un niveau local ou national
- 38 pays

Mise en place de l'APA

- **Ratification du protocole de Nagoya en cours**
- **Inclusion explicite des ressources génétiques et biologiques**
- **Discussions internationales**
Centre d'échange d'information, contrôle conformité, financements, clauses modèles...
- **Implémentation de lois nationales**
- **Mise en œuvre d'ici 2015 (Art. 16)**

Effets paradoxaux des législations trop sévères

- Accès difficile, voire impossible
- Blocage recherche académique
- Méfiance envers Science and Chercheurs
- Criminalisation des chercheurs
- Réduction travaux de taxinomie et conservation
- → Effets négatifs sur les objectifs de la CDB

when the primatologist, Marc van Roosmalen, was sentenced to almost 16 years in prison in Brazil for possession of monkeys at his rehabilitation center without appropriate permits (7). The Association for Tropical Biology and Con-

servation circulated a petition on his behalf, signed by over 250 scientists from 31 countries, condemning the sentence and calling van Roosmalen's situation "indicative of government restrictions on scientists." Whether such

Could Access Requirements Stifle Your Research?

Sikina Jinnah¹ and Stefan Jungcurt²

Scientists from developed and developing countries have expressed concerns about overly restrictive government-imposed requirements to gain access to biological resources needed for academic research (1–5). Indian scientists, for example, have been concerned that exceedingly burdensome international access regulations are driving away international collaborators in fields such as taxonomy, where India has enormous biological potential but limited domestic expertise (6).

While other nongovernmental stakeholders such as indigenous groups and trade associations have been active participants in the ABS discussions, to date, academic scientists have been relatively silent. Participation does not guarantee that new guidelines will reflect all aspects of scientific concern; however, it would be unfortunate if decisions were made in the absence of scientific voices highlighting how future rules will affect the academic research community. With the negotiations

Biodiversity law could stymie research

Tighter rules on accessing and developing genetic resources may be counterproductive for conservation.

Scientists who study the world's biodiversity are facing a dilemma: proposals to regulate access to the riches of ecological hotspots may hamper the research needed to monitor these areas.

The warning comes as signatories to the Convention on Biological Diversity (CBD) begin negotiating ways to strengthen the treaty's legal framework and goals, which include conserving biodiversity and promoting the sustainable use of natural resources (see 'Key questions'). A crucial part of that effort, discussed last week at a meeting in Montreal, Canada, is the reform that is generally regarded as the least effective aspect of the CBD: deciding who can exploit valuable genetic resources, such as plants that produce potential pharmaceuticals, and who should benefit financially.

Many developing countries complain that this aspect of the CBD relies on voluntary guidelines, rather than clear international legislation. This makes it difficult to police how genetic resources are used, and to ensure that countries are paid fairly if commercial products are developed from their resources.



Efforts to regulate access to natural resources in Brazil have delayed research projects by years.

NATURE | Vol 463 | 4 February 2010

for consideration at Nagoya. There's a lot at stake, says Djoghla. "If we get agreement, it will be a major breakthrough in the sustainable development and environmental movement." ■
Natasha Gilbert

Big Pharma & Substances Naturelles

ARRET :

Abbott
BMS
Pfizer
GSK
Lilly
MSD
Monsanto
Novo Nordisk
Roche
Sanofi-Aventis
Schering Plough
Servier
Wieth

CONTINUENT

Ajinomoto
Bayer
B. Ingelheim
US National Cancer Institute
Novartis
Pierre Fabre
PharmaMar
Takeda

Start-up (Spin-off) :

Albany, AnalytiCon, Athena Biotechnologies, Basilea Pharm., Biotica, Cerilyd, Cubist Pharm., Ecopia, InterMed Discovery, Kosan Biosciences, Merlion, Nereus, Greenpharma, Phynova, Sequoia, Thallion Pharm., UniBioScreen, Vastox, ...

Conclusion deuxième partie

- **Le régime international APA doit être consensuel, réaliste et flexible pour être applicable dans l'intérêt de toutes les parties**
- **Les sociétés et les chercheurs académiques qui investissent en recherche doivent bénéficier d'une sécurité juridique**
- **Sans investissement de recherche, pas de bénéfice et donc pas de partage des avantages**

Conclusion générale

**La Nature est une source inestimable
L'accès doit être facilité pour bénéfice équitable de tous
Elle doit être préservée pour les générations futures**

