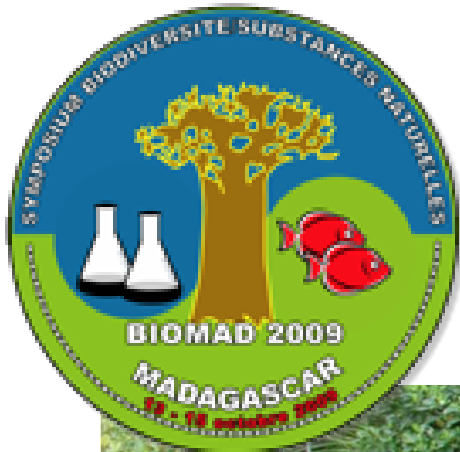




Substances naturelles et médicaments



Vincent Dumontet

dumontet@icsn.cnrs-gif.fr

*Institut de Chimie des Substances Naturelles (ICSN)
Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), Gif-sur-Yvette*

Symposium "Biodiversité – Valorisation des substances naturelles" 13/10/09



Historique



- 3000 ans av J.-C. : Tablettes d'argile découvertes à **Nippur** en 1948, 1^{er} recueil connu de formules végétales
- 2700 ans av J.-C. naissait le **Pen Tsao** en Chine, fameux manuscrit chinois remis en forme par **Lee-Chee-Chen** au 16^{ème} siècle
- 1500 ans av J.-C.: naissait du papyrus d'**Ebers** des civilisations pharaoniques (800 prescriptions mentionnant 700 drogues)
- 400 ans av J.-C.: **Hippocrate**, célèbre médecin grec considéré comme le père de la médecine occidentale actuelle laisse le *Corpus Hippocratum* (250 simples)
- 1^{er} siècle de notre ère: **Dioscoride**, successeur spirituel d'Hippocrate écrit son fameux *De Materia Medica* qui étudie 600 simples
- Pline l'Ancien** puis **Galien** au 1^{er} et 2^{ème} siècle codifie l'emploi de toutes ces plantes et assure la diffusion des connaissances médicales

- Du V^{ème} au XI^{ème}, obscurantisme en Europe (alchimie), médecine prestigieuse en Méditerranée (**Avicenne**, **Avenzoar**, **Averroès**)
- Au XIII^{ème}, Saint-Louis donne leur statut aux apothicaires
- Au XVI^{ème} les recherches du médecin **Paracelse** (théorie des signatures) et de botanistes font considérablement progresser la connaissance des plantes et leur diffusion, c'est le siècle des plantes
- En 1580 création du jardin des Simples et en 1636 du Jardin Royal des Plantes Médicinales (Louis XIII)

Les expéditions maritimes de Vasco de Gama, Christophe Colomb... rapportent des tropiques les épices, le café, le thé, le cacao et plus tard découverte au XVII^{ème} des plantes tropicales, réglisse ou quinquina
Début XIX^{ème}, les premiers principes actifs sont isolés :

Quelques médicaments d'origine naturelle

Organisme	Médicament	Isolement du PA	Indication
Pavot	Morphine	1804 Seguin (F) 1805 Sertürner (A)	trait. douleur
Ec. de saule	Ac. Salicylique	1825 Fontana (I) 1829 Leroux (F)	trait. douleur et des fièvres
Ec. de quinquina	Quinine	1820 Pelletier et Caventou (F)	antipaludique
F. de coca	Cocaïne	1860 Newman (A)	anesthésique
Belladone	Atropine	1831 Mein (A)	dilatateur de la pupille
Digitale	Digitaline	1884 Nativelle (F)	affections cardiaques
Colchique	Colchicine	1884 Houdé (F)	anti-goutte
<i>Penicillium</i>	Pénicilline	1928 Fleming (GB)	infections bact.
Pervenche de Madagascar	Vinblastine	1958 Noble (USA)	antitumoral
<i>Tolypocladium</i>	Cyclosporine	1970 Borel (H)	immunosuppresseur
Ec. d'if	Taxol	1971 Wani (USA)	antitumoral

Aspirine

Antipyrétique - Antalgique - Anti-inflammatoire

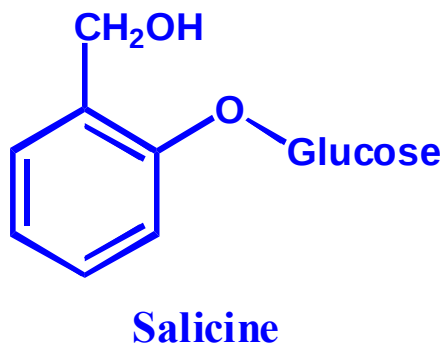
Consommation mondiale 11600 tonnes (1994) 20000 tonnes aujourd'hui ; France 908 tonnes.

-500 : Hippocrate conseille la tisane de feuilles de saule blanc pour soulager douleurs et fièvres

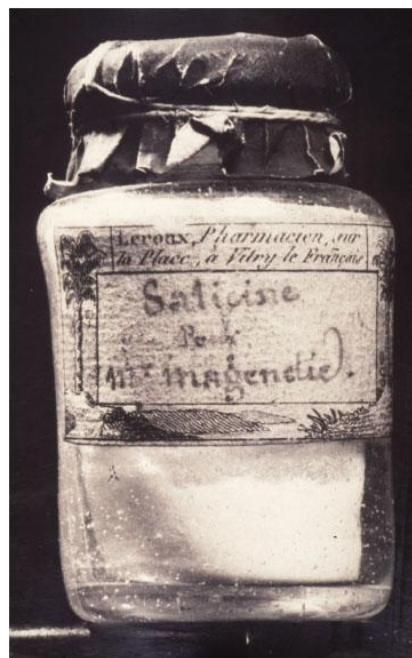
1763 : Utilisation de l'écorce de saule recommandée par Edward Stone pour soigner les fièvres

1825 : Isolement de la salicine de l'écorce de saule par Fontana

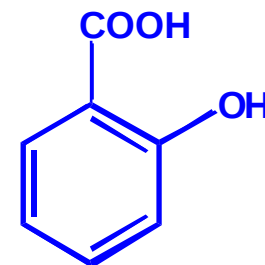
1835 : Préparation de l'ac. salicylique à partir de la spirée par K. Lowig



Salix alba



Spirea ulmaria



Acide salicylique

Aspirine (2)

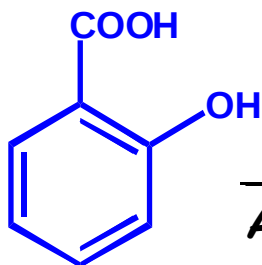
1853 : Synthèse de l'acide acétylsalicylique par C.F. Gehrard

1860 : Synthèse totale de l'acide salicylique par H. Kolbe

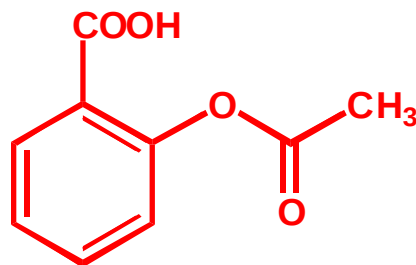
1875 : Utilisation de l'acide salicylique pour soigner fièvres et rhumatismes

1897 : Production industrielle de l'acide acétylsalicylique par la firme Bayer F. Hoffmann

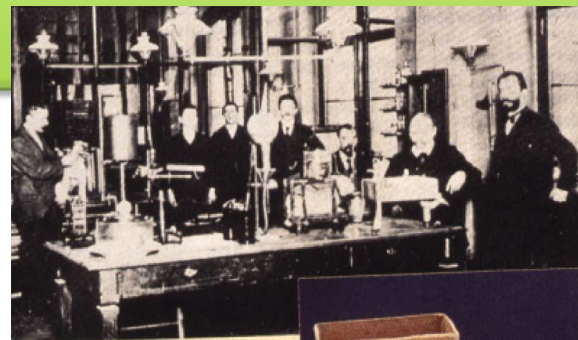
1899 : Mise sur le marché de l'aspirine par Bayer (Brevet)



Acide salicylique



ASPIRINE
Acide acétyl-salicylique



Germany's Bayer was not looking for a way to relieve the pain of rheumatism 100 years ago, but a 29-year-old Bayer chemist and pharmacist named Felix Hoffmann was looking for a way to relieve his father's suffering. Sodium salicylate used to treat rheumatism victims the time not only tasted awful, but the acid also attacked the mouth and stomach linings. Working in Bayer's Elberfeld, Germany, pharmaceutical laboratory (above), Hoffmann acetylated salicylic acid in August 1897. The resultant acetylsalicylic acid powder, aspirin, had none of sodium salicylate's drawbacks, and besides relieving father Hoffmann's rheumatoid aches and pains, it had some additional benefits as well—Bayer scientists found aspirin helped relieve headaches and toothaches, reduced fever, and combated inflammation. Bayer first sold aspirin powder to the public in 1899, and brought out a water soluble tablet in 1900. The company estimates



low 50 billion tablets of this won't drug annually. Bayer still supplies 1 billion or 22% of those tablets. And physicians are still finding new uses for the old drug. It is used, for example, to help prevent heart attacks and strokes. Investigators are looking into its potential to treat certain types of cancer and Alzheimer's disease.

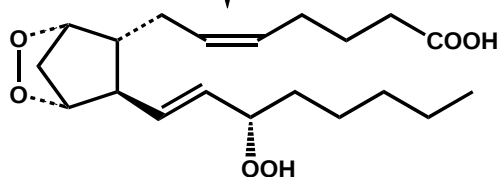
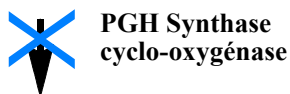
Aspirine (3)

1971 : Proposition d'un mécanisme d'action pour l'aspirine par John Vane (Nobel 1982)

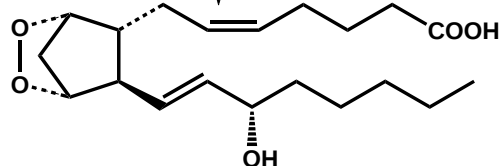
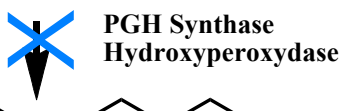
➔ Inhibition de la synthèse des prostaglandines
hormones de l'inflammation - contrôle des fonctions plaquettaires



acide arachidonique



prostaglandine G₂ (instable)

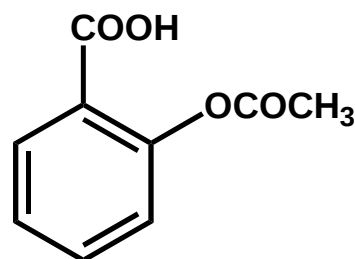


prostaglandine H₂

prostaglandine D, E, F

thromboxane

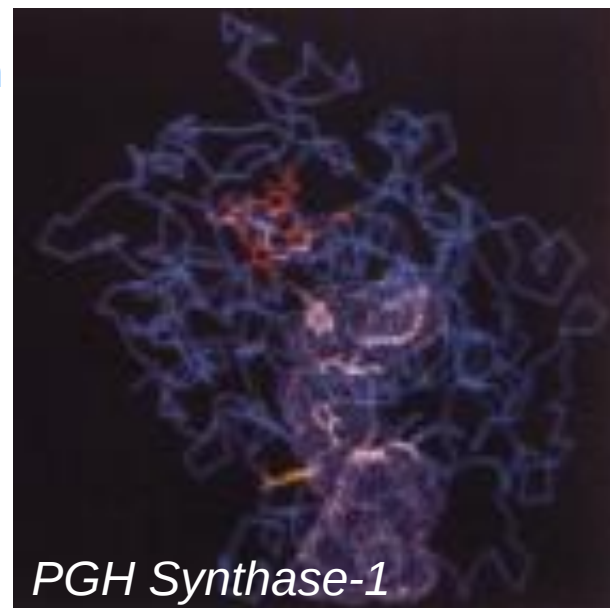
L'Aspirine bloque la fonction
cyclooxygénase
de la PGH Synthase -1



Aspirine
acide acétylsalicylique



L'Aspirine bloque la fonction
hydroxyperoxydase
de la PGH Synthase -1



PGH Synthase-1

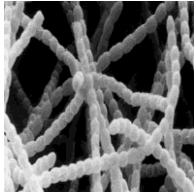


Milieu naturel: source de médicaments et d'outils biologiques



Plantes

300 000 - 400 000 espèces
environ 15% étudiées



Micro-organismes (bactéries, champignons, etc...)

Million d'espèces ?
<10% des bactéries étudiées
<5% des champignons étudiés



Sources marines (éponges, algues, coraux, etc...)

500 000 espèces ?
très peu étudiées



Insectes

30 000 000 espèces?
< 0,05% étudiées

Biodiversité

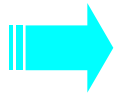


Diversité chimique
Diversité structurale

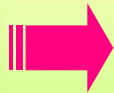


Outils biologiques
et
Médicaments

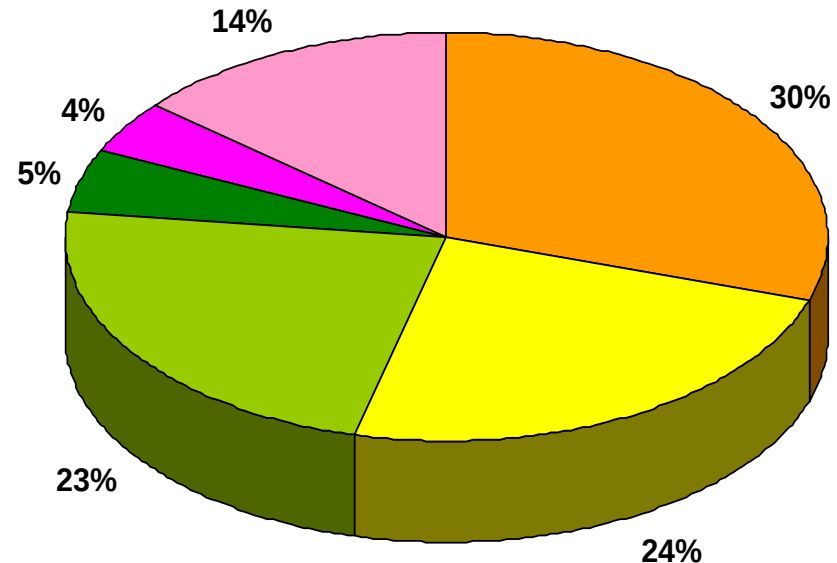
Produits naturels et médicaments



Entre 1981 et 2006,
52% des nouveaux
médicaments mis sur
le marché sont
d'origine naturelle
(N = 1184)



L'OMS estime que 80%
de la population
mondiale utilise la
médecine traditionnelle



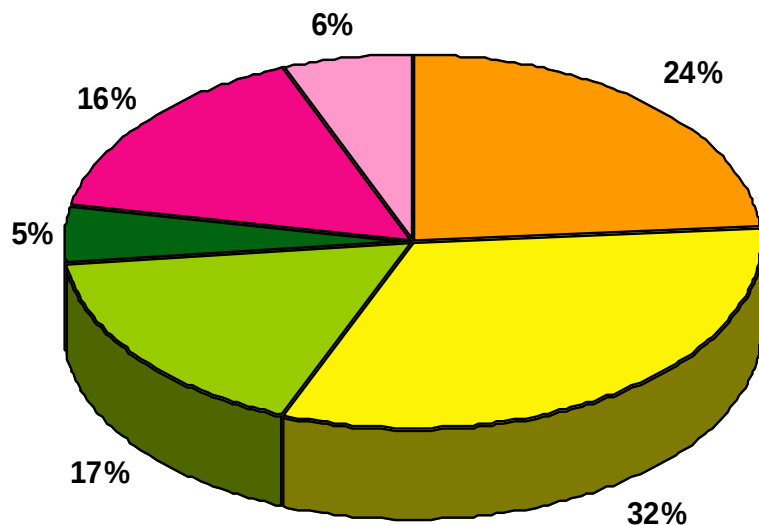
- Molécules de synthèse
- Molécules de synthèse basées sur les produits naturels
- Molécules naturelles hémisynthétiques
- Produits naturels
- Vaccins
- Produits biologiques

David J. Newman and Gordon M. Cragg, *J. Nat. Prod.*, 2007, 70 461-477

Origine des médicaments anti-infectieux et anticancéreux (1940-2006)

Anti-infectieux

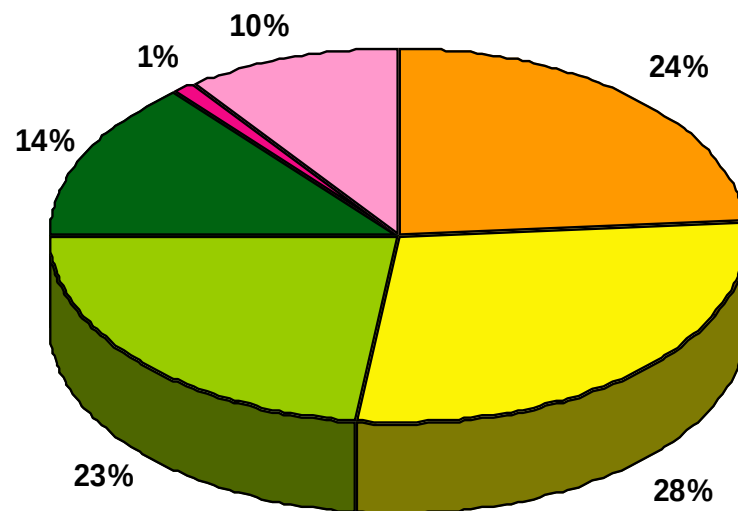
Médicaments antibactériens, antifongiques, antiparasitaires et antiviraux (N = 230)



- Molécules de synthèse
- Molécules de synthèse basées sur les PN
- Molécules naturelles hémisynthétiques
- Produits naturels
- Vaccins
- Produits biologiques

Anticancéreux

(N = 175)



- Molécules de synthèse
- Molécules de synthèse basées sur les PN
- Molécules naturelles hémisynthétiques
- Produits naturels
- Vaccins
- Produits biologiques

David J. Newman and Gordon M. Cragg, *J. Nat. Prod.*, 2007, 70 461-477

Chimie des substances naturelles

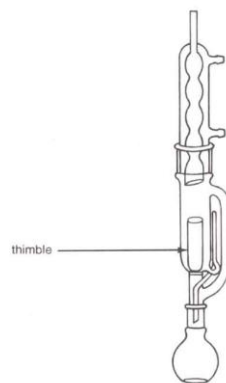
Ethno

Chimio

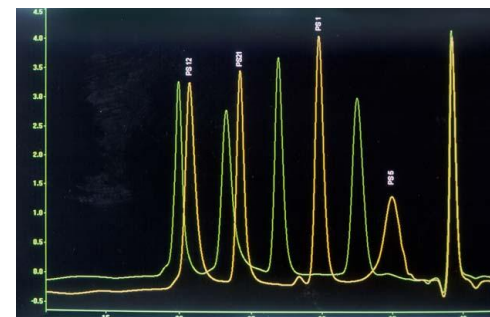
Bio



Essais biologiques
préliminaires

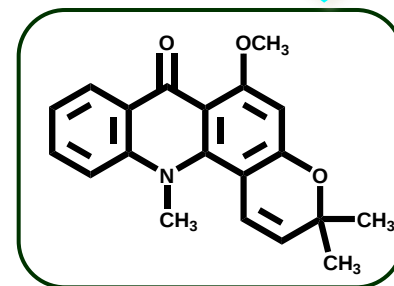


Extraction

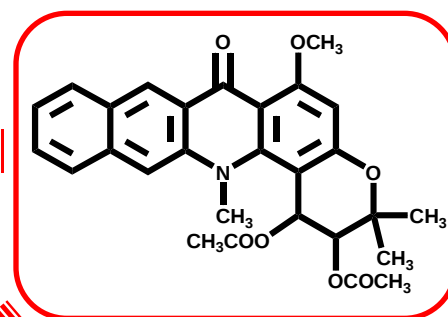


Purifications chromatographiques

RMN, UV, Masse, etc.



Molécule sélectionnée



Etudes des
relations
structure/activité

Culture de la plante, extraction
puis hémisynthèse à partir de
molécules extraites ou chimie
de modification

Taxotère[®], Navelbine[®]

Synthèse totale d'un analogue
de la molécule naturelle

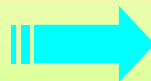
Celiptium[®]

Etudes cliniques
et toxicologiques

Essais biologiques

Découverte de nouvelles substances naturelles (les années 2000)

Chimie & Biologie



Médicaments '80s

Chimie & Biologie moléculaire
& Biotechnologie & Informatique

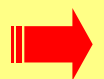


Nouvelles cibles
Nouveaux médicaments '00s

Criblage automatisé, robotisé

Substances naturelles
Chimie combinatoire

Chimiothèque
Extractothèque



Ciblothèque

Cibles enzymatiques
Cibles cellulaires

1536 puits 5 - 10ml

384 puits 10 - 100ml

96 puits 50 - 250ml



Composés synthétiques vs extraits dans les criblages

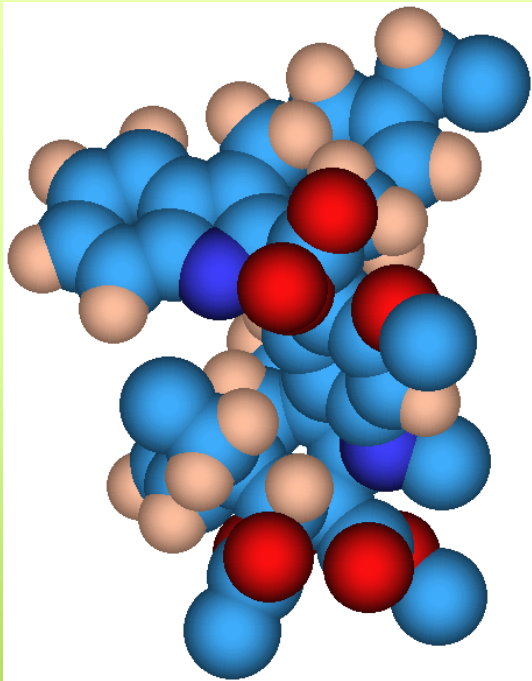
Composés synthétiques	extraits
Composé unique	Mélange complexe
Taux de hits HTS <0,001%	Taux de hits $\approx 0,3\%$
Structures assez simples	Structures complexes C*
Composés identifiés	Composés à séparer puis à identifier
Synthèse possible	Pb approvisionnement
	Risque de synergie ou polyvalence des composés
Études à court terme	Études plus longues \$\$
Diversité limitée	Diversité infinie?



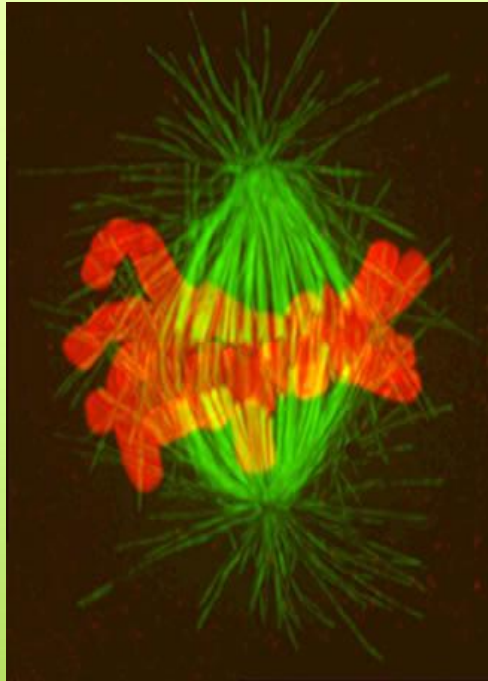
La ressource biologique est importante
mais l'accès et l'examen sont problématiques,
en particulier sous la pression des recherches industrielles à court terme.

J.W-H Li et J.C. Vederas, Science, 235, 2009

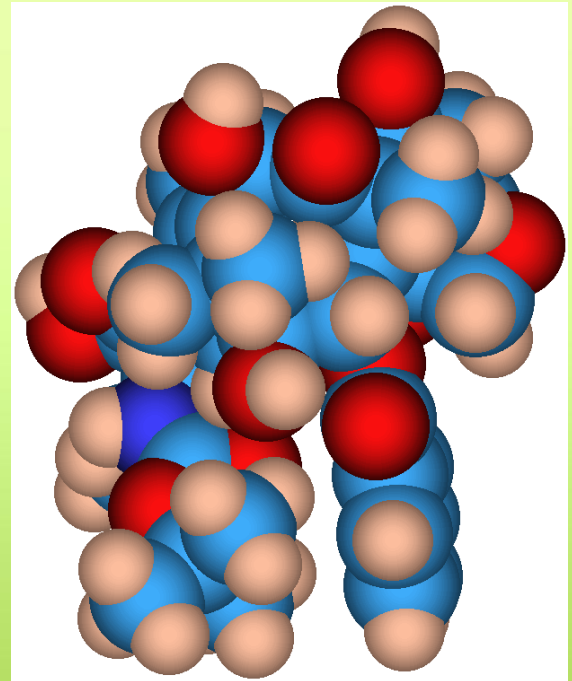
Substances naturelles et molécules anticancéreuses : deux exemples de recherche



Vinorelbine (Navelbine®)



Fuseau mitotique
(microtubules)
et **chromosomes**

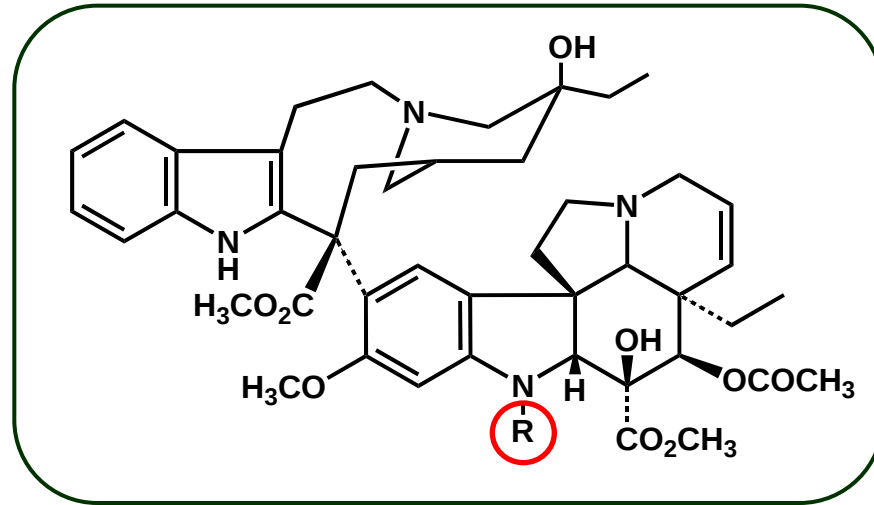


Docetaxel (Taxotère®)

Les alcaloïdes antitumoraux de *Catharanthus roseus*



Catharanthus roseus



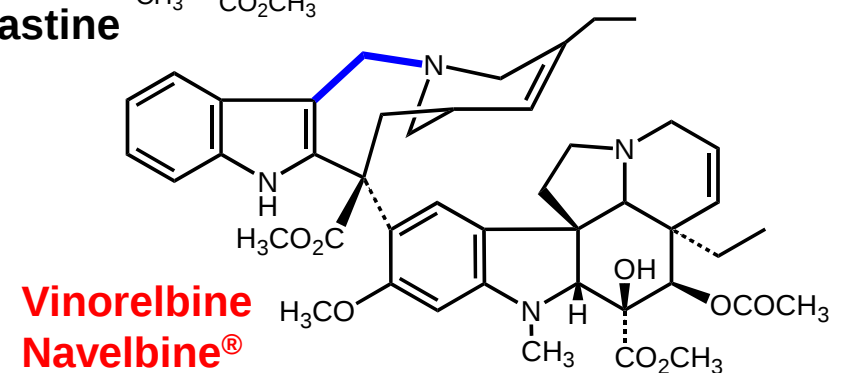
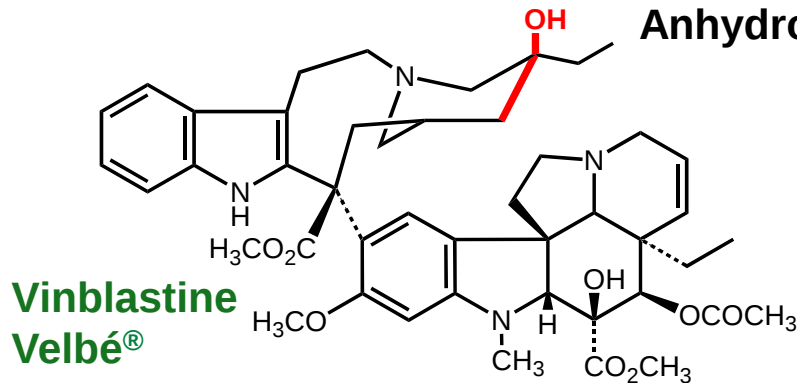
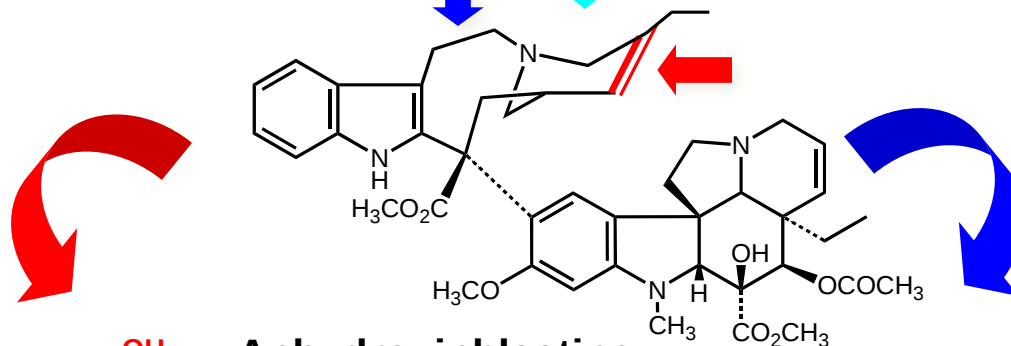
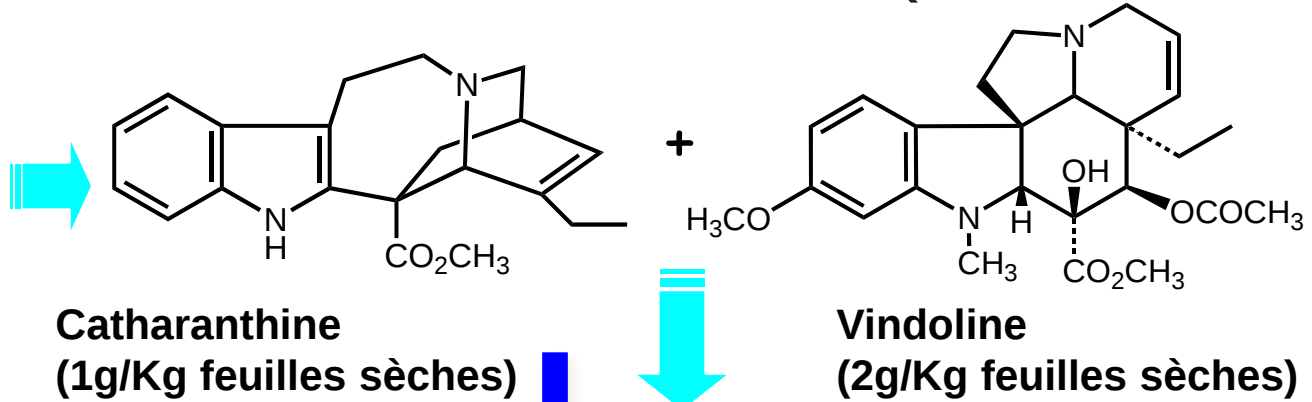
Vinblastine (R=CH₃) - 100mg/Kg feuilles sèches

Vincristine (R=CHO) - 10 mg/kg feuilles sèches

- 1960 :** Découverte de la vinblastine (Velbé®) et de la vincristine (Oncovin®), substances antitumorales isolées des feuilles de *Catharanthus roseus*
Mode d'action: inhibiteur de la tubuline en microtubules
- 1960s :** Développement vinblastine (maladie de Hodgkin, lymphomes) et vincristine (leucémies, lymphomes) par les laboratoires pharmaceutiques Eli Lilly (US)
- 1970s :** Synthèse vinblastine et recherche d'analogues actifs (ICSN-CNRS)

Hémisynthèse de la Vinblastine

Découverte de la Vinorelbine (Navelbine®)



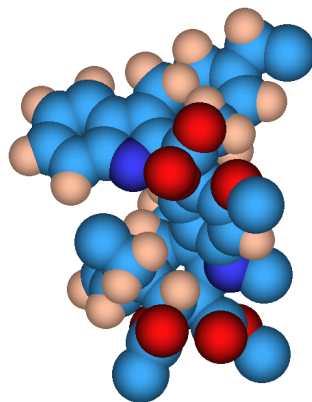
La Vinorelbine (Navelbine®)

De la découverte au développement

- 1979** Synthèse de la **Vinorelbine** (rendement: 10%)
Mise en évidence de l'activité antimitotique
Brevet ➔ recherche d'un partenaire industriel
- 1980-81** Nouvelle synthèse de la Vinorelbine, **transposable à l'échelle industrielle**
(rendement: 80%) Etude *in vitro* et *in vivo*
Brevet
- 1982** **Collaboration:** Laboratoires Pierre Fabre
- 1980-88** Etudes pharmacologique de la Vinorelbine - Etudes Phase I et II
- 1989** Autorisation de Mise sur le Marché (cancer du poumon non à petites cellules, cancer du sein)



Catharanthus roseus
4 tonnes de feuilles sèches



Vinorelbine
1Kg



L'if (*Taxus*), arbre sacré des druides...



résistance



longévité



toxicité

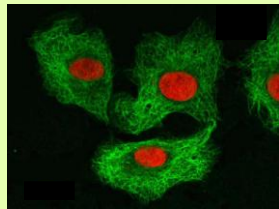
"Mêlons, touillons et retouillons
Chaudron bouillonne à gros bouillons.
Pieds de ciguë arrachés dans l'obscurité...
Fiel de bouc et rameaux d'if
Cueillis dans une nuit sans lune..."

Shakespeare, *Macbeth* (acte IV, scène 1)

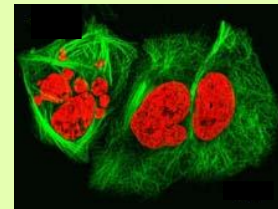
Recherche de nouveaux composés antitumoraux

Criblage manuel 1960-1986 (National Cancer Institute)

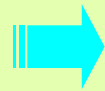
Essai in vitro de cytotoxicité sur cellules cancéreuses



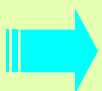
Extraits de plantes
ou produits purs



35 000
plantes



108 000
extraits



4 150
extraits actifs



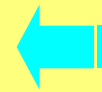
2000 composés
purs actifs



Écorces de tronc
de *taxus brevifolia*

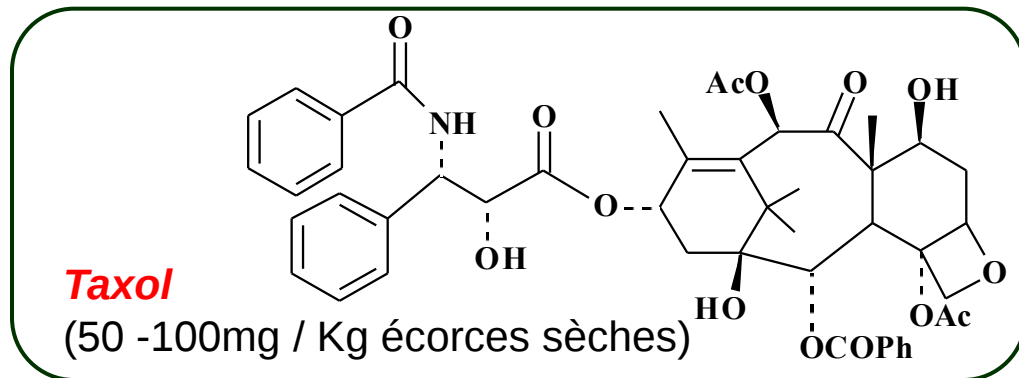


Essai in vivo de cytotoxicité



11 composés
antitumoraux

Découverte du Taxol



- **1960-1986** Criblage NCI *in vivo* et *in vitro* (35000 plantes -> 11 composés anticancéreux)
- **1971** Taxol, principe actif responsable de l'activité anticancéreuse détectée dans les écorces d'ifs du Pacifique (*Taxus brevifolia*) (Wani, Wall et coll.). Structure établie aux RX.
- **1979** Mode d'action du taxol ➔ stabilise les microtubules (S. Horwitz, *Science*)

Problèmes:

Approvisionnement : Faible rendement d'extraction à partir de différentes espèces de *Taxus* if (100 ans) ➔ 5 Kg écorces -> 500 mg taxol

Formulation dans Cremophor (molécule hydrophobe) (effets II, mauvaise absorption)

Solutions:

Hémisynthèse du taxol à partir d'un précurseur naturel obtenu facilement

Synthèse totale du taxol

Découverte du Taxotère® (docetaxel)



écorces

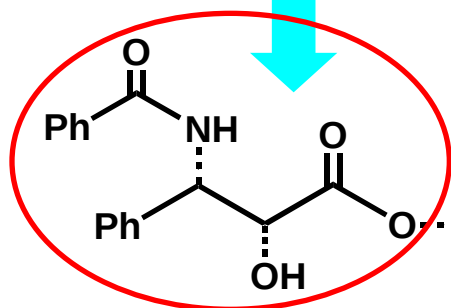


Taxus baccata

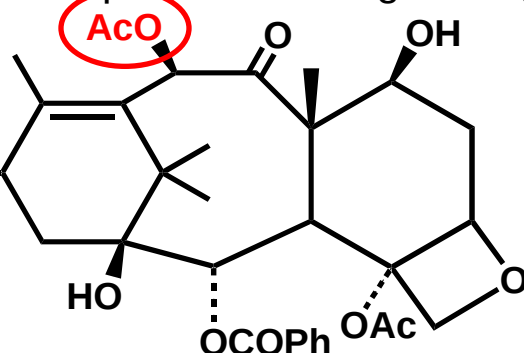


feuilles

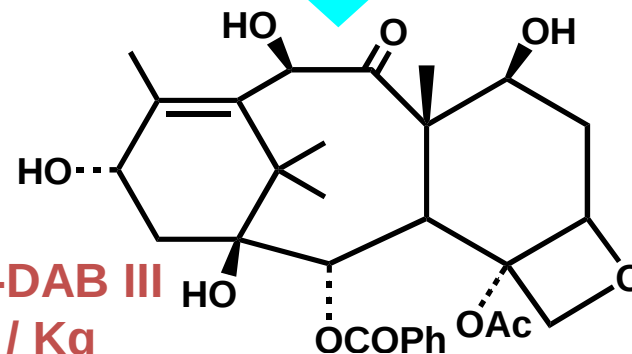
Extraction (ifs du campus CNRS-Gif)
purification bioguidée (tubuline)



Taxol
< 100mg / Kg



10-DAB III
1g / Kg



DAB: - précurseur potentiel du Taxol et d'analogues
- isolée d'une source renouvelable
- isolée en relativement grande quantité

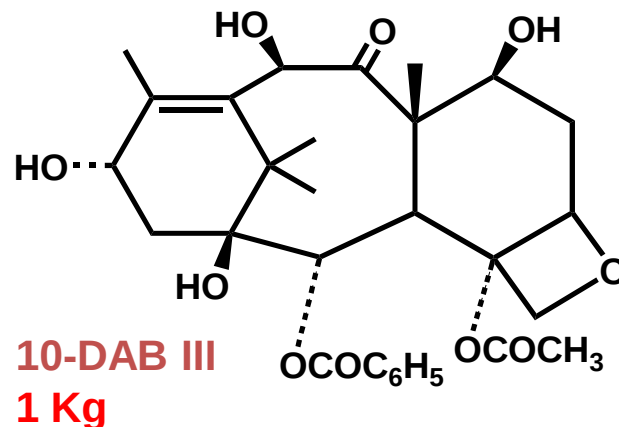
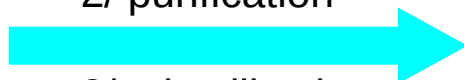
**Synthèse Taxol et
Découverte du Taxotère**

Hémisynthèse du Taxol® et du Taxotère®



4 tonnes feuilles fraîches

1/ extraction
2/ purification
3/ cristallisation



Taxol® (Paclitaxel) R = Ph
Taxotère® (Docetaxel) R = OtBut 100g

Brevet CNRS 1988
J. Amer. Chem. Soc., 1988
Collaboration avec UJF
Grenoble

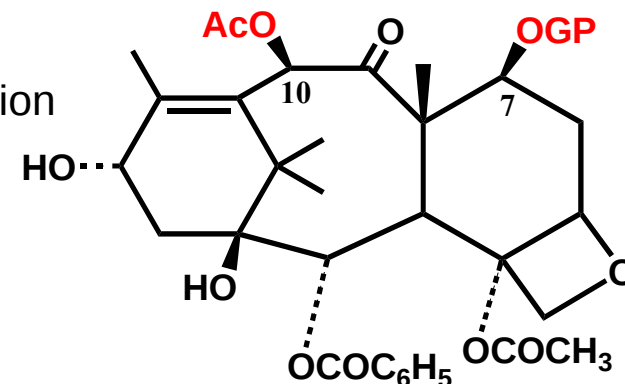
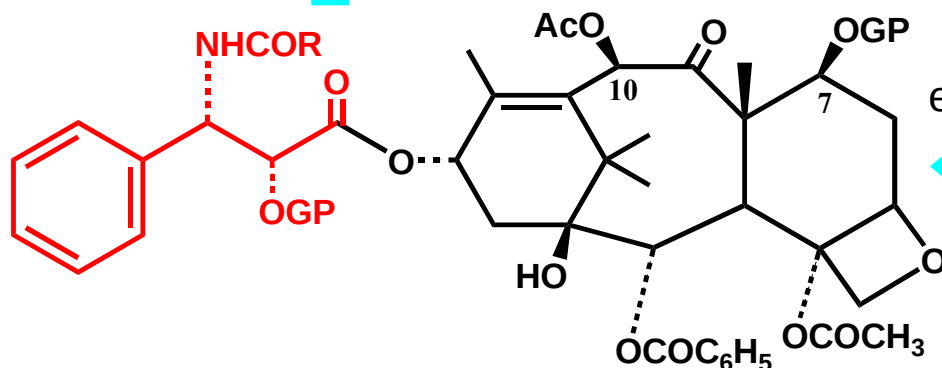
1/ protection
2/ acétylation



estérification



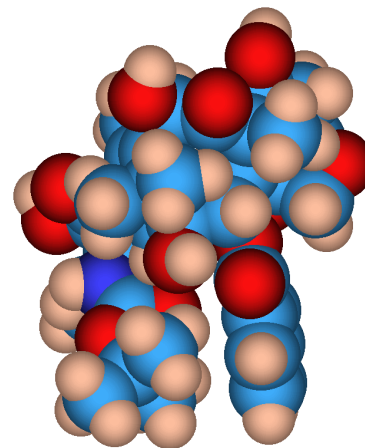
déprotection



Le Taxotère® (docetaxel)

De la découverte au développement

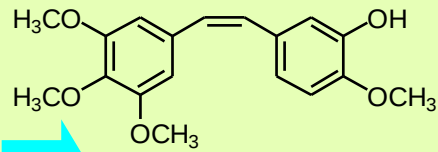
- 1979-80** Découverte de la **DAB purifiée** des feuilles de ***Taxus baccata*** (ICSN-CNRS)
- 1984** Hémisynthèse du **Taxol®** (paclitaxel)
découverte du **Taxotère®** (docetaxel) (ICSN-CNRS)
- 1986** Mise en évidence de l'**activité antitumorale** (Rhône-Poulenc Santé)
Brevet sur la préparation du docetaxel et paclitaxel (procédé: Hydroxyamination) ➔ ICSN - Rhône-Poulenc Santé
- 1987-89** Synthèse de 100g de docetaxel à partir de 4 tonnes de feuilles d'ifs (ICSN)
- 1989** Nouveau **brevet** sur l'hémisynthèse du docetaxel et du paclitaxel (ICSN/CNRS - Université Grenoble/CNRS - Rhône-Poulenc Santé)
Développement du docetaxel [RP Santé puis RPR (1990) puis Aventis (1999)]
- 1995** Taxotère® : **AMM** Europe
- 1996** Taxotère® : **AMM** US
- cancer du sein
cancer des bronches
cancer de la prostate



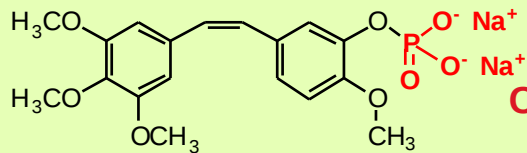
Nouveaux produits d'origine végétale en essais cliniques anticancéreux



Combretum caffrum



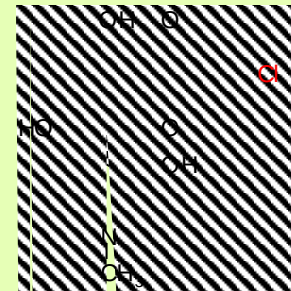
Combretastatine A4



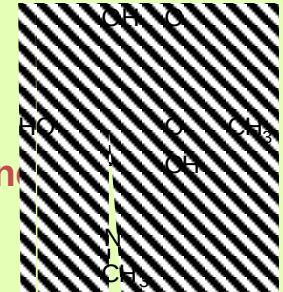
**Combretastatine
A4 Phosphate**
(agent antivasculaire)



***Dysoxylum
binectariferum***



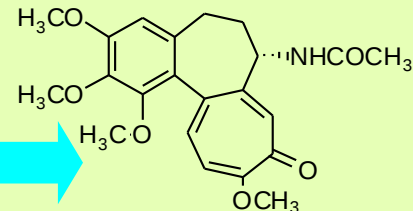
Rohitukina



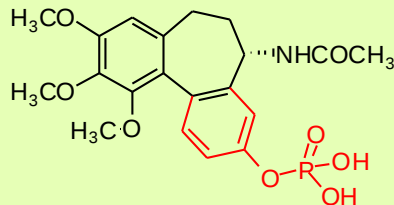
Flavopiridol
(inhibiteur de CdK)



Colchicum autumnale



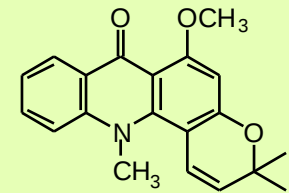
Colchicine



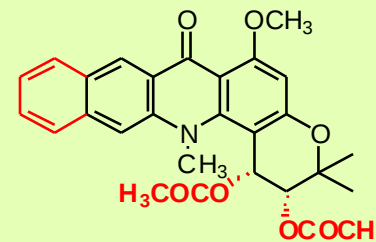
ZD-6126
N-acetylcolchicinol
-O-phosphate
(agent antivasculaire)



Acronychia baueri



Acronycine



S23906-1
(alkylant de l'ADN)

Médicaments mis sur le marché entre 1998 et 2007 basés sur des composés issus des plantes

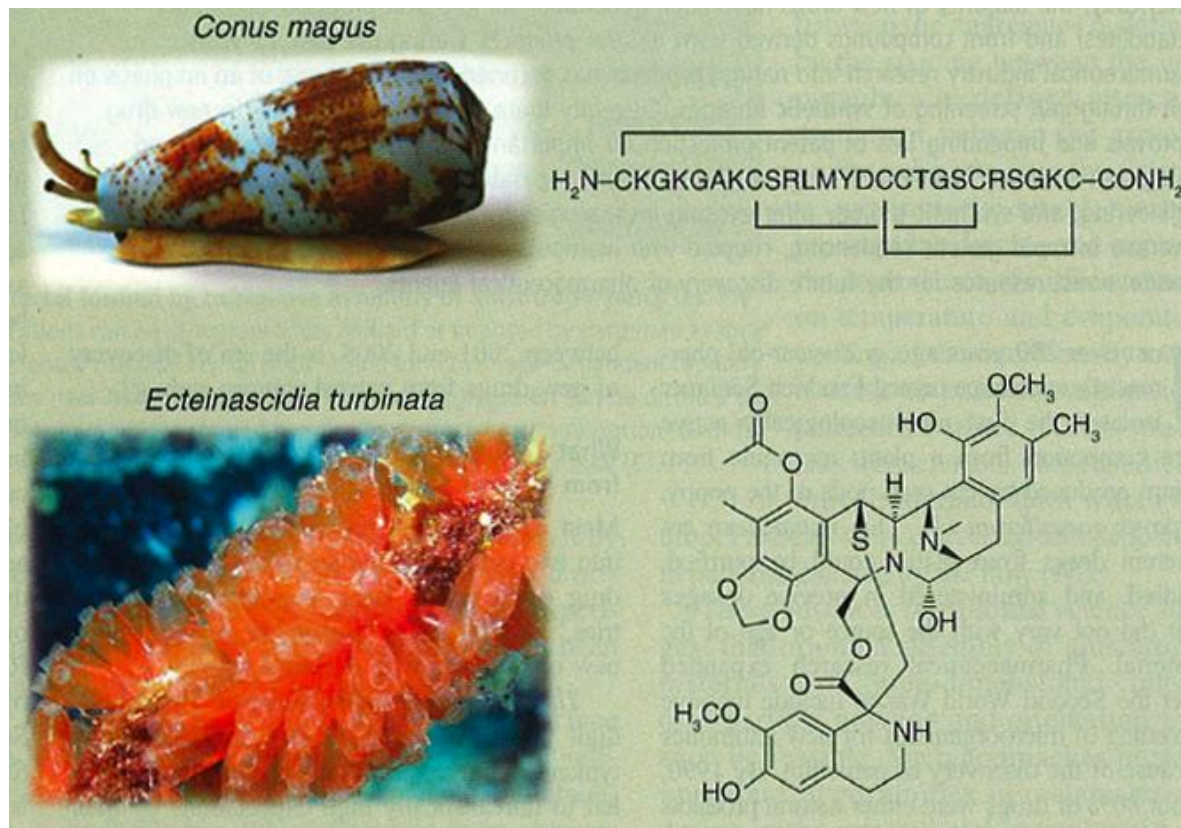
Organisme	Principe actif	Date d'AMM	Indication
<i>Coleus forskohlii</i>	Colforsine (dérivé de la forskoline)	1999	Vosorelaxation Vasodilation
<i>Artemisia annua</i>	Arteether	2000	Malaria
<i>Narcissus</i> spp.	Galantamine	2002	Démence Alzheimer
<i>Leptospermum</i> spp.	Nitisinone (dérivé de leptospermone)	2002	tyrosinémies héréditaires
<i>Morus</i> spp	Deoxynojirimycine	2003	Maladie de Gaucher de type I
<i>Cannabis sativa</i>	Dronabinol/ cannabidol	2007	vomissements et nausées



En 2007, 91 produits dérivés de plantes sont en essais cliniques

A. Saklani et S.K. Kutty, Drug Discovery Today, 13, 3/4, 2008

Nouveaux médicaments d'origine marine



→ Toxine de cône
Ziconoside (Prialt®)
AMM en 2005 UE
Douleurs chroniques
Intenses
(voie intrarachidienne)

→ Acide cytotoxique
Trabéctidine
(Yondelis®)
AMM en 2007 UE
Sarcome avancé
des tissus mous

J.W-H Li et J.C. Vederas, Science, 235, 2009

Conclusion

- Les substances naturelles (plantes) sont connues et utilisées depuis l'antiquité
- Le XIX et XX siècles ont vu l'avènement des substances pures pour développer un arsenal thérapeutique (morphine, quinine, pénicilline, cyclosporines, etc...)
- 60's début du criblage des extraits naturels et développement de nouveaux médicaments (Anticancéreux, antiparasitaires, etc...)
- 80's déclin des produits naturels au profit des produits de synthèse avec les criblages HTS (cibles nouvelles, conceptions d'analogues d'après modélisation)
- 90's développement des outils de biotechnologie (Antibiotiques)
- 00's apparition de médicaments d'origine marine

Perspectives

- ★ Diminution du nombre de médicaments d'origine naturelle?
 - ➔ Poursuite des criblages HTS dans les majors pharmaceutiques
 - ➔ Restrictions gouvernementales sur les AMM

- ★ Outils émergeants pour accélérer la découverte de médicaments issus de produits naturels
 - Métagénomique (accès à 99% des microorganismes inaccessibles, activation des voies silencieuses des plantes pour produire de nouveaux composés)
 - Criblage sur cellule unique
 - Evolution des techniques RMN (cryosonde RMN et microsonde)
 - ➔ analyse de faibles qtés (200 µg ^{13}C)
 - Couplages CLHP-SM, CLHP-RMN (séparation et analyse automatisée)
 - Biosynthèse combinatoire (accès à de nouveaux composés)

J.W-H Li et J.C. Vederas, Science, 235, 2009

ICSN-CNRS

*Institut de Chimie des Substances Naturelles (ICSN)
Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS)*

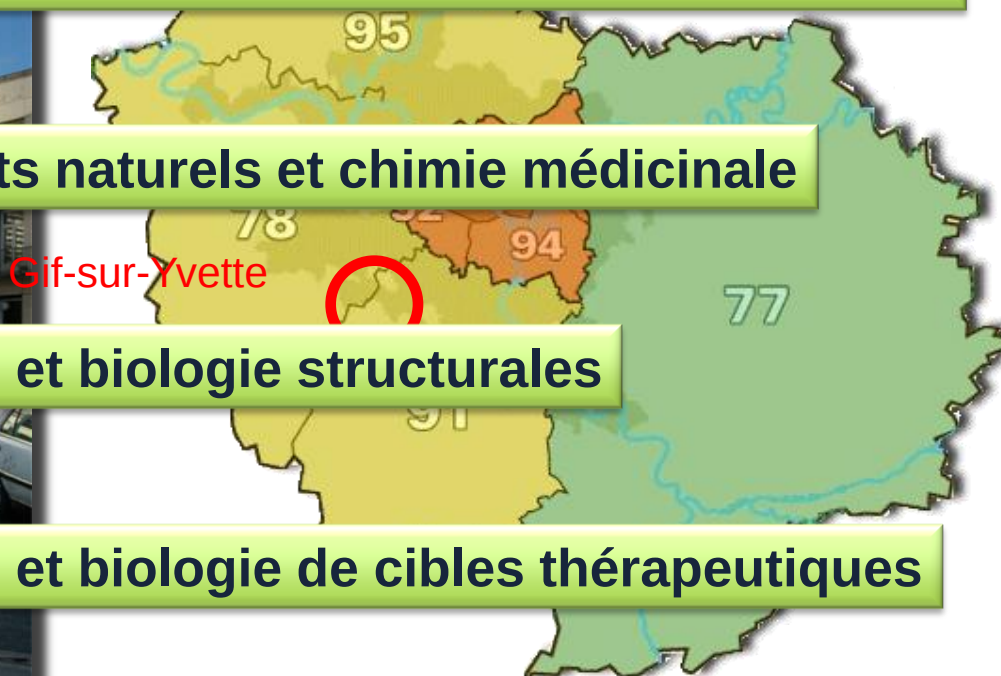


Chimie organique des molécules complexes

Produits naturels et chimie médicinale

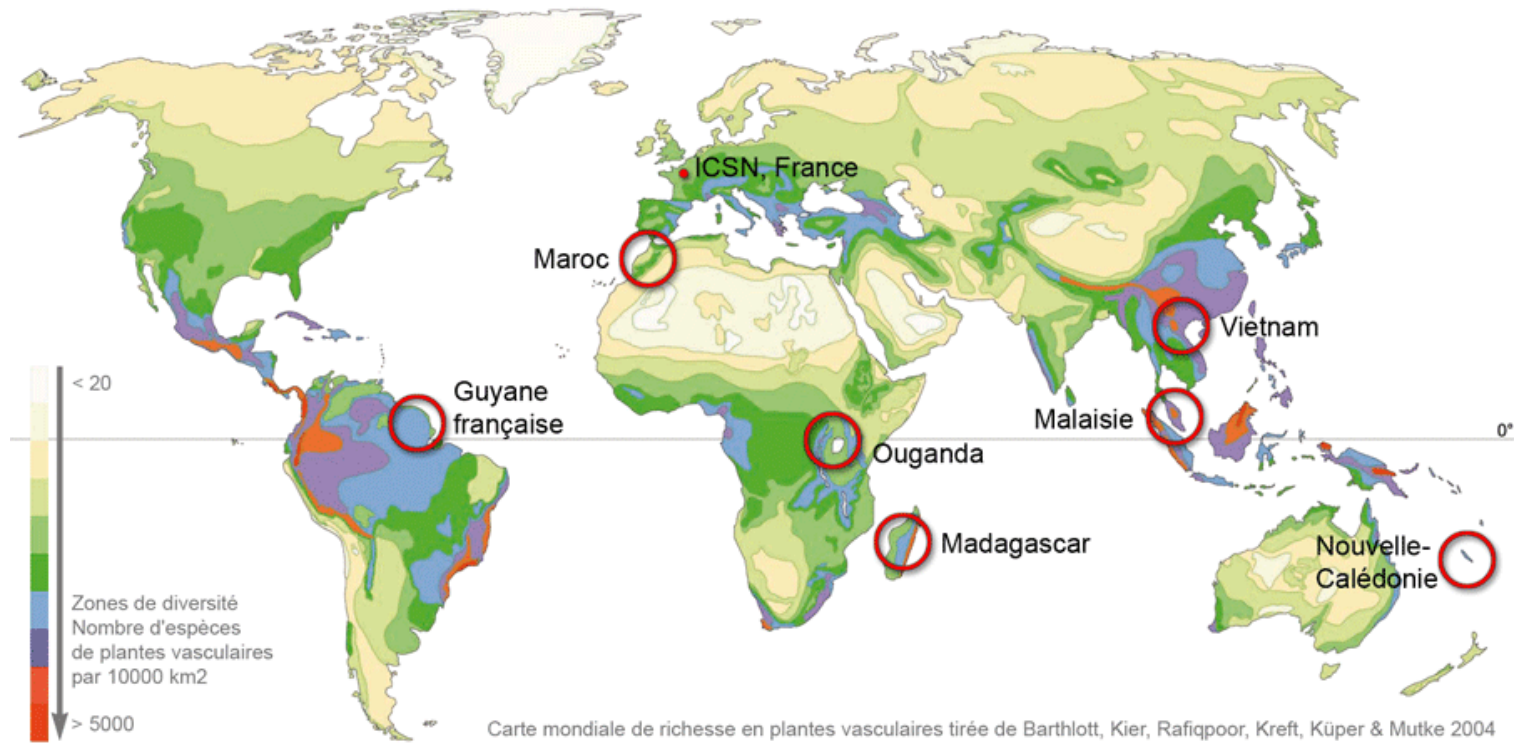
Chimie et biologie structurales

Chimie et biologie de cibles thérapeutiques



ICSN, Gif-sur-Yvette

Provenance des récoltes et collaborations



Objectif: découvrir à partir de plantes supérieures de la biodiversité tropicale, de nouvelles molécules bioactives



Collaborations officielles (Madagascar depuis 2004)
Respect des accords sur la biodiversité (Convention de Rio)
Accueil d'étudiants

La démarche du laboratoire: le fractionnement standard

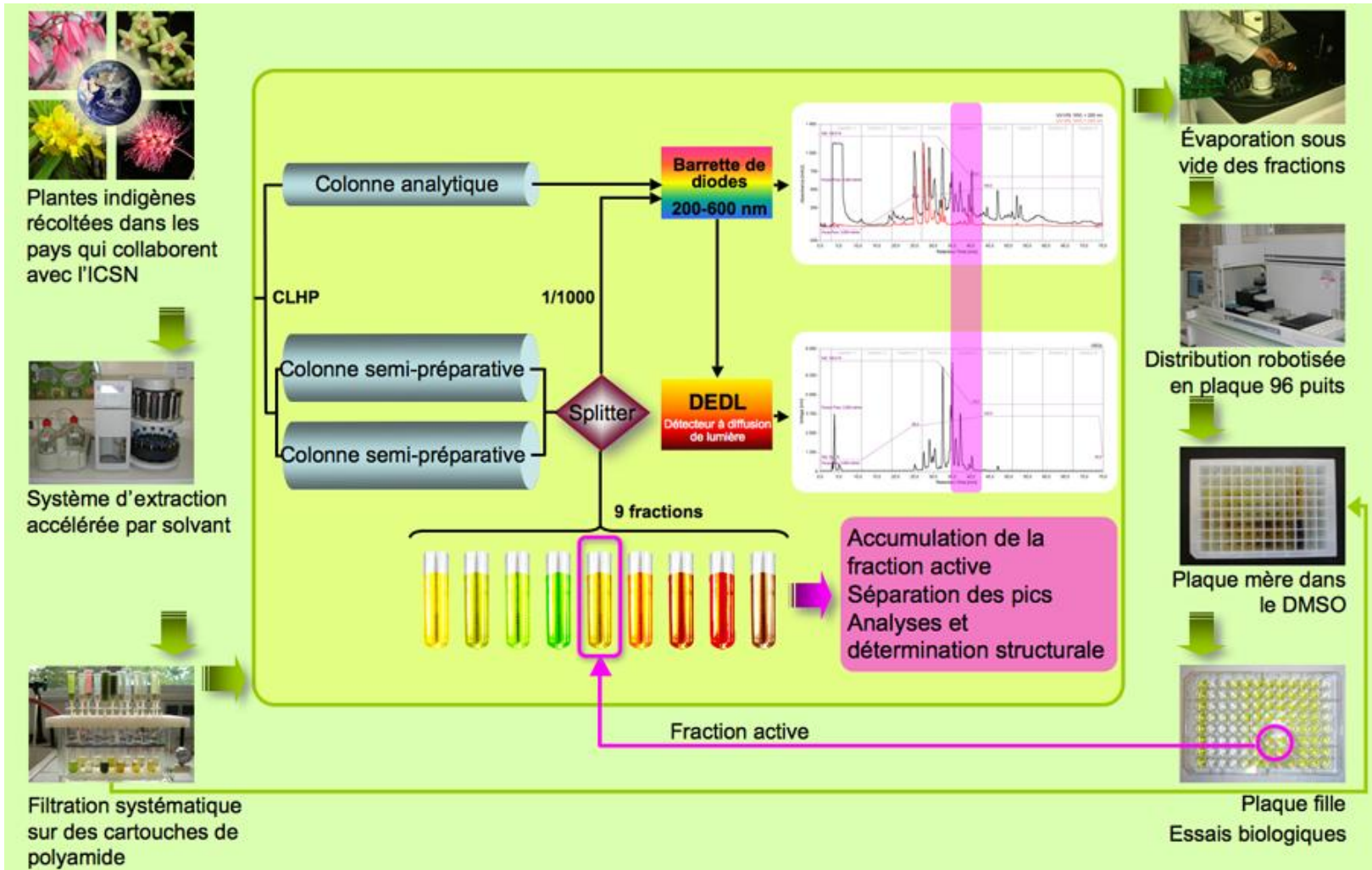


Schéma simplifié du fractionnement standardisé des extraits biologiquement actifs

Pôle Substances Naturelles-Plantes

Extractothèque



Pôle Substances Naturelles

DUM-0505 (Résultats)



Données
de
récoltes

Famille :	PROTEACEAE
Genre :	Sieumerodendron
Espèce :	austrocaledonicum
Sous-Espèce :	
Variété :	
Pays :	Nouvelle-Calédonie
Lieu :	Aoupinlé, Nouvelle route d'exploitation, 518 m, UTM 533777/7659537
Date :	2005-04-20
Protection :	non
Fichier :	

Photos



Résultats biologiques

ICSN : ACHE 10 µg/mL (Résultat : % Inh) - Système nerveux central

Détection

PP	Solvant	Extrait	Position	Composition	Résultats		Date	Description	
Feuille	AcOEt	LN-1960-f	PSN-348	A07	LFSN-0082	0.00	0.00	2007-08-02	IC50 tacrine 93nM
Ecorce	AcOEt	LN-1962-f	PSN-348	B07	LFSN-0082	0.00	10.00	2007-08-02	IC50 tacrine 93nM
Fruit	AcOEt	LN-1964-f	PSN-348	C07	LFSN-0082	0.00	0.00	2007-08-02	IC50 tacrine 93nM
Bois	AcOEt	LN-1966-f	PSN-348	D07	LFSN-0082	10.00	10.00	2007-08-02	IC50 tacrine 93nM

ICSN : Cytotoxicité KB 1 µg/mL (Résultat : % Inh) - Oncologie

Détection

PP	Solvant	Extrait	Position	Composition	Résultats		Date	Description	
Feuille	AcOEt	LN-1960-f	PSN-348	A07	LFSN-0082	18.00	11.00	2007-08-30	
Ecorce	AcOEt	LN-1962-f	PSN-348	B07	LFSN-0082	49.00	60.00	2007-08-30	
Fruit	AcOEt	LN-1964-f	PSN-348	C07	LFSN-0082	22.00	7.00	2007-08-30	
Bois	AcOEt	LN-1966-f	PSN-348	D07	LFSN-0082	48.00	37.00	2007-08-30	

L'extractothèque:

13 000 extraits AcOEt (6 000 plantes)

Base de Données unique

dans le domaine public en France!

Base de données

(Chimiothèque Nationale)

Gestion:

Identification

Parties de Plantes récoltées

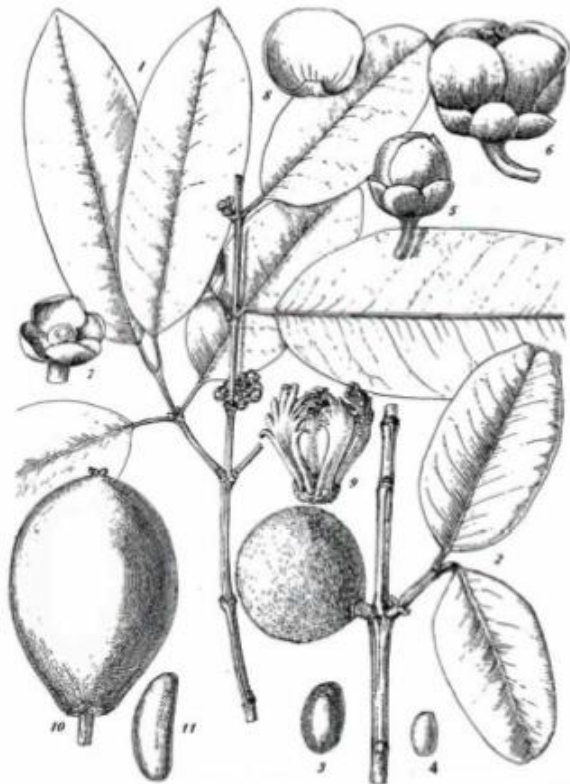
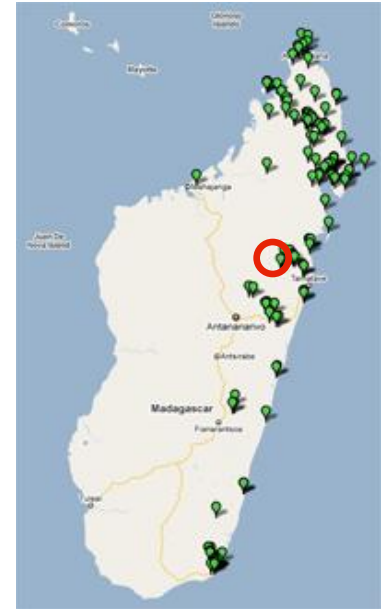
Localisation (GPS)

Activité Biologique - Accès aux
résultats pour les partenaires via un
"tunnel" sécurisé

Création d'un outil informatique
(Logiciel libre CeCILL) - en lien avec l'
extractothèque nationale

Garcinia verrucosa Jum & Perrier subsp. *orientalis* H. Perrier (Clusiaceae)

- 10 espèces récoltées (Clusiaceae)
- Criblage biologique sur **P388 à 10µg/ml**
- Espèce sélectionnée : *Garcinia verrucosa*
- Ecorce de tige : **99 % Inhibition *in vitro***



- Plante endémique de la forêt humide de Madagascar
- Arbre de 5 à 20 mètres
- Sève jaune caractéristique des Clusiaceae
- Noms vernaculaires : kija, kijafotsy, vongo...
- Utilisations traditionnelles : bois d'ouvrage de génie civil, menuiserie ordinaire



Mialy Rajaoanarivelo, Thèse BDI PED en cours ICSN/IMRA

Etudes phytochimiques de *G. verrucosa*

Ecorces de tige séchées et broyées
100 g



Extrait brut AcOEt
5,54 g

P338: 99 % Inh. à 10µg/ml



Garcicosine

18,5 mg

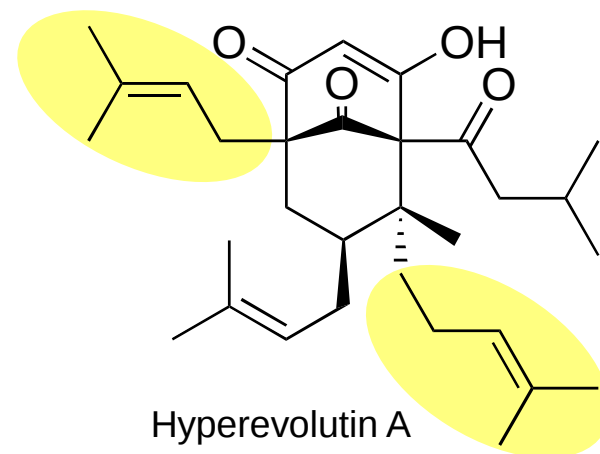
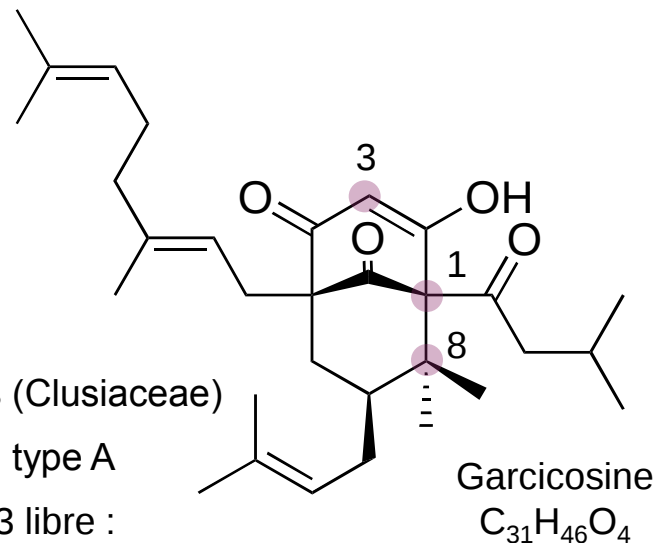
Rdt : 18,5%

CI₅₀ = 3,0 µM

120 PPAP's (Clusiaceae)

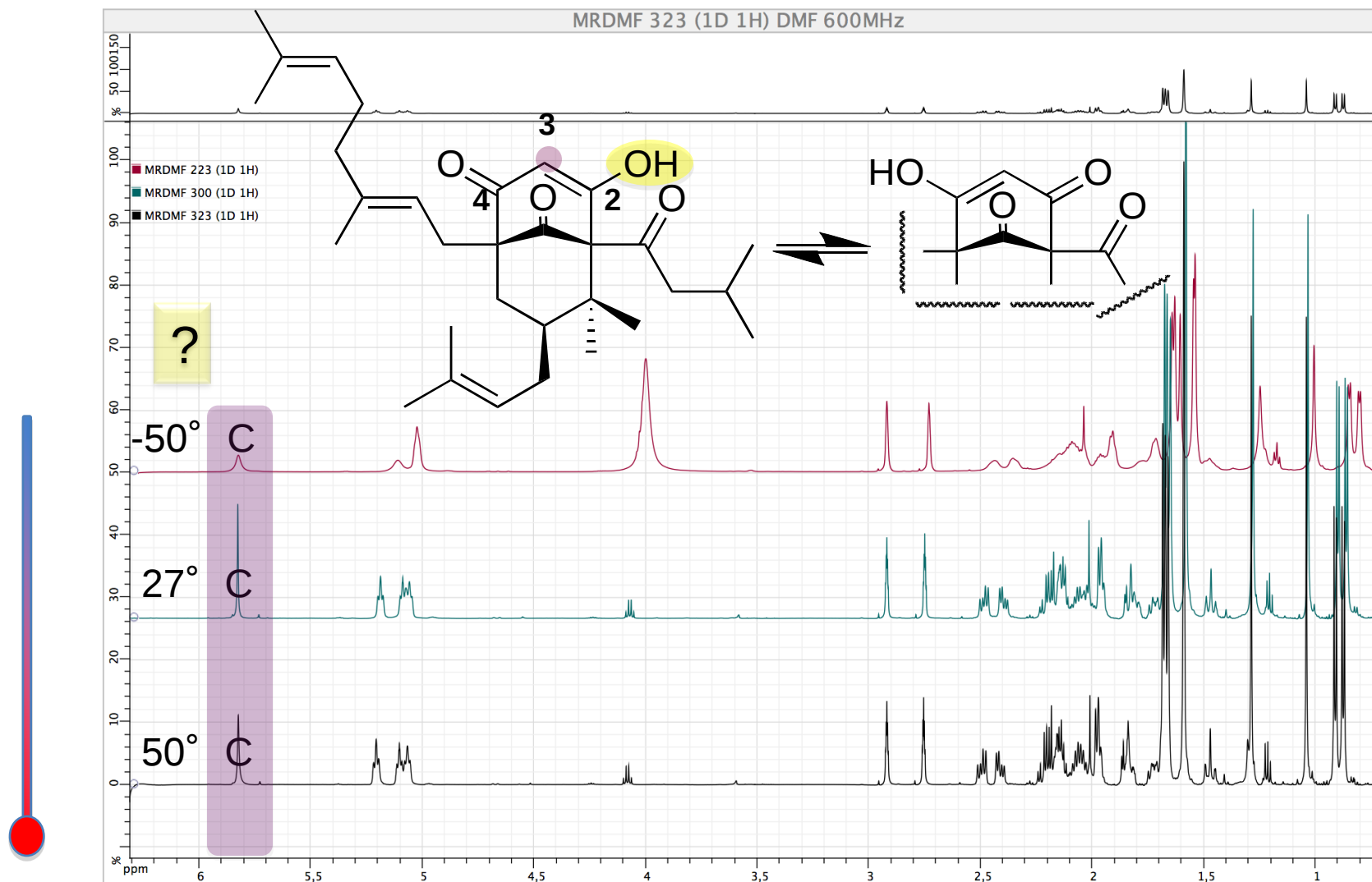
80 PPAP's type A

2 avec H3 libre :



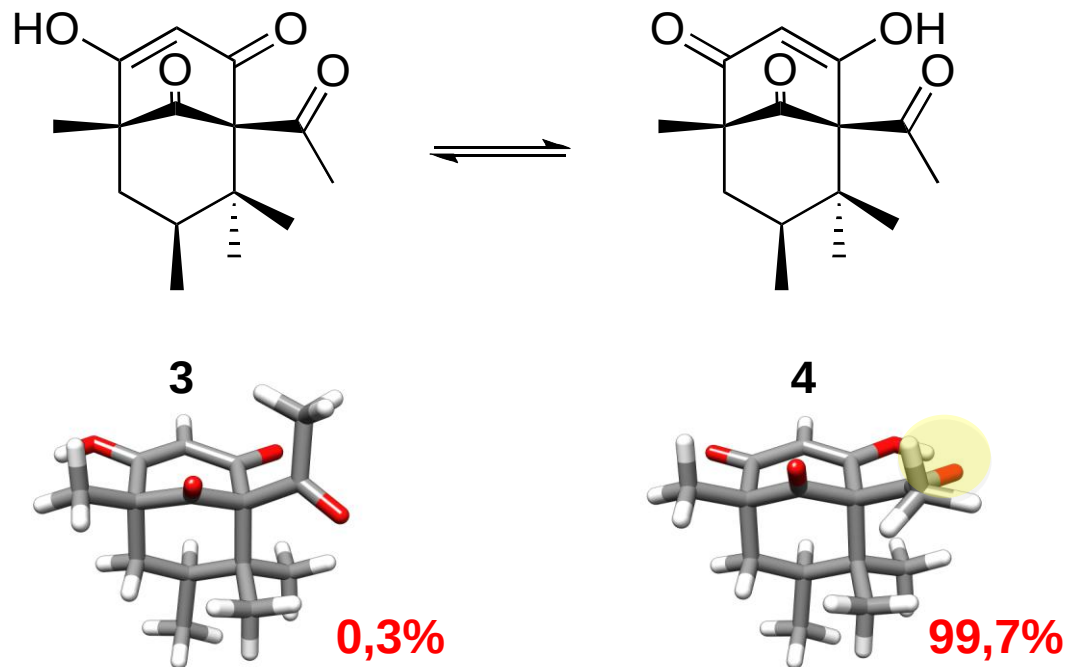
R.Ciochina and R.B. Grossman, *Chem. Rev.* 2006, 106, 3963 - 3986
L.A. Decorsted et al. , *Helv. Chim. Acta* 1989, 72, 464

Etudes RMN de la Garcicosine



Marie-Thérèse Martin

Étude théorique de l'équilibre tautomère de la Garcicosine



Conformations obtenues après optimisation de la méthode *ab initio* (Méthode de la théorie fonctionnelle de densité)



La forme 4 permettant la liaison hydrogène intramoléculaire est largement favorisée

Guillaume Bernadat / Bogdan Iorga

Carphalea sp (Rubiaceae)

Criblage biologique sur Kinase impliquée dans les maladies neurodégénératives de 750 plantes de l'extractothèque de l'ICSN

➔ 8 plantes sélectionnées dont 3 de Madagascar
(Collaboration avec L. Meijer, Station Biologique de Roscoff)

Carphalea sp : $CI_{50} = 2 \mu\text{g/ml}$ (Parties aériennes)
Aucune publication phytochimique sur le genre



Carphalea = *Dirichletia*

Petit arbuste

15 espèces en Afrique tropicale,
Socotra et Madagascar



Mialy Rajaoanarivelo, Thèse BDI PED en cours ICSN/IMRA

Etudes phytochimiques de *Carphalea* sp

Carphalea sp1
Parties aériennes séchées et broyées
615 g



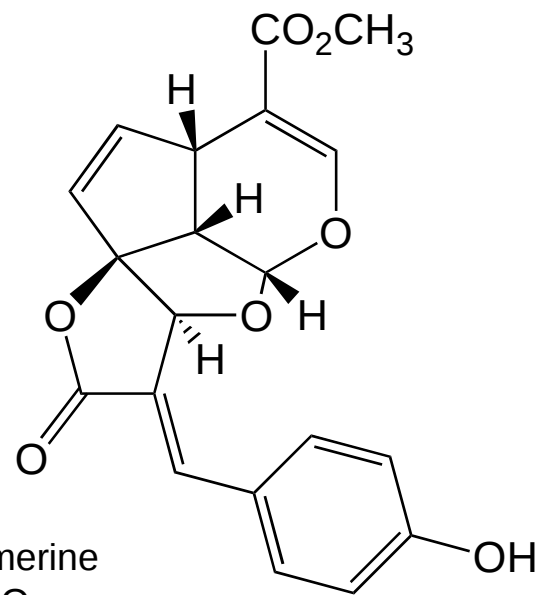
Extrait AcOEt filtré
13,9122g
Activité restante : 44%



F4
1,850 g
53%



Prismatomerine
3 mg Rdt: 0,048‰
Cl₅₀ = 2,7 µM



Prismatomerine
C₂₀H₁₆O₇

Isolée de *Prismatomeris terandra*
(Rubiaceae) en 2007 ⁽¹⁾

(1) K. Krohn *et al.*, *J. Nat. Prod.*, 2007, 70 (8), 1339-1343
M. S. Abdel-Kader *et al.*, *J. Nat. Prod.*, 1997, 60 (12), 1294-1297

Croton spp (Euphorbiaceae)

- Criblage biologique sur **P388 à 10 μ g/ml**
- Espèces sélectionnées : *Croton barorum* Leandri
Croton goudotii Baill.
- Parties aériennes: **100 % Inhibition *in vitro***
 - Plante endémique de la forêt sèche de Madagascar
 - *C. barorum* utilisé pour le traitement de la toux, des fièvres malariques mais toxique
 - *C. goudotii* utilisé pour le traitement chronique des blennorragies, des toux et réputé aphrodisiaque

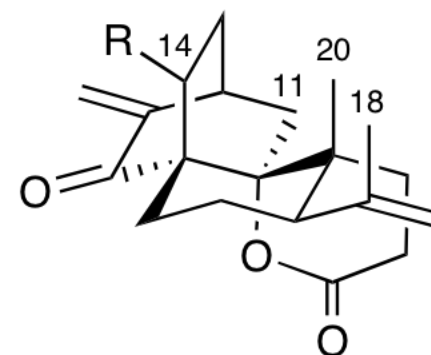
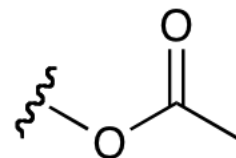


Crotogoudine R = H

$Cl_{50}=0,4 \mu M$

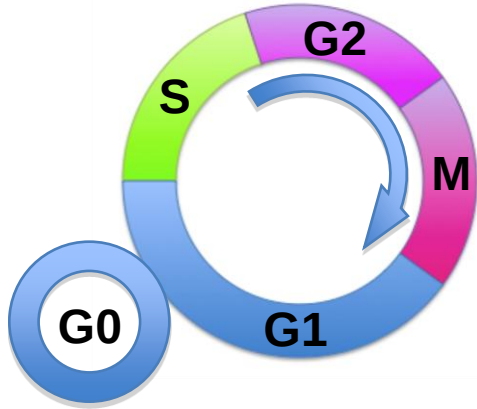
Crotobarine R =

$Cl_{50}=0,4 \mu M$

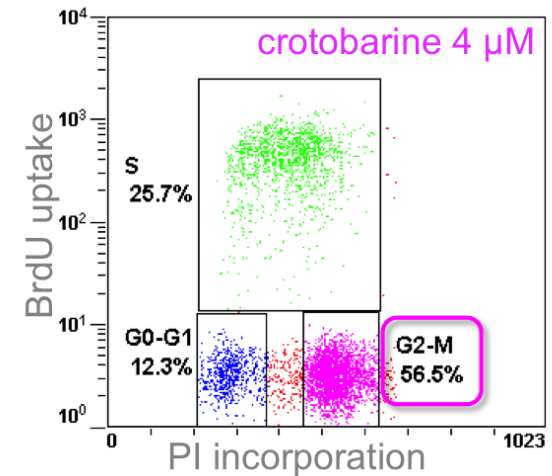
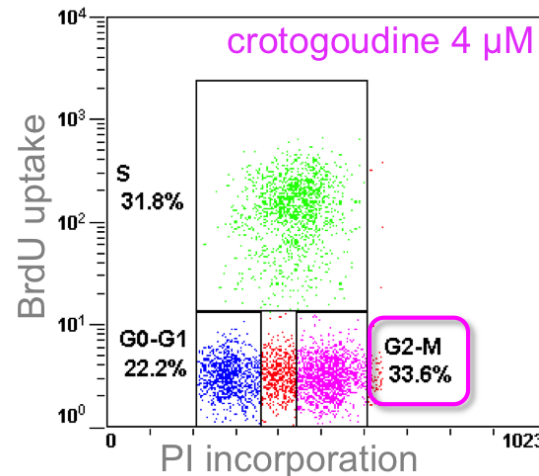
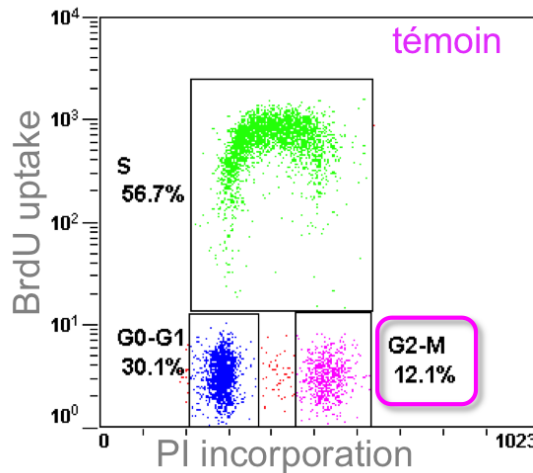


Olga Rakotonandrasana, Thèse en cours ICSN / UNIV-TANA

Etudes en cytométrie de flux



Distribution du cycle cellulaire mesurée par double marquage à la bromodeoxyuridine (BrdU) et à l'iodure de propidium (PI) sur des cellules K562 après 24 H.
Les CI_{50} des deux composés sont de $0.7 \mu M$ sur K562.



Arrêt en phase G2/M pour les deux composés

Le contenu sub-diploïdique indique un mécanisme de type apoptose

Projet « PHYTOCHICK »



« Biodiversité et virus émergents dans l'Océan Indien:
sélection de candidats médicaments ciblant le virus
Chikungunya »



Université
Îles Maurice
A. Gurib-Fakim



Université de
La Réunion
J. Smadja



IMRA
Madagascar
P. Rasoanaivo



ICSN, CNRS
F. Guéritte
Coordination



Institut Rega
Université de Louvain
J. Neyts

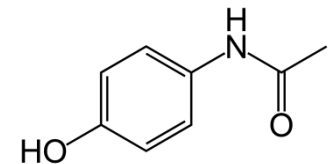
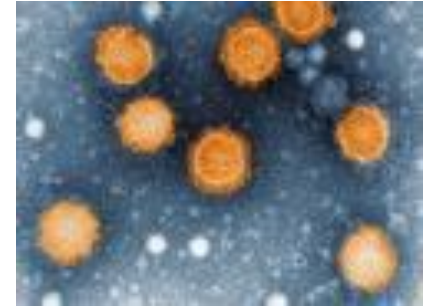


AFMB,
Université Marseille,
CNRS, **B. Canard**

Chikungunya

« maladie de l'homme courbé »

- Arbovirus à ARN (+)
Famille: *TOGAVIRIDAE*; Genre: *alphavirus*
- Moustiques: *Aedes albopictus*, *A. aegypti*
- Réservoirs: oiseaux, singes, Homme
- Epidémie en 2005 à La Réunion (35%)
- Symptômes: fièvres, éruptions, arthralgies...
- Traitements symptomatiques



Nécessité de médicaments

Pialoux et al., Médecine et Maladies Infectieuses, 2006

Méthodologie envisagée

COLLECTE DU MATERIEL VEGETAL

Approche systématique
820 extraits; 31 hits; 5 retenus

Approche chimiotaxonomique
Cinchona sp.



Approche ethnopharmacologique
Tradipraticiens



Criblage biologique

Test cellulaire:
inhibition
réplication
virale

Test enzymatique
: inhibition
ARN
polymérase

Etude phytochimique
✓Extraction, isolement,
purification
✓Analyse structurale

Evaluation biologique
✓Confirmer l'activité
✓Définir la cible biologique

Etude RSA
✓Modification chimique des
composés isolés
✓Hémisynthèse

Objectifs

- Caractériser 1 à 2 séries chimiques originales
- Découvrir de nouveaux inhibiteurs de la réplication virale (chikungunya)
- Déterminer des relations de structure-activité
- Proposer un mécanisme d'action



Thèse Mélanie Bourjot ICSN
bourse MESR (ED MNHN)

- **Appréhender les mécanismes moléculaires de la réplication virale**
- **Découvrir un nouveau médicament**



Intérêts de la collaboration

- Complémentarité des laboratoires malgaches et français
 - Connaissance de la biodiversité
 - Analyse structurale
 - Accès au criblage biologique sur des cibles spécifiques
 - Essais *in vitro*
 - Essais *in vivo*
- Réseau fédérateur pour obtenir des financements de projets spécifiques pour les deux parties.
- Formation d'étudiants pour renforcer le pôle malgache

Remerciements Madagascar



Emmanuel Randrianarivo
Solofoniaina Razafimahefa



IMRA
P. Rasoanaivo



Université
Antananarivo



ESPA



BioMad 2009

Remerciements France



Françoise Guéritte, Marc Litaudon, Barbara Morleo
Marie-Thérèse Martin



DRI-DRE
J-P. Bachelet



Pr P. Potier
Pr J-Y. Lallemand
Pr D. Crich



Ministère de
l'Enseignement
supérieur et de
la Recherche