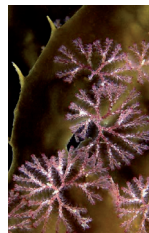


Recherche de substances naturelles à activité thérapeutique (2)

George R. Pettit

Pierre P.J. Da Silva¹, Lyamin Z. Bendjedou^{1,2,3}, Laurent Meijer^{1,2}



¹ Association « Jardin de plantes anticancéreuses », place de l'Évêché, 29250 Saint-Pol-de-Léon, France ;

² ManRos Therapeutics, centre de Perharidy, 29680 Roscoff, France ;

³ Laboratoire de chimie et biochimie pharmacologiques et toxicologiques (LCBPT), unité de pharmacologie génétique et chimique, Inserm U1022, université Paris Descartes, 45, rue des Saints Pères, 75006 Paris, France. jardinplantesanticancer@gmail.com meijer@manros-therapeutics.com

Série « Pionniers de la découverte de substances naturelles à activité thérapeutique »¹

Avant-propos

Dans cette série de courtes revues « Les découvreurs de substances naturelles à activité thérapeutique », nous racontons « la vie et l'œuvre » de chercheurs célèbres et emblématiques qui ont découvert des molécules thérapeutiques importantes à partir de produits naturels. Consacré à George R. Pettit, le second article de cette série traite de la vie du célèbre chercheur, de son exploration, à travers le monde, des produits naturels, en particulier d'origine marine, à la recherche de molécules anticancéreuses prometteuses, de sa découverte et de l'élucidation structurale de candidats-médicaments puissants, de leur synthèse et de celle d'analogues, ainsi que du lancement de certaines de ces molécules sur le marché pharmaceutique. Une carrière scientifique extraordinaire qui a mené George R. Pettit de l'exploration de la Nature à la chimie analytique et synthétique de haut niveau et des essais cliniques aux succès thérapeutiques.

¹ Le 1^{er} article de cette série est paru dans *m/s* n° 5, vol. 28, mai 2012 [55].

Le *National cancer institute* (NCI), créé en 1937 aux États-Unis, inaugure en 1955 le CCNSC (*Cancer chemotherapy national service center*) afin de coordonner

les travaux de recherche d'équipes académiques et de l'industrie pharmaceutique sur les produits naturels destinés à la lutte contre le cancer. Ces collaborations donnent naissance à des programmes de grande ampleur, tout d'abord sur les produits de fermentation et quelques plantes (de 1957 à 1960, 1500 extraits de plantes sont analysés à la recherche d'une activité antitumorale). Les découvertes de la podophyllotoxine (*Podophyllum peltatum*) et des vinca-alcaloïdes (*Catharanthus roseus*) stimulent les recherches sur les plantes, et plus de 114 000 extraits de 35 000 plantes sont passés au crible entre 1960 et 1982 [1].

Cet engouement pour les plantes et microorganismes terrestres n'empêche pas G.R. Pettit de lancer, en 1965, le premier programme sur la recherche de composés antitumoraux issus d'organismes marins, avec le soutien du NCI, en particulier de J.L. Hartwell (1906-1991) et de H.B. Wood Jr (1919-2002) [2].

La flore mondiale comprend environ 390 800 espèces, dont les angiospermes constituent la végétation terrestre la plus notable et pourraient compter 352 000 espèces [3]. Plus de 2 000 000 d'espèces marines restent encore à explorer. Jusqu'à présent, moins de 10 % des plantes supérieures [4] et moins de 0,5 % des organismes marins ont été étudiés en termes de recherche de substances potentiellement thérapeutiques [5]. Ainsi, la majorité des molécules bioactives issues du monde animal et végétal restent encore à découvrir.



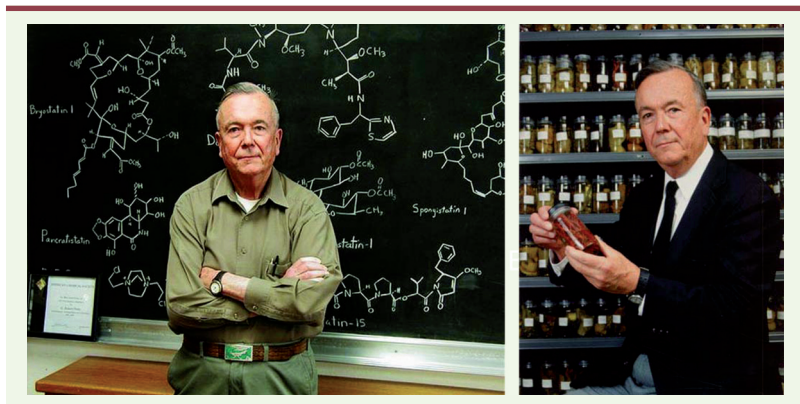


Figure 1. George Robert Pettit (1929-). À gauche, devant les formules de ses composés majeurs. À droite, devant sa collection d'organismes marins récoltés de par le monde (© photographies : Peter J. Kiss/ Tim Trumble, ASU cancer research institute).

Une carrière dédiée à la recherche de molécules thérapeutiques

George Robert Pettit (Figures 1, 2) est né le 8 juin 1929 à Long Branch (New Jersey, États-Unis) et a grandi sur la côte du New Jersey, à moins d'un kilomètre de l'océan Atlantique. Il passe une grande partie de son enfance à explorer et à étudier les invertébrés qu'il trouve sur ces plages. Il commence à travailler en 1942, à l'âge de 13 ans, en tant qu'apprenti chez un pharmacien. Deux ans plus tard, le principal de son lycée, découvrant sa passion pour la chimie (âgé de 10 ans, George R. Pettit s'était déjà créé un laboratoire chez lui !), lui propose de travailler dans un laboratoire du Monmouth Medical Center. Il assiste le pathologiste lors d'examen *post mortem* et constate pour la première fois les ravages du cancer. Cette expérience le bouleverse profondément et l'amène à penser à toutes les créatures qu'il observe sur la côte : bien qu'apparemment vulnérables, elles sont parvenues à survivre pendant des millions d'années sans être décimées par les prédateurs ou les maladies. G.R. Pettit imagine alors que les défenses chimiques utilisées par ces organismes marins doivent être puissantes et pourraient aussi être utilisées pour combattre le cancer.

En 1952 il obtient son *Bachelor of science* en chimie à la Washington state university, à Pullman, puis poursuit son cursus à la Wayne state university, à Detroit. Il y obtient son *Master of science* en chimie des hétérocycles en 1954 et son doctorat en chimie des stéroïdes en 1956, ces deux diplômes sous la direction du célèbre Pr Carl Djerassi (1923-)¹. En 1956, G.R. Pettit rejoint la compagnie Norwich Eaton Pharmaceuticals (aujourd'hui Procter & Gamble) en tant que chercheur chimiste senior. Il est professeur assistant à la Maine university à Orono de 1957 à 1961, puis est nommé professeur associé et, en 1965, il obtient le grade de Professeur de chimie. Après un bref professorat à l'université Stanford en Californie, il accepte un poste de professeur au département de chimie de l'Arizona state university, à la fin de l'année 1965. Durant les années 1960-70, de nombreuses espèces d'arthropodes [6], d'organismes marins [7], mais aussi de plantes, sont récoltées afin d'en

extraire et isoler des composés actifs à visée thérapeutique. Le groupe de recherche de G.R. Pettit est officiellement reconnu en 1973 en tant qu'Arizona state university (ASU)-cancer research laboratory, puis comme l'ASU-cancer research institute (ASU-CRI). De 1975 au début des années 1990, de nombreuses substances naturelles sont isolées et identifiées à partir d'organismes marins et terrestres. Plusieurs composés sont testés dans des essais cliniques dans les années 1990-2000, et continuent aujourd'hui leur chemin vers le marché pharmaceutique [8].

A partir de 1986, G.R. Pettit occupe le poste de *Dalton professor of cancer research and medicinal chemistry* et, en 1990, il est nommé *Regents professor of chemistry*, puis, en 2000, codirecteur de l'*Arizona prostate cancer task force*. En 2012, il obtient le *Regents distinguished achievement award*. Un nouveau bâtiment de recherche ASU-CRI, incorporant des laboratoires de chimie, de biologie du cancer et de microbiologie est construit entre 1995 et 2001, grâce aux revenus des brevets et à de nombreux dons. En 2002, contre toute attente et tout bon sens, la nouvelle administration de l'université décide de mettre fin à l'ASU-CRI. En juillet 2005, les bâtiments et les collections sont réquisitionnés. Les programmes de recherche sont actuellement menés par cinq membres du groupe ASU-CRI original dans les locaux du département de chimie et de biochimie de l'Université [8].

Les recherches de G.R. Pettit - plus de 764 publications et 67 brevets - portent sur tous les aspects de la chimie des produits naturels : extraction, purification, détermination des structures, biosynthèse, synthèse chimique totale, évaluations biologiques et cliniques.

Les composés issus d'organismes marins

Les bryostatines

En juin 1968, Jack Rudloe (1943-), biologiste marin de la *Gulf specimen company*, récolte, à la demande de l'équipe de J.L. Hartwell, des organismes marins présents en abondance. Il collecte ainsi *Bugula neritina*, un bryozoaire de la famille des *Bugulidae* présent en grande quantité dans le golfe du Mexique (Figure 3). Compte tenu de la découverte de la forte activité antitumorale *in vivo* de ces extraits [7], d'autres récoltes sont effectuées dans le golfe de Californie et sur les côtes de Californie par G.R. Pettit dans les années 1970, afin d'obtenir suffisamment de bryozoaires pour purifier les composés actifs. En 1981, à partir de 500 kg de *B. neritina*, G.R. Pettit parvient à isoler 120 mg de bryostatine 1,

¹ Voir l'article de Joëlle Stolz sur Carl Djerassi, *Le Monde science et techno* du 28 octobre 2013.

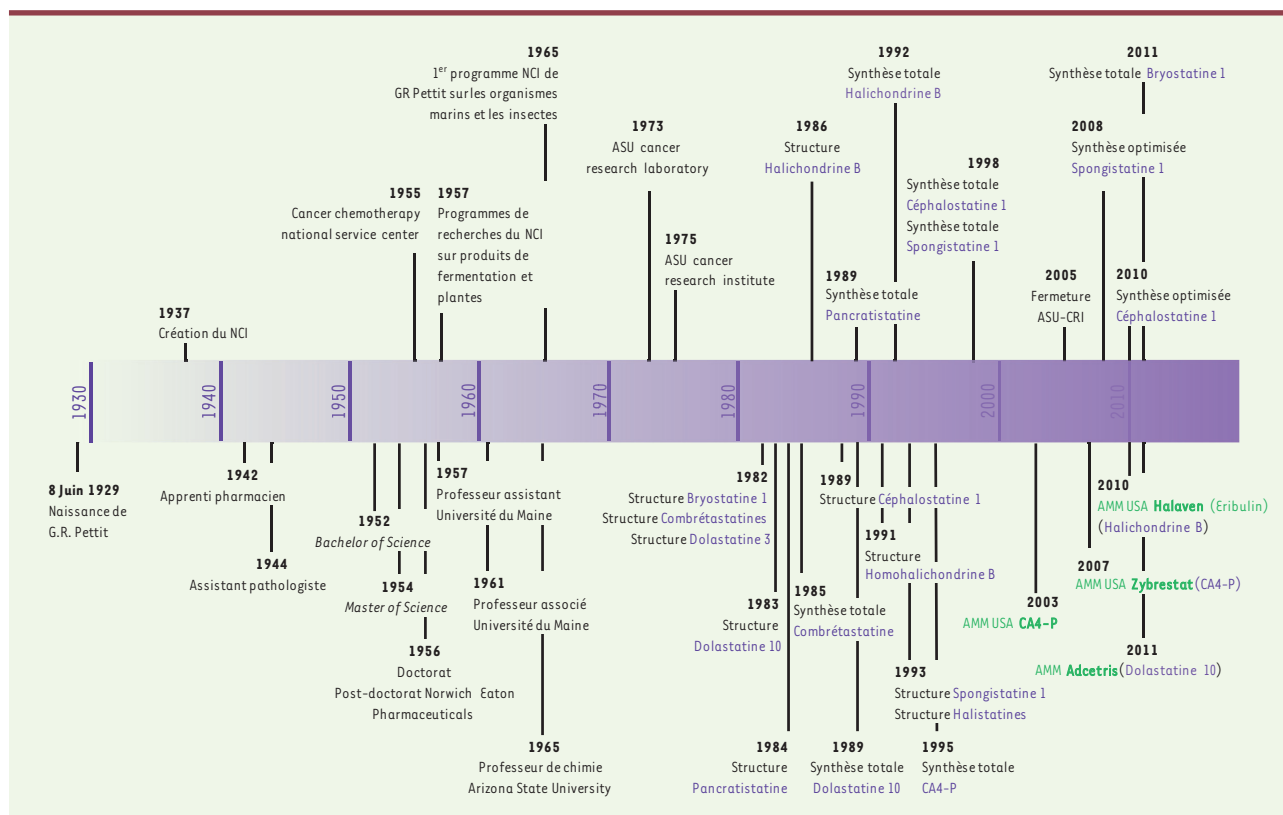


Figure 2. Chronologie des événements clés de la vie de George R. Pettit. En violet, les molécules identifiées et développées ; en vert, les médicaments ayant obtenu une autorisation de mise sur le marché (AMM).

une lactone macrocyclique dont la structure sera déterminée par cristallographie et publiée en 1982 [9]. En 1991, G.R. Pettit envoie au NCI 120 fûts de 200 litres contenant 14 tonnes de *B. neritina* récoltées le long des côtes californiennes ; dix-huit grammes de bryostatine 1 en seront isolés, une quantité suffisante pour engager des essais cliniques [10]. Par la suite, une vingtaine de nouvelles bryostatines seront découvertes chez *B. neritina* récolté dans divers sites. [11]

La première synthèse totale de la bryostatine 1, en 58 étapes, est présentée en 2011 par G.E. Keck [12]. Depuis les années 1990, plusieurs synthèses totales de ces molécules ont été réalisées. La découverte récente de *Candidatus Endobugula sertula*, une γ -protéobactérie symbionte de *B. neritina*, comme source potentielle des bryostatines, pourrait permettre la production à grande échelle des bryostatines par fermentation [13].

La bryostatine 1 montre une excellente activité antitumorale vis-à-vis d'une grande variété de tumeurs murines. Elle agit comme modulateur de l'activité des protéines kinases C (PKC), impliquées dans les voies de signalisation intracellulaires. La bryostatine 1 se lie à la même région de la PKC (domaine C1) que les esters de phorbol dont elle est un antagoniste. En effet, alors que ces derniers sont des agents promoteurs de tumeurs, la bryostatine 1 en bloque la croissance [10].

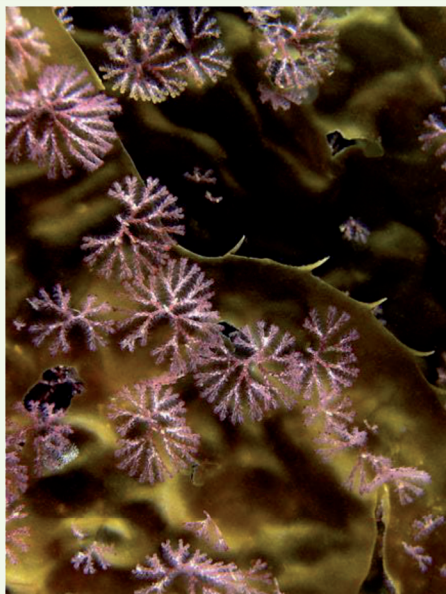
Le développement clinique de la bryostatine 1 débute en 1991. Plus de 90 essais cliniques ont été réalisés ou sont encore en cours aux États-Unis, au Royaume-Uni et au Canada. Ils démontrent le potentiel considérable

de la bryostatine 1 dans le traitement des cancers ovariens et des rechutes de lymphomes non hodgkiniens. En 2009, une étude de phase II indique que la bryostatine 1 augmente l'efficacité de la vincristine dans les lymphomes à larges cellules. La bryostatine 1, en association avec le paclitaxel², accroît la réponse thérapeutique chez des patients atteints d'adénocarcinome gastrique ou gastro-œsophagique avancé non traité. Cependant, des études approfondies seront nécessaires pour réduire le seul effet secondaire répertorié, les myalgies, avant d'exploiter complètement le potentiel thérapeutique de la bryostatine 1 [11].

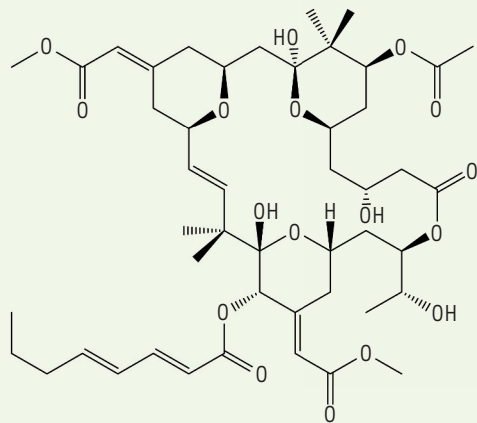
La bryostatine 1 a également des effets antidépresseurs et activateurs de la cognition probablement *via* son action sur les PKC, impliquées dans la synthèse des protéines nécessaires à la mémoire de long terme. La bryostatine 1 est actuellement en phase II d'essais cliniques pour le traitement de la maladie d'Alzheimer³, et les premiers résultats indiquent qu'elle bloque la progression du déclin cognitif et réduit la dépression associée à cette pathologie neurodégénérative [14].

² Autre nom taxol. Il agit sur les microtubules qu'il stabilise.

³ http://www.brni.org/scientific_research/clinical_trials.aspx



Bugula neritina



Bryostatine 1

Figure 3. Structure de la Bryostatine 1, extraite du Bryozoaire *Bugula neritina* (Bugulidae) (à gauche) (© photographie : Kevin Lee).

Des analogues de la bryostatine 1, les « bryologues », sont actuellement testés dans les infections par le VIH (virus de l'immunodéficience humaine) à l'institut UCLA AIDS (*university of California Los Angeles-acquired immunodeficient syndrome*). Ces nouveaux composés permettraient de faire sortir le provirus de son état de dormance, le rendant sensible au traitement antirétroviral (HAART, *highly active antiretroviral therapy*), ce qui permettrait de l'éliminer définitivement chez les patients [15].

Les dolastatines

En 1972, un extrait du mollusque *Dolabella auricularia* (Aplysiidae) collecté au large de l'île Maurice, montre une activité antitumorale prometteuse. Il faudra dix ans de récoltes et près de 1 600 kg d'échantillons pour que G.R. Pettit puisse isoler les premières dolastatines (Figure 4) [16]. Le protocole permettant d'isoler quelques milligrammes de dolastatine 10, le composé le plus prometteur de la série, nécessite 23 purifications par chromatographies successives, générant près de 20 000 fractions. Un an sera nécessaire à G.R. Pettit pour déterminer sa structure par RMN (résonance magnétique nucléaire) à champ élevé et spectrométrie de masse haute résolution.

Une récolte d'environ 700 tonnes de *D. auricularia* aurait été nécessaire pour obtenir suffisamment de dolastatine 10 pour des essais cliniques, ce qui était impossible pour des raisons économiques et écologiques. Le composé devait donc être synthétisé. La synthèse totale nécessita 28 étapes et ce n'est qu'au bout du 15^e essai que le produit naturel fut obtenu parmi les 512 isomères possibles dus aux neuf centres chiraux de la molécule⁴. Il fallut attendre 1989 pour

synthétiser une quantité suffisante de dolastatine 10 pour engager les études pré-cliniques et cliniques [17].

La dolastatine 10 est un inhibiteur non compétitif de l'assemblage des microtubules, qui agit au niveau du site de liaison des vinca-alcaloïdes. Elle favorise et stabilise la liaison de la colchicine avec la tubuline [18].

Quatre essais cliniques de phase I et onze essais de phase II ont été réalisés avec

la dolastatine 10, et plusieurs dérivés sont en cours de développement. L'un d'entre eux, le soblidotin (auristatine PE ; TZT-1027), est actuellement en essai clinique de phase II au Japon, aux États-Unis et en Europe. Un dérivé monométhyl de l'auristatine E associé à un anticorps monoclonal dirigé contre la molécule CD30⁵ (appelé SGN-35 ou brentuximab vedotin) (Figure 4) a été testé dans des essais cliniques de phase III (maintenant terminés) dans les lymphomes réfractaires et les lymphomes à larges cellules. Ce dérivé est commercialisé sous le nom d'Adcetris[®] au niveau mondial depuis la fin de l'année 2011. Le même dérivé, associé à un autre anticorps humain, dirigé contre l'épitope AGS-5, permet le transport de l'auristatine E jusqu'aux sites tumoraux dans les cancers gastriques, pancréatiques et prostatiques. Cette molécule cible les tumeurs exprimant AGS-5. Un autre dérivé, l'auristatine PHE (MMAF), associé à l'anticorps monoclonal anti-CD7, est en phase I dans le traitement du carcinome rénal métastatique et du lymphome non hodgkinien réfractaire. Un analogue de la dolastatine 15, le cemadotin (LU-103793), est en phase II en Europe et aux États-Unis, tandis qu'un autre, le tasidotin (synthadotin, ILX-651), est entré en phase II en 2005 [19].

Les halichondrines

En 1979, G.R. Pettit récolte une éponge, *Axinella sp.*, de la famille des *Axinellidae*, à l'ouest des îles Caro-

⁴ La synthèse chimique de composés possédant des carbones asymétriques (ou centres chiraux) est rendue difficile par l'obtention possible de nombreux isomères, molécules possédant une configuration spatiale différente, alors que l'organisme vivant ne synthétise en général qu'un seul composé.

⁵ CD30 est un marqueur initialement caractérisé comme exprimé à la surface des cellules de lymphome hodgkinien. La molécule a une homologie de séquence avec les membres de la superfamille des récepteurs du TNF (*tumor necrosis factor*).

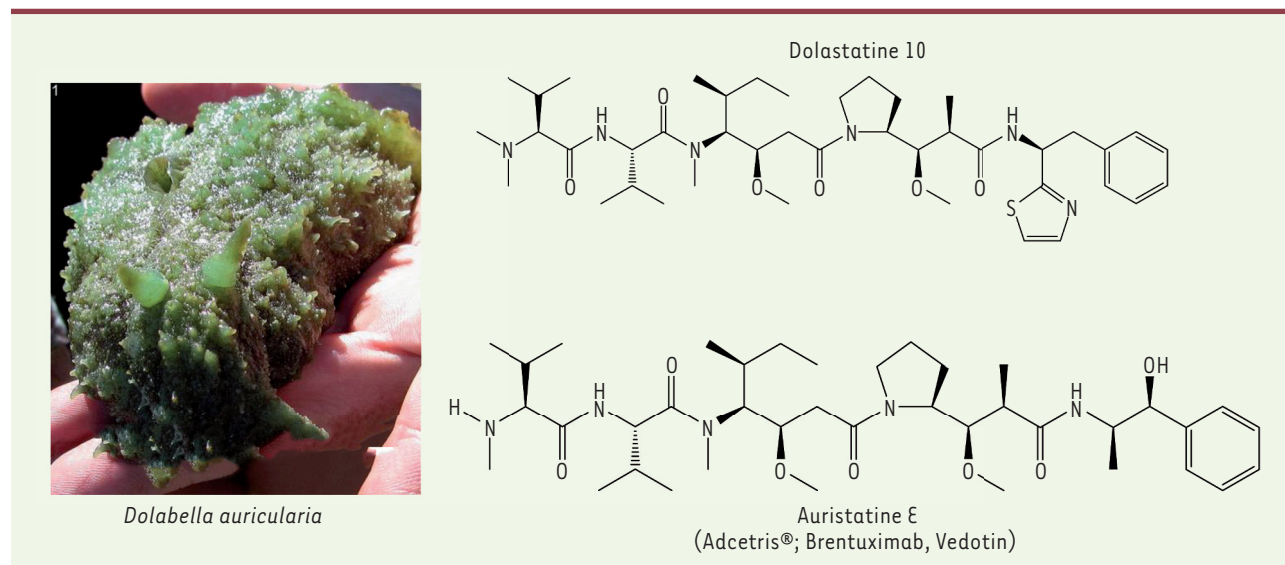


Figure 4. Structures de la Dolastatine 10, extraite du mollusque gastéropode opistobranch *Dolabella auricularia* (Aplysiidae) (à gauche), et de son dérivé utilisé en clinique, Auristatine E (Adcetris®, Brentuximab, Vedotin) (© photographie : David Witherall ; <http://www.flickr.com/photos/normanby/5141103637/in/photostream>).

line et y détecte une puissante activité antitumorale. Une nouvelle récolte de 220 kg d'éponges est effectuée en 1985, mais ce n'est qu'en 1991 que sont réalisées la purification et l'identification des deux composés actifs (Homohalichondrine B et Halichondrine B), présents à très faibles concentrations [20]. En 1986, D. Uemura et Y. Hirata avaient déjà isolé, à partir de 600 kg de *Halichondria okadai* (Halichondridae), plusieurs composés cytotoxiques similaires qu'ils avaient nommés halichondrines. Ils identifièrent d'abord la norhalichondrine A, puis sept nouvelles halichondrines, dont l'halichondrine B (Figure 5), composé le plus actif de la série [21]. En 1987, G.R. Pettit récolte 250 kg de *Phakellia carteri* et isole de nouvelles halichondrines qu'il nomme halistatines [22].

En 1987, J.W. Blunt, M.H.G. Munro et leurs collègues identifient des halichondrines dans deux espèces d'éponges de Nouvelle-Zélande, *Raspalia agminata* et *Lissodendoryx sp.* De nouvelles extractions de la première récolte sont effectuées afin d'identifier les composés responsables de leur activité biologique : on y détecte l'halichondrine B, l'homohalichondrine B et un nouveau composé, l'isohomohalichondrine B. Une récolte de 200 kg de *Lissodendoryx sp.* permettra la purification de 43 mg d'halichondrine B, 45 mg d'homohalichondrine B et 57 mg d'isohomohalichondrine B [23].

Une première synthèse totale d'halichondrine B et de norhalichondrine B sera réalisée en 1992 par Y. Kishi [24]. Cependant, aucune des approches tentées ne permettra d'obtenir des halichondrines en quantités suffisantes pour les essais cliniques [25]. Une tentative d'aquaculture de l'éponge productrice d'halichondrines sera vite abandonnée en raison d'un rendement trop faible et d'un coût trop important.

L'halichondrine B agit sur la tubuline par un mécanisme d'action différent de celui des vinca-alcaloïdes. Elle inhibe de manière non compétitive la liaison entre la tubuline et les vinca-alcaloïdes par une

action allostérique. Elle bloque la cellule en phase G2/M du cycle cellulaire, et interrompt la formation du fuseau mitotique par la déstabilisation des microtubules [26]. Malgré son activité *in vitro* et *in vivo* (xénogreffes chez l'animal) sur des cancers chimiorésistants humains, le développement de l'halichondrine B a été arrêté en raison des difficultés d'approvisionnement.

Entre-temps, la société pharmaceutique Eisai Inc. développe de nombreux dérivés synthétiques actifs aux structures simplifiées, et leur disponibilité ouvre la voie à un développement clinique. Le dérivé optimisé E7389 (éribuline) est actif dans de nombreux modèles de tumeurs humaines greffées chez l'animal, et présente une meilleure affinité envers la tubuline que l'halichondrine B. Comme l'halichondrine B, l'éribuline inhibe la polymérisation des microtubules, conduisant à l'apoptose de la cellule après un blocage prolongé de la mitose [26]. Les résultats encourageants des études précliniques et des études de phase I (2005-2007) ont permis à l'éribuline d'être testée en clinique, dans des essais de phases II (2008) et III (2010) en Europe, au Japon et aux États-Unis. Les derniers essais de phase III ont démontré que ce composé était un excellent agent thérapeutique pour le cancer du sein. Le 15 novembre 2010, le mésylate d'éribuline (nommé Halaven®) a été approuvé par la *food and drug administration* (FDA) pour le traitement du cancer du sein métastatique chez les patients ayant déjà reçu deux traitements de chimiothérapie. Il a reçu l'AMM européenne le 17 mars 2011 dans la même indication [27].

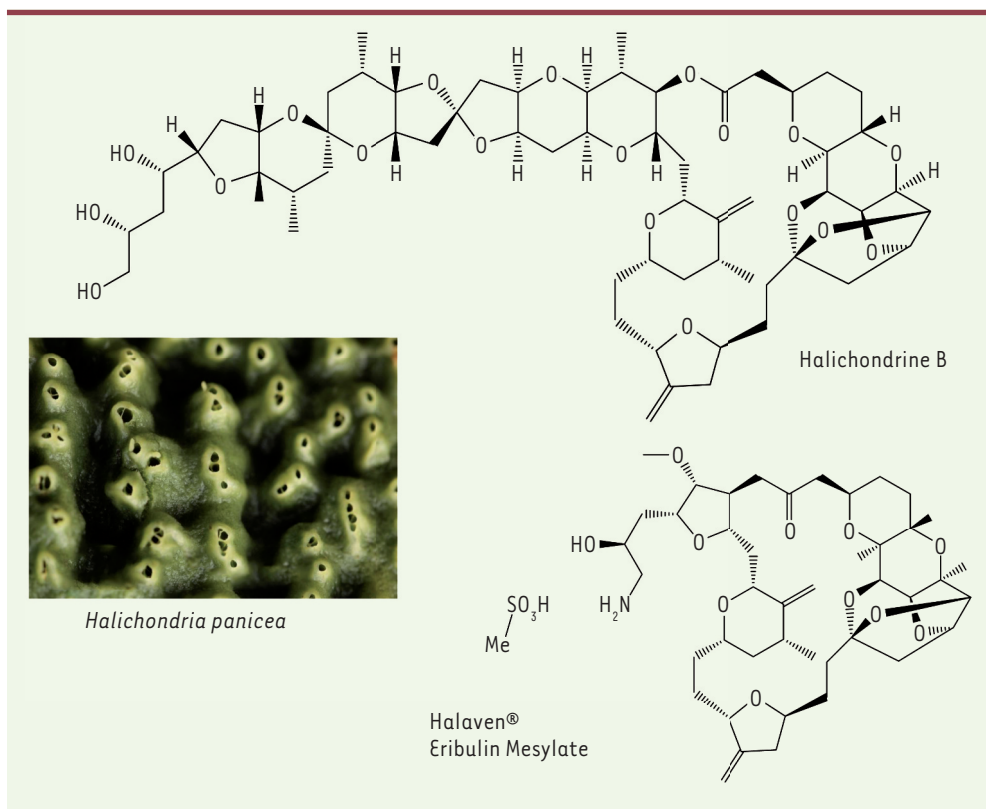


Figure 5. Structure de l'Halichondrine B. Cette molécule est extraite de l'éponge *Halichondria okadai* (à gauche, photographie d'*Halichondria panicea*) (Halichondriidae), et de son dérivé utilisé en clinique, Halaven® (Eribulin mésylate) (© photographie : David Fenwick ; <http://www.aphotomarine.com/>).

Les spongistatines

Une récolte de 400 kg de *Spongia sp.*, une éponge de la famille des Spongiidae, faite aux Maldives en 1988, permet à G.R. Pettit de purifier 13,8 mg d'un nouveau composé, la spongistatine 1, très actif sur les lignées de cellules tumorales [33] (Figure 6). D'autres composés très

Les céphalostatines

En 1972, G.R. Pettit récolte *Cephalodiscus gilchristi*, un hémicordé marin de la famille des Cephalodiscidae, sur la côte sud-est de l'Afrique. Stimulé par la forte activité antitumorale des extraits de cet organisme, G.R. Pettit parvient, en 1988, à purifier et à identifier la première molécule active, la céphalostatine 1 (Figure 6), dont la structure sera déterminée après cristallisation [28]. La céphalostatine 1 est le premier membre d'une famille de 19 céphalostatines. Les ritterazines, structurellement proches des céphalostatines, sont découvertes par N. Fusetani de 1994 à 1997, chez l'ascidie *Ritterella tokioka* [29].

En 1998, P.L. Fuchs réussit la première synthèse totale de la céphalostatine 1 en 65 étapes, et celle des céphalostatines 7 et 12 et de la ritterazine K [30]. Les très faibles quantités produites et les rendements très faibles (2 mg de céphalostatine 1 avec un rendement de 0.00001 %) ne permettent pas d'envisager des tests biologiques à un coût raisonnable. La synthèse totale, réalisée par M.D. Shair en 2010, offre une nouvelle approche pour une production à plus grande échelle [31].

La céphalostatine 1 est efficace dans plusieurs modèles de xéno-greffes de mélanomes, sarcomes, leucémies et carcinomes mammaires humains. A.M. Vollmar et son groupe découvrent en 2008 que la céphalostatine 1 induit l'apoptose par une voie de signalisation indépendante du cytochrome c, impliquant l'activation de la caspase 9 sans formation d'un apoptosome (complexe formé par le cytochrome c, la procaspase 9 et le facteur cytosolique Apaf-1) [32].

similaires seront découverts simultanément, mais de manière indépendante, les altohyrtines issues de *Hyrtilios altum*, par I. Kitagawa [34], et les cinachyrolides issues de *Cinachyra sp.*, par N. Fusetani [35]. G.R. Pettit détermine la structure de huit autres spongistatines entre 1993 et 1994 [36].

La configuration absolue de la spongistatine 1, initialement déduite par G.R. Pettit, est confirmée en 1998 par Y. Kishi après synthèse totale [37, 38]. En 2005, M. Ball réduit le nombre d'étapes de la synthèse totale de la spongistatine 1 de 65 à 46 [39], et, en 2008, le protocole de synthèse totale établi par A.B. Smith III permet d'atteindre le gramme [40].

Les spongistatines agissent *via* une inhibition de l'assemblage des microtubules. Elles se lient sur un site unique du dimère de tubuline (distinct du site de liaison des vinca-alcaloïdes), conduisant à l'inhibition de la polymérisation de la tubuline [41].

La spongistatine 1 est le composé le plus actif de la famille sur le panel des 60 lignées cellulaires cancéreuses humaines du NCI et sur les cellules chimiorésistantes. À de faibles concentrations, elle a montré des effets antitumoraux *in vitro* sur des cellules de mélanome humain et *in vivo* sur des xéno-greffes de tumeurs ovariennes, sans toxicité apparente [42]. Le très faible rendement d'extraction et la synthèse très complexe ne permettent pas d'envisager actuellement

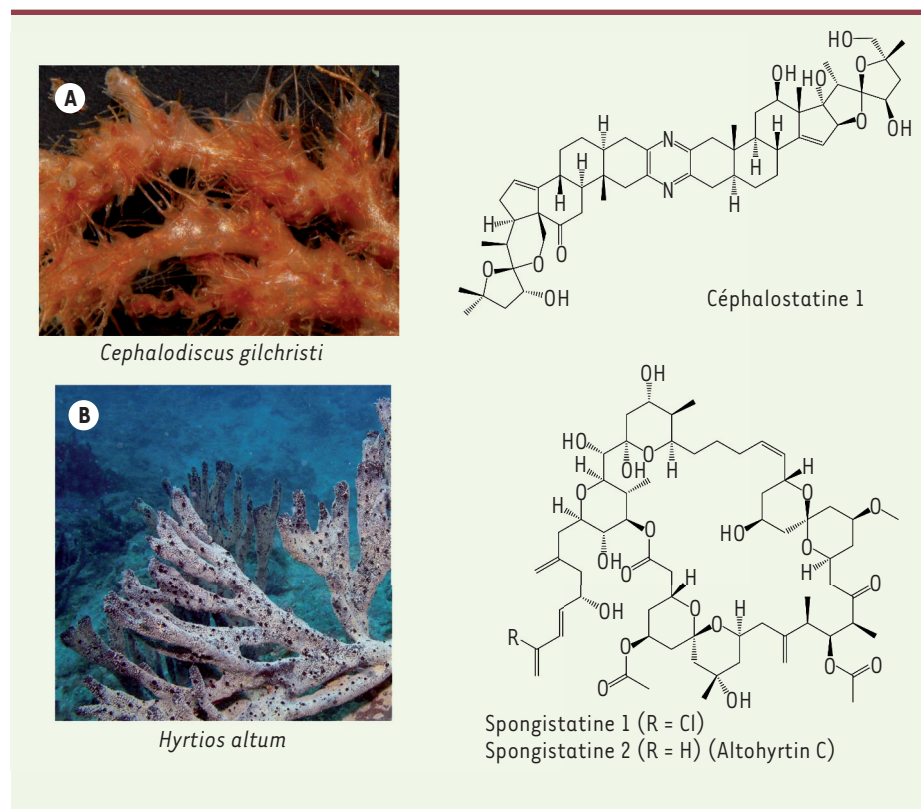


Figure 6. Structure de la Céphalostatine 1 (A) et des Spongistatines 1 et 2 (B). A. La céphalostatine est extraite du ver Hémicordé *Cephalodiscus gilchristi* (Cephalodiscidae). (Photographie : Chris Cameron, groupe de biologie intégrative, sciences biologiques, Université de Montréal). B. La Spongistatine 1 a été extraite de *Spongia* sp. (Spongiidae) et la spongistatine 2 (Altohyrtine C) de *Hyrtios altum* (Thorectidae) (© photographie : David Burdick ; <http://guamreeflife.com>).

logues, dont trois sont en phase d'essais cliniques, et onze en développement préclinique [47, 48]. En 1998, quatre essais cliniques ont débuté pour le CA4-P, et des essais en phases I, Ib, I/II, et II ont continué jusqu'en 2007. Les données précliniques pour le CA4-P indiquent qu'il induit une réduction significative du flux

de développements cliniques. L'optimisation récente de la synthèse totale de la spongistatine 1 devrait lui permettre de continuer son parcours [40].

Les composés issus de plantes

Les combrétastatines

À la suite de récoltes en Afrique du Sud en janvier 1979, pour le programme de recherche du NCI-USDA, G.R. Pettit s'intéresse aux composés présents dans l'écorce de *Combretum caffrum*, un arbuste de la famille des *Combretaceae*. Il y découvre les combrétastatines dont la structure moléculaire est déterminée en 1982 [43].

La première synthèse d'un mélange racémique de combrétastatines est réalisée par C.S. Annapurna en 1983 [44]. La synthèse totale de la molécule naturelle est réalisée par G.R. Pettit en 1985 [45].

Les combrétastatines sont caractérisées par une activité biologique remarquable d'inhibition de la polymérisation de la tubuline. La molécule la plus puissante est la combrétastatine A4 (CA4), mais sa solubilité limitée en milieu aqueux conduit à la synthèse d'un dérivé plus soluble, la combrétastatine A4 phosphate (CA4-P) (Figure 7) [46]. Cette molécule possède une action spécifique sur les vaisseaux sanguins irriguant les tumeurs. Elle provoque une diminution importante du débit sanguin au niveau de la tumeur dont elle induit la nécrose [47, 48].

Le CA4-P a fait l'objet d'essais cliniques de phase II et est actuellement évaluée dans le traitement du cancer de la thyroïde. Les combrétastatines servent de modèles pour la synthèse de nombreux ana-

sanguins dans les tumeurs et une nécrose tumorale, mais suggèrent l'intérêt de sa combinaison avec d'autres médicaments anticancéreux ou avec la radiothérapie. En juillet 2003, la FDA accorde le statut de médicament orphelin au CA4-P pour le traitement du cancer anaplasique avancé de la thyroïde et le cancer médullaire de la thyroïde. En mai 2006, le CA4-P est aussi approuvé pour le traitement du cancer de l'ovaire en combinaison avec le carboplatine et le paclitaxel. Fin 2007, le CA4-P (sous le nom de Zybrestat) a bénéficié d'une procédure d'approbation accélérée par la FDA dans les cancers de la thyroïde résistants aux traitements classiques. Le Zybrestat est le premier agent d'interruption vasculaire (*vascular disrupting agent*) d'origine naturelle à être approuvé [47, 48].

Au cours du premier essai clinique de phase II de la CA4-P chez 23 patients atteints de dégénérescence maculaire myopique (DMM) en 2007, une stabilisation de la vision a été observée. La DMM et la dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA) sont des maladies oculaires progressives, liées à une croissance anormale des vaisseaux sanguins de la choroïde qui infiltrent la rétine, conduisant à terme à la cécité. D'autres essais sont envisagés dans d'autres maladies oculaires faisant intervenir aussi une néovascularisation, comme la rétinopathie diabétique et le rétinoblastome [49].

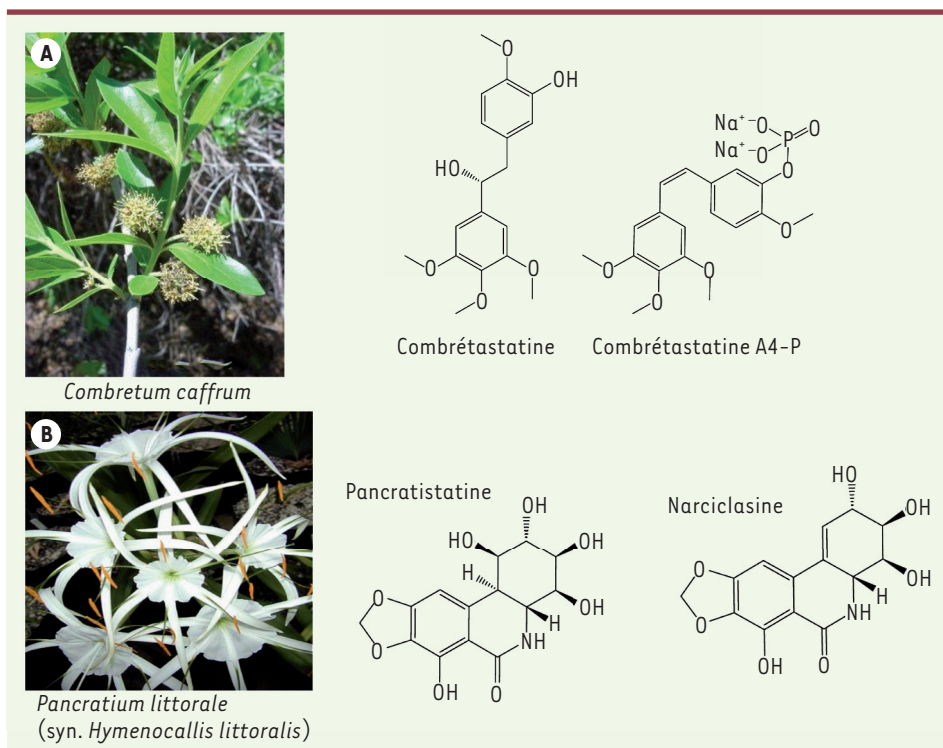


Figure 7. Structure de la Combrétastatine (A) et de la Pancratistatine (B). A. La Combrétastatine est extraite de *Combretum caffrum* (Combretaceae) (à gauche), et de son dérivé utilisé en clinique, Combrétastatine A4-Phosphate (Zybrestat®). (Photographie : <http://www.bellenews.com/wp-content/uploads/2011/09/Combretum-caffrum.jpg>). La Pancratistatine est extraite de *Hymenocallis littoralis* (syn. *Pancreatum littorale*) (Amaryllidaceae) (© photographie : Bill Dijk ; http://www.bulbsociety.org/GALLERY_OF_THE_WORLDS_BULBS/GRAPHS/Hymenocallis/Hymenocallis_littoralis/littoralis2.jpg).

La pancratistatine

Hymenocallis littoralis (*Pancreatum littorale*), une plante à fleur de la famille des Amaryllidaceae, est sélectionnée en raison de sa bioactivité par le programme de recherche de substances naturelles du NCI. Des extraits de bulbes d'*H. littoralis*, récoltés en 1980 à Hawaii, permettent à G.R. Pettit d'identifier, en 1984, un nouvel isocarbostyril actif, la pancratistatine [50], remarquablement proche de la narciclasine [51] (Figure 7).

La première synthèse totale de pancratistatine est réalisée en 1989 par S.J. Danishefsky et J.Y. Lee [52]. D'autres suivront, diminuant le nombre d'étapes, améliorant le rendement et ouvrant de bonnes perspectives pour le développement clinique.

Dans les cellules cancéreuses, la pancratistatine semble agir directement sur la mitochondrie : on y observe ainsi une augmentation de la quantité de ROS (*reactive oxygen species*), contrairement aux cellules normales, qui semble liée à un dysfonctionnement mitochondrial, mais dont le mécanisme est encore mal défini [53].

Les premières évaluations de l'activité de cette molécule dans des lignées tumorales (cellules leucémiques lymphocytiques P-388 murines et sarcomes ovariens M-5076) révèlent une forte inhibition de la prolifération tumorale *in vivo*. En 2006, une culture extensive d'*H. littoralis* et la récolte de 160 000 bulbes par des volontaires d'une prison proche de Phoenix permettront à G.R. Pettit d'obtenir des quantités suffisantes de pancratistatine pour effectuer des tests cliniques. Entre 2007 et 2010, de nombreuses études biologiques ciblées révèlent la diversité d'action de ce composé, dont celle sur la vascularisation tumorale (inhibition complète après seulement 2 h de traitement) [54].

Conclusion

Les travaux considérables réalisés par G.R. Pettit et son équipe ont permis de renforcer l'arsenal thérapeutique anticancéreux avec des molécules d'origine marine et terrestre. Comme Pierre Potier [55], George R. Pettit s'est heurté aux difficultés de développement des substances naturelles liées aux problèmes d'approvisionnement. La ténacité de ces chercheurs, la cohésion de leurs équipes et les moyens mis à leur disposition ont permis de surmonter ces écueils majeurs. Tout au long de sa carrière G.R. Pettit a récolté des milliers d'espèces marines ou terrestres, accumulé plus de 14 000 extraits et séparé près de 300 000 fractions. G.R. Pettit a su allier recherche de financements et valorisation des résultats pour permettre la poursuite de nombreux projets prometteurs, dans un cadre académique parfois peu propice au développement de candidats médicaments. Tenace et passionné, G.R. Pettit poursuit toujours ses travaux à plus de 84 ans ! ♦

SUMMARY

Search for natural substances with therapeutic activity: George R. Pettit

This series of brief reviews covers the "life and work" of famous and iconic researchers who discovered major therapeutics from natural products: their life history, the circumstances of their discoveries, the molecules and their molecular, cellular and physiological mecha-

nisms of action, and their biomedical applications. Dedicated to George R. Pettit, the second article reviews the life of the famous researcher, his worldwide exploration of natural products, especially of marine origin, in search of promising anticancer leads, his discovery and structural elucidation of very potent drug candidates, their synthesis and the launch of some of them on the pharmaceutical market. An extraordinary scientific career which led George R. Pettit from exploration of Nature to state-of-the-art analytical and synthetic chemistry and from clinical trials to therapeutic successes.



LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

REMERCIEMENTS

Ce travail fait partie des thèses de Pierre Da Silva (codirection : Laurent Meijer et Blaise Touzard) et de Lyamin Bendjeddou (codirection : Hervé Galons, Nassima Oumata et Laurent Meijer). Ce travail est financé en partie par l'Association JPAC (Jardin de plantes anticancéreuses), le Cancéropôle Grand-Ouest, la Ligue nationale contre le cancer (Comité Grand-Ouest), le EEC FP7 grant BlueGenics et l'Institut national contre le cancer (INCa) GLIOMER et CCCDK8 (LM). Lyamin Bendjeddou est bénéficiaire d'une bourse CIFRE. Nous remercions David Burdick, Chris Cameron, Bill Dijk, David Fenwick, Peter J. Kiss, Kevin Lee, Tim Trumble et David Witherall pour les photographies. Nous remercions également Marie-Lise Bourguet et Hervé Galons pour la relecture de cet article.

RÉFÉRENCES

- Cragg GM, Boyd MR, Cardellina II JH, et al. Role of plants in the National Cancer Institute drug discovery and development program. In : Kinghorn AD, Balandrin MF, eds. *Human medicinal agents from plants*, chapter 7. ACS Symposium Series 534, 1993.
- Storad CJ. Cures from the deep. *Arizona State* 1990 ; 22-6.
- Chapman AD. *Numbers of living species in Australia and the world*, 2nd ed. Canberra, Australia : Report for the Australian Biological Resources Study, 2009 : 84 p.
- Newman DJ, Cragg GM. Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. *J Nat Prod* 2012 ; 75 : 311-35.
- Abraham I, El Sayed K, Chen ZS, Guo H. Current status on marine products with reversal effect on cancer multidrug resistance. *Mar Drugs* 2012 ; 10 : 2312-21.
- Pettit GR, Hartwell JL, Wood HB. Arthropod antineoplastic agents. *Cancer Res* 1968 ; 28 : 2168-9.
- Pettit GR, Day JF, Hartwell JL, Wood HB. Antineoplastic components of marine animals. *Nature* 1970 ; 227 : 962-3.
- Pettit GR. Arizona State University Cancer Research Institute. In : *The American Society of Pharmacognosy, 50 years of progress in natural products research 1959-2009*. Madison WI : Omnipress, 2009 : 107-8.
- Pettit GR, Herald CL, Doubek DL, et al. Isolation and structure of bryostatin 1. *J Am Chem Soc* 1982 ; 104 : 6846-8.
- Halford B. The Bryostatins' tale. *Chem Eng News* 2011 ; 89 : 10-7.
- Trindade-Silva AE, Lim-Fong GE, Sharp KH, Haygood MG. Bryostatins: biological context and biotechnological prospects. *Curr Opin Biotech* 2010 ; 21 : 834-42.
- Keck GE, Poudel YB, Cummins TJ, et al. Total synthesis of bryostatin 1. *J Am Chem Soc* 2011 ; 133 : 744-7.
- Haygood MG, Davidson SK. Small-subunit rRNA genes and *in situ* hybridization with oligonucleotides specific for the bacterial symbionts in the larvae of the bryozoan *Bugula neritina* and proposal of *Candidatus Endobugula sertula*. *Appl Environ Microbiol* 1997 ; 63 : 4612-6.
- Hongpaisan J, Sun MK, Alkon DL. PKC α activation prevents synaptic loss, A β elevation, and cognitive deficits in Alzheimer's disease transgenic mice. *J Neurosci* 2011 ; 31 : 630-43.
- Beans EJ, Fournogerakis D, Gauntlett C, et al. Highly potent, synthetically accessible prostratin analogs induce latent HIV expression *in vitro* and *ex vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013 ; 110 : 11698-703.
- Pettit GR, Kamano Y, Herald CL, et al. The isolation and structure of a remarkable marine animal antineoplastic constituent: dolastatin 10. *J Am Chem Soc* 1987 ; 109 : 6883-5.
- Pettit GR, Singh SB, Hogan F, et al. Antineoplastic agents. Part 189. The absolute configuration and synthesis of natural (-)-dolastatin 10. *J Am Chem Soc* 1989 ; 111 : 5463-5.
- Pettit GR. Progress in the discovery of biosynthetic anticancer drugs. *J Nat Prod* 1996 ; 59 : 812-21.
- Pettit GR. The Dolastatins. In : *The American Society of Pharmacognosy, 50 years of progress in natural products research 1959-2009*. Madison WI : Omnipress, 2009 : 224-6.
- Pettit GR, Herald CL, Boyd MR, et al. Isolation and structure of the cell growth inhibitory constituents from the western Pacific marine sponge *Axinella* sp. *J Med Chem* 1991 ; 34 : 3339-40.
- Hirata Y, Uemura D. Halichondrins: antitumor polyether macrolides from a marine sponge. *Pure Appl Chem* 1986 ; 58 : 701-10.
- Pettit GR, Tan R, Gao F, et al. Isolation and structure of halistatin 1 from the eastern Indian Ocean marine sponge *Phakellia carteri*. *J Org Chem* 1993 ; 58 : 2538-43.
- Litaudon M, Hart JB, Blunt JW. Isohomohalichondrin B, a new antitumor polyether macrolide from the New Zealand deep-water sponge *Lissodendoryx* sp. *Tetrahedron Lett* 1994 ; 35 : 9435-8.
- Aicher TD, Buszek KR, Fang FG, et al. Total synthesis of halichondrin B and norhalichondrin B. *J Am Chem Soc* 1992 ; 114 : 3162-4.
- Munro HGM, Blunt JW, Dumdei EJ, et al. The discovery and development of marine compounds with pharmaceutical potential. *J Biotechnol* 1999 ; 70 : 15-25.
- Bai R, Nguyen TL, Burnett JC, et al. Interactions of halichondrin B and eribulin with tubulin. *J Chem Inf Model* 2011 ; 51 : 1393-404.
- Twelves C, Cortes J, Vahdat LT, et al. Phase III trials of eribulin mesylate (E7389) in extensively pretreated patients with locally recurrent or metastatic breast cancer. *Clin Breast Cancer* 2010 ; 10 : 160-3.
- Pettit GR, Inoue M, Kamano Y, et al. Isolation and structure of the powerful cell growth inhibitor cephalostatin 1. *J Am Chem Soc* 1988 ; 110 : 2006-7.
- Fukuzawa S, Matsunaga S, Fusetani N. Isolation of 13 new ritterazines from the tunicate *Ritterella tokioka* and chemical transformation of ritterazine B. *J Org Chem* 1997 ; 62 : 4484.
- LaCour TG, Guo C, Bhandaru S, et al. Interphylal product splicing: the first total syntheses of cephalostatin 1, the north hemisphere of ritterazine G, and the highly active hybrid analogue, Ritterostatin Gn1n. *J Am Chem Soc* 1998 ; 120 : 692-707.
- Fortner KC, Kato D, Tanaka Y, Shair MD. Enantioselective synthesis of (+)-cephalostatin 1. *J Am Chem Soc* 2010 ; 132 : 275-80.
- Rudy A, Lopez-Anton N, Dirsch VM, Vollmar AM. The cephalostatin way of apoptosis. *J Nat Prod* 2008 ; 71 : 482-6.
- Pettit GR, Cichacz ZA, Gao F, et al. Isolation and structure of spongistatin 1. *J Org Chem* 1993 ; 58 : 1302-4.
- Kobayashi M, Aoki S, Sakai H, et al. Althoyrtin A, a potent anti-tumor macrolide from the Okinawan marine sponge *Hyrtios altum*. *Tetrahedron Lett* 1993 ; 34 : 2795-8.
- Fusetani N, Shinoda K, Matsunaga S. Bioactive marine metabolites. 48. Cinachryolide A: a potent cytotoxic macrolide possessing two spiro ketals from marine sponge *Cinachrya* sp. *J Am Chem Soc* 1993 ; 115 : 3977-81.
- Bai R, Taylor GF, Cichacz ZA, et al. The spongistatins, potent cytotoxic inhibitors of tubulin polymerization, bind in a distinct region of the vinca domain. *Biochemistry* 1995 ; 34 : 9714-21.
- Guo J, Duffy KJ, Stevens KL, et al. Total synthesis of althoyrtin A (spongistatin 1): part 1. *Angewandte Chemie International Edition* 1998 ; 37 : 187-90.
- Hayward MM, Roth RM, Duffy KJ, et al. Total synthesis of althoyrtin A (spongistatin 1) : part 2. *Angewandte Chemie International Edition* 1998 ; 37 : 190-6.
- Ball M, Gaunt MJ, Hook DF, et al. Total synthesis of spongistatin 1: a synthetic strategy exploiting its latent pseudo-symmetry. *Angew Chem Int Ed* 2005 ; 44 : 5433-8.
- Smith AB III, Tomioka T, Risatti CA, et al. Gram-scale synthesis of (+)-spongistatin 1: development of an improved, scalable synthesis of the F-ring subunit, fragment union, and final elaboration. *Org Lett* 2008 ; 10 : 4359-62.
- Qi Y, Ma S. The medicinal potential of promising marine macrolides with anticancer activity. *Chem Med Chem* 2011 ; 6 : 399-409.
- Xu Q, Huang KC, Tendyke K, et al. *In vitro* and *in vivo* anticancer activity of (+)-spongistatin 1. *Anticancer Res* 2011 ; 31 : 2773-9.
- Pettit GR, Cragg GM, Herald DL, et al. Isolation and structure of combretastatin. *Can J Chem* 1982 ; 60 : 1374.



RÉFÉRENCES

44. Annapurna GS, Deshpande VH. Synthesis of (±) combretastatin. *Synth Commun* 1983 ; 13 : 1075-82.
45. Pettit GR, Singh SB, Cragg GM. Antineoplastic agents. 113. Synthesis of natural (-)-combretastatin. *J Org Chem* 1985 ; 50 : 3404-6.
46. Pettit GR, Temple CJR, Nnarayanan VL, et al. Antineoplastic agent 322. Synthesis of combretastatin A-4 prodrugs. *Anticancer Drug Des* 1995 ; 10 : 299-309.
47. Pettit GR, Pinney KG. The Combretastatins. In : *The American Society of Pharmacognosy, 50 years of progress in natural products research 1959-2009*. Madison WI : Omnipress, 2009 : 217-9.
48. Siemann DW, Chaplin DJ, Walicke PA. A review and update of the current status of the vasculature-disabling agent combretastatin-A4 phosphate (CA4P). *Expert Opin Investig Drugs* 2009 ; 18 : 189-97.
49. Ibrahim MA, Do DV, Sepah YJ, et al. Vascular disrupting agent for neovascular age related macular degeneration: a pilot study of the safety and efficacy of intravenous combretastatin A-4 phosphate. *BMC Pharmacol Toxicol* 2013 ; 14 : 7.
50. Pettit GR, Gaddamidi V, Cragg GM, et al. Isolation and structure of pancratistatin. *J Chem Soc Chem Commun* 1984 ; 1693-4.
51. Ceriotti G. Narciclasine: an antimitotic substance from Narcissus bulbs. *Nature* 1967 ; 213 : 595-6.
52. Danishefsky SJ, Lee JY. Total synthesis of (+)-Pancratistatin. *J Am Chem Soc* 1989 ; 111 : 4829-37.
53. McLachlan A, Kekre N, McNulty J, Pandey S. Pancratistatin: a natural anti-cancer compound that targets mitochondria specifically in cancer cells to induce apoptosis. *Apoptosis* 2005 ; 10 : 619-30.
54. Griffin C, Hamm C, McNulty J, Pandey S. Pancratistatin induces apoptosis in clinical leukemia samples with minimal effect on non-cancerous peripheral blood mononuclear cells. *Cancer Cell Int* 2010 ; 10 : 6.
55. Da Silva PPJ, Meijer L. Recherche de substances naturelles à activité thérapeutique. Pierre Potier (1934-2006). *Med Sci (Paris)* 2012 ; 28 : 534-42.

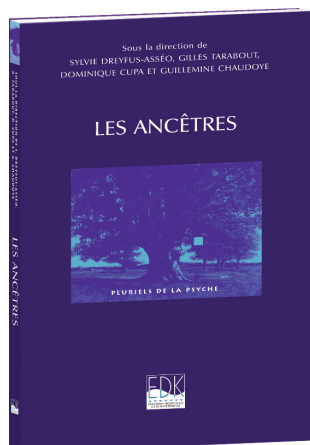
TIRÉS À PART

L. Meijer

LES ANCÊTRES

Sous la direction de

S. Dreyfus-Asséo, G. Tarabout, D. Cupa et G. Chaudoye



Prix : 17 €

Croisant leurs regards sur la question des Ancêtres, des psychanalystes et des anthropologues ont choisi de mener une réflexion commune autour de la transmission, de la filiation, de l'ancestralité et des processus d'ancestralisation.

Représentant d'une histoire individuelle, l'Ancêtre s'inscrit aussi dans une histoire collective, en tant que repère dans la filiation et contenant de la différence des générations. Point d'ancrage des processus d'identification, ni ombre, ni fantôme, l'Ancêtre se distingue du mort. Mort « revitalisé », il signe la capacité du sujet à investir sa propre histoire, à se l'approprier et à la partager. Loin d'être neutre et uniforme, l'ancestralité est une notion qui, de par les différences entre les sociétés, ouvre à une diversification des représentations, des croyances et des rituels. Idéal ou force de vie, relique ou fabriqué, l'Ancêtre ne peut se résumer à la question des origines et n'est pas seulement un héritage : il est le maillon d'un système dans lequel s'inscrit l'humain, il est ce « nouveau » issu d'un processus d'ancestralisation.

Titre : **Les Ancêtres**
Auteurs : Collectif
Collection : Pluriels de la Psyché
ISBN : 978-2-8425-4165-1



Ouvrage disponible sur :
www.edition-sciences.com



Tarifs d'abonnement **m/s** - 2014

Abonnez-vous

à médecine/sciences

> Grâce à **m/s**, vivez en direct
les progrès des sciences biologiques
et médicales



Bulletin d'abonnement
page 334 dans ce numéro de **m/s**

