

ACADÉMIE D'ORLÉANS-TOURS

UNIVERSITÉ DE TOURS

FACULTE DE PHARMACIE « Philippe-Maupas »

Année 2025-2026

N° 115

THÈSE D'EXERCICE

pour le

DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Par

Justine Marseau

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 15/12/2025

Sujet : « L'Histoire des découvertes de molécules aux propriétés anticancéreuses à travers quatre plantes : *Catharanthus roseus*, *Taxus sp.*, *Podophyllum peltatum* et *Camptotheca acuminata*. »

JURY

Président : Monsieur Clastre Marc, Professeur de la faculté de pharmacie de Tours-HDR,
UFR Pharmacie-Tours

Membres :

Monsieur Vitale Adrien, Docteur en pharmacie, Pharmacie des Pijolins – Bourges

Madame Birer-Williams Caroline, Maître de Conférences, UFR Pharmacie-Tours

ANNEE : 2025 - 2026

Directeur : Pr Denys BRAND

Directeur Adjoint : M. Matthieu JUSTE

Assesseurs : M. Gildas PRIE, Mme Amélie FOUCAULT, Mme Emilie ALLARD-VANNIER, M. Bruno GIRAUDEAU, Mme Claire POUPLARD, Mme Audrey OUDIN, Mme GERMON Stéphanie

ENSEIGNANTS

18 PROFESSEURS D'UNIVERSITÉ

ALLARD-VANNIER	Emilie	PHARMACIE GALENIQUE
ALLOUCHI	Hassan	CHIMIE PHYSIQUE
BOUDESOCQUE-DELAYE	Leslie	PHARMACOGNOSIE
BRAND	Denys	MICROBIOLOGIE
BRAIBANT	Martine	MICROBIOLOGIE
CHEVALIER	Stéphane	BIOCHIMIE GENERALE & BIOTHERAPIE
CHOURPA	Igor	CHIMIE ANALYTIQUE
CLASTRE	Marc	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
DENEVAULT	Caroline	CHIMIE THERAPEUTIQUE
DIMIER-POISSON	Isabelle	PARASITOLOGIE & MYCOLOGIE MEDICALES, IMMUNITE ANTI-
DUMAS	Jean-François	BIOCHIMIE GENERALE ET BIOTHERAPIE
ENGUEHARD-GUEIFFIER	Cécile	CHIMIE THERAPEUTIQUE
MAHEO	Karine	PHYSIOLOGIE
MAUPOIL-DAVID	Veronique	PHARMACOLOGIE
MUNNIER	Émilie	PHARMACIE GALENIQUE
TAUBER	Clovis	BIOPHYSIQUE & BIOINFORMATIQUE
VELGE-ROUSSEL	Florence	IMMUNOLOGIE PARASITAIRE
VIAUD-MASSUARD	Marie-Claude	CHIMIE ORGANIQUE

6 PROFESSEURS D'UNIVERSITÉ ET PRATICIENS HOSPITALIERS

ANTIER	Daniel	PHARMACIE CLINIQUE
ARLICOT	Nicolas	BIOPHYSIQUE & BIOINFORMATIQUE
EMOND	Patrick	BIOPHYSIQUE & BIOINFORMATIQUE
GIRAUDEAU	Bruno	SANTÉ PUBLIQUE, BIostatistique & ÉPIDÉMIOLOGIE
LANOTTE	Philippe	MICROBIOLOGIE
POUPLARD	Claire	HEMATOLOGIE

2 PROFESSEURS ÉMERITES

BARIN	Francis	MICROBIOLOGIE
THIBAUT	Gilles	IMMUNOLOGIE

31 MAITRES DE CONFÉRENCES

AUBREY	Nicolas	BIOCHIMIE GENERALE & BIOTHERAPIE
BESSON	Pierre	PHYSIOLOGIE
BIRER-WILLIAMS	Caroline	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
BONNIER (disponibilité)	Franck	CHIMIE ANALYTIQUE
BORDY	Romain	PHARMACOLOGIE & TOXICOLOGIE
BREDELOUX	Pierre	PHARMACOLOGIE
DAVID	Stéphanie	PHARMACIE GALENIQUE
DEBIERRE-GROCKIEGO	Françoise	PARASITOLOGIE & MYCOLOGIE MEDICALES, IMMUNITE ANTI-
DELAYE	Pierre-Olivier	CHIMIE THERAPEUTIQUE
DOUZIECH-EYROLLES	Laurence	AFFAIRE REGLEMENTAIRE ET MANAGEMENT DE LA QUALITE

GERMON	Stéphanie	PARASITOLOGIE & MYCOLOGIE MEDICALES, IMMUNITE ANTI-
GLEVAREC	Gaëlle	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
HERVE-AUBERT	Katel	CHIMIE ANALYTIQUE
JUSTE	Matthieu	PARASITOLOGIE & MYCOLOGIE MEDICALES, IMMUNITE ANTI-
LAJOIE	Laurie	IMMUNOLOGIE
LANNOY	Damien	GALENIQUE
LANOUE	Arnaud	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
MARC	Jillian	BIOMOLECULES ET BIOTECHNOLOGIES VEGETALES
MAVEL	Sylvie	CHIMIE THERAPEUTIQUE
LOUDIN	Audrey	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
POUPET	Cyril	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
PASQUALIN	Côme	PHARMACOLOGIE
PRIE	Gildas	CHIMIE ORGANIQUE
SAHLI	Ramla	PHARMACOGNOSIE
SIEROCKI	Pierre	CHIMIE ORGANIQUE
SOUCE	Martin	CHIMIE ANALYTIQUE
VERCOUILLIE	Johnny	BIOPHYSIQUE & BIOINFORMATIQUE
VERGER	Alexis	PHARMACIE GALENIQUE
VERGOTE	Jackie	AFFAIRE REGLEMENTAIRE ET MANAGEMENT DE LA QUALITE
VIERRON	Emilie	SANTÉ PUBLIQUE, BIostatistique & ÉPIDÉMIologie
ZHANG	Bei-Li	PHARMACOLOGIE

1 MAST

CAMUS GABRIEL	Mathilde	<i>Filière Officine</i>
---------------	----------	-------------------------

1 EAST

CHOTTIN	Emilie	<i>Pharmacologie</i>
SENECHAL	Olivier	<i>Pharmacologie</i>

5 MAITRES DE CONFÉRENCES ET PRATICIENS HOSPITALIERS

FOUCAULT-FRUCHARD	Laura	PHARMACIE CLINIQUE
FOUCAULT	Amélie	HEMATOLOGIE
MARLET	Julien	MICROBIOLOGIE
POUPIN	Pierre	SANTÉ PUBLIQUE, BIostatistique & ÉPIDÉMIologie
VEYRAT DUREBEX	Charlotte	BIOCHIMIE CLINIQUE

3 AHU (Assistant Hospitalier Universitaire)

BOULARD	Pierre	IMMUNOLOGIE
DOUEZ	Emmanuel	PHARMACIE GALENIQUE
TULOU	Vianney	PHARMACIE CLINIQUE

2 ATER

DUSSART	Romain	CHIMIE ANALYTIQUE
PIATELLI	Emma	MICROBIOLOGIE - BACTERIOLOGIE

1 PRAG

WALTERS-GALOPIN	Susan	ANGLAIS
-----------------	-------	---------

1 CONTRAT D'ENSEIGNEMENT

THIERNEY	Mégane	ANGLAIS
----------	--------	---------

3 CHARGÉS DE RECHERCHE

**EPARDAUD
MEVELEC
MOIRE**

Mathieu	INRAE
Marie-Noëlle	INRAE
Nathalie	INRAE



SERMENT DE GALIEN

En présence des Maitres de la Faculté, je fais le serment :

D'honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle aux principes qui m'ont été enseignés et d'actualiser mes connaissances ;

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de Déontologie, de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers la personne humaine et sa dignité ;

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels ;

De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession ;

De faire preuve de loyauté et de solidarité envers mes collègues pharmaciens ;

De coopérer avec les autres professionnels de santé ;

Que les Hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert(e) d'opprobre et méprisé(e) de mes confrères si j'y manque.

Date : 15/12/25 Marseau Justine

L'étudiant

Le Doyen de la Faculté
Professeur Denys BRAND

Remerciements

A mon jury de thèse :

A madame Caroline Birer-Williams, maître de conférences à la faculté de pharmacie de Tours, merci d'avoir accepté de m'encadrer pour la réalisation de cette thèse. Je vous remercie pour vos conseils, votre bienveillance et votre disponibilité.

A monsieur Marc Clastre, professeur à la faculté de pharmacie de Tours, je vous remercie d'avoir accepté de présider mon jury de thèse et de votre aide au travers des ressources que vous m'avez gentiment prêtées.

A monsieur Adrien Vitale, docteur en pharmacie, tous mes remerciements pour votre accompagnement avec bienveillance tout au long de mes études et pour votre participation au jury de ma thèse. Vous m'avez fait confiance dès la 2A et vous m'avez donné de précieux conseils qui me suivront tout au long de ma carrière.

A ma famille :

A mes parents qui m'ont soutenue tout au long de mes études et qui sont toujours de bons conseils. Je vous remercie pour votre patience, votre amour et votre dévouement pour vos enfants.

A ma sœur, Clémence (Mousse), je te remercie pour ton soutien, tes petites cartes en PACES qui me donnaient de la force pour poursuivre mon objectif et pour notre complicité.

A ma mamie chérie, Francine, je te remercie pour tes bougies que tu allumais avant chacun de mes examens. Et à mon papy, Jean-Luc, j'espère que tu es fier de moi de là où tu es.

A Emma, mon premier soutien, pour sa présence et son aide sans faille pendant toutes ces années.

A l'ensemble de ma famille, je vous remercie pour votre bienveillance et votre soutien tout au long de mes études.

A mes amis :

A tous mes amis de Pharma, je vous remercie pour votre amitié, pour votre soutien lors des difficultés et pour tout ce que l'on a partagé au fil de ces années d'études.

A Laure, Chach et Loulou, merci pour ces belles années passées avec vous depuis la 2A. Vous avez su les illuminer et les rendre toujours meilleures.

A Coline, Candice et Julie, mes amies de longue date, nous avons grandi ensemble sans jamais laisser le temps et la distance nous séparer. Je vous remercie pour votre amitié et votre soutien indéfectible.

I.	Introduction	12
II.	<i>Catharanthus roseus</i>	13
1)	Description de <i>Catharanthus roseus</i>	13
a)	Taxonomie	13
b)	Morphologie	14
c)	Distribution géographique	16
2)	Ethnopharmacologie	16
3)	Histoire de la découverte	17
a)	Les prémices de la découverte	17
b)	Identification des alcaloïdes actifs de la Pervenche de Madagascar	18
c)	Découverte du mécanisme d'action de la vinblastine et de ses dérivés	22
d)	Commercialisation de la vinblastine, vincristine et vindésine	23
e)	L'anhydrovinblastine : un intermédiaire de choix	24
f)	Découverte de la Navelbine	28
g)	Découverte de la vinflunine	32
4)	Indications	34
III.	<i>Taxus baccata</i> et <i>Taxus brevifolia</i>	36
1)	Description de <i>Taxus baccata</i> et <i>Taxus brevifolia</i>	36
a)	Taxonomie	36
b)	Morphologie	36
c)	Distribution géographique	39
2)	Ethnopharmacologie	41
3)	Histoire de la découverte	43
a)	La découverte du taxol	43
b)	Détermination du mécanisme d'action du taxol	45
c)	<i>Taxus baccata</i> et le 10-DAB III	47
d)	Développement du Taxotère®	51
e)	Développement du cabazitaxel	55
4)	Indications (38)	57
IV.	<i>Camptotheca acuminata</i>	58
1)	Description de <i>Camptotheca acuminata</i>	58
a)	Taxonomie(64)	58
b)	Morphologie	58

c)	Distribution géographique.....	60
2)	Ethnopharmacologie.....	60
3)	Histoire de la découverte.....	61
a)	Découverte de la camptothécine et de la 10-hydroxycamptothécine.....	61
b)	Mécanisme d'action de la camptothécine	65
c)	Développement de l'irinotécan et du topotécan.....	67
d)	Autres dérivés de la camptothécine.....	69
4)	Indications	70
V.	<i>Podophyllum peltatum</i> et <i>hexandrum</i>	71
1)	Description de <i>Podophyllum peltatum</i> et <i>hexandrum</i>	71
a)	Taxonomie	71
b)	Morphologie	72
		72
c)	Distribution géographique.....	74
2)	Ethnopharmacologie.....	75
3)	Histoire de la découverte.....	77
a)	Découverte de la podophyllotoxine.....	77
b)	Etude du podophylle sur le papillomavirus humain.....	77
c)	Mécanisme d'action de la podophylline et essais cliniques	78
d)	Découverte du téniposide et de l'étoposide.....	78
e)	Mécanisme d'action du téniposide et de l'étoposide.....	79
f)	Essais cliniques et commercialisation de l'étoposide.....	80
4)	Indications	82
VI.	Perspectives et conclusion.....	84
VII.	Bibliographie.....	86

Liste des abréviations :

- **AMM** : Autorisation de Mise sur le Marché
- **CNRS** : Centre Nationale de la Recherche Scientifique
- **DCI** : Dénomination Commune Internationale
- **EMA** : European Medicines Agency
- **FDA** : Food and Drug Administration
- **ICSN** : Institut de Chimie des Substances Naturelles
- **IV** : Intra-Veineux
- **JC** : Jésus-Christ
- **NCI** : National Cancer Institute
- **RMN** : Résonnance Magnétique Nucléaire
- **SIDA** : Syndrome d'Immunodéficience Aigüe
- **UV** : Ultra-Violet

Liste des figures :

Figure 1 : description de <i>Catharanthus roseus</i> (12,13)	14
Figure 2: Extrait de l'herbier de Sébastien Vaillant (9).....	15
Figure 3 : Répartition géographique de <i>Catharanthus roseus</i> (8)	16
Figure 4 : Comparaison d'une moelle osseuse de rats avec ou sans traitement par vinblastine (19)	19
Figure 5 : structure de la catharanthine	19
Figure 6: structure de la vindoline.....	20
Figure 7 : structure de la vinblastine	20
Figure 8 : structure de la vincristine.....	21
Figure 9: densité optique en fonction du temps et de la température de la tubuline(11)	22
Figure 10 : structure de la vindésine	23
Figure 11: réaction de Polonovski(11)	24
Figure 12 : structure de l'anhydrovinblastine	25
Figure 13: formation de l'anhydrovinblastine(11).....	26
Figure 14: Hémisynthèse de l'anhydrovinblastine par le chlorure férique (11)	26
Figure 15 : résultat du dichroïsme circulaire de la vinblastine (1), anhydrovinblastine (8a), de l'épi-18' anhydrovinblastine (8b) et du désacétyl anhydrovinblastine (10) (28)	27
Figure 16: synthèse de la vinblastine et de la leurosidine à partir d'anhydrovinblastine(11)... ..	28
Figure 17 : structure de la navelbine (vinorelbine)	29
Figure 18: synthèse de la navelbine à partir de catharanthine et de vindoline(11)	30
Figure 19: hémisynthèse de la navelbine à partir de la bromo-9' indolénine anhydrovinblastine(11).....	31
Figure 20: synthèse de la vinflunine à partir de vinorelbine(33)	32
Figure 21 : structure de la vinflunine	33
Figure 22 : description de <i>Taxus baccata</i> (39).....	37
Figure 23 : description de <i>Taxus brevifolia</i> (42)	38
Figure 24 : Répartition en Europe de l'ouest de <i>Taxus baccata</i> (44).....	39

Figure 25 : Répartition mondiale de <i>Taxus baccata</i> (45).....	40
Figure 26: distribution géographique de <i>Taxus brevifolia</i> (47).....	41
Figure 27 : batteur et arc datant du Néolithique retrouvés à Gérone en Espagne(49)	42
Figure 28 : extraction du taxol à partir de <i>Taxus brevifolia</i> (53).....	44
Figure 29 : Purification de l'extrait chloroformique(53)	44
Figure 30 : Structure du paclitaxel (taxol).....	45
Figure 31 : dépolymérisation des microtubules par du CaCl_2 (a) et polymérisation (b) en présence de concentrations variables en Taxol en fonction du temps. (54)	46
Figure 32 : action du taxol sur l'assemblage et le désassemblage de la tubuline en microtubule in vitro(11).....	47
Figure 33 : Protection de la désacétyl-10 baccatine III par le TROC(11).....	48
Figure 34 : estérification du ditroc-7,10 désacétyl-10 baccatine III avec l'acide cinnamique(11)	48
Figure 35 : Hydroxyamination de l'ester cinnamique en présence de sel de sodium de N-chlorocarbamate de tert-butyle(11)	49
Figure 36 : Hémisynthèse du taxol, du désacétyl-10 taxol, de l'Oxy1 et de l'acétyl-10 oxy 1(11)	50
Figure 37: hémisynthèse convergente du taxol par Robert A. Holton(11).....	51
Figure 38 : comparaison de l'IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$) du taxol, taxotère et des analogues sur des cellules leucémiques murines P388 (54)	51
Figure 39: extrait des résultats obtenus de l'oxy 1 en comparaison à la daunorubicine et le taxol chez des souris greffées d'une tumeur P388. Résultats envoyés par François Lavelle à l'équipe de l'ICSN. (11).....	52
Figure 40 : synthèse de l'acide (chaîne latérale) de l'oxy 1(11)	53
Figure 41 : hémisynthèse convergente de l'oxy 1 (56 976 RP)(11)	54
Figure 42 : structure du docétaxel	54
Figure 43 : structure du désacétyl-10 baccatine III	55
Figure 44 : structure du cabazitaxel	56
Figure 45 : Description de <i>Camptotheca acuminata</i> (63,65–67)	59
Figure 46 : distribution de <i>Camptotheca acuminata</i> dans le sud de la Chine(68)	60
Figure 47 : <i>Bupleurum marginatum</i> (69)	61
Figure 48 : <i>Schoepfia chinensis</i> (70)	61
Figure 49 : Fractionnement de <i>Camptotheca acuminata</i> (53)	62
Figure 50: résultat de la distribution à contre-courant de Craig(53)	63
Figure 51 : Structure de la camptothécine.....	64
Figure 52 : structure de la 10-hydroxycamptothécine.....	64
Figure 53 : Ouverture du cycle lactone de la camptothécine à pH physiologique(72)	65
Figure 54 : électrophorèse de l'ADN et de la topoisomérase de type I en présence de camptothécine, m-AMSA ou VM-26(77)	66
Figure 55 : transformation de l'irinotécan en métabolite actif par la carboxylestérase (78)....	67
Figure 56 : structure du topotecan(72)	68

Figure 57 : frise chronologique de la mise sur le marché des traitements dérivés de la camptothécine(72)	69
Figure 58 : description de <i>Podophyllum peltatum</i>	72
Figure 59 : description de <i>Podophyllum hexandrum</i>	73
Figure 60 : distribution géographique de <i>Podophyllum peltatum</i> (93)	74
Figure 61 : distribution géographique de <i>Podophyllum hexandrum</i> (98)	75
Figure 62 : archive des petites pilules Carter commercialisés en 1938 aux Etats-Unis(105) ..	76
Figure 63 : structure de la podophyllotoxine et de ses dérivés(106).....	78
Figure 64: électrophorèse de l'étoposide et du téniposide en présence d'ADN et de topoisomérase de type II(113).....	80
Figure 65: structure de l'étoposide	81
Figure 66 : structure de l'étoposide phosphate	81
Figure 67 : structure du téniposide	82

Liste des tableaux :

Tableau I : Taxonomie de <i>Catharanthus roseus</i> (8)	13
Tableau II: concentration (nM) inhibant 50% de la prolifération cellulaire de la leucémie L1210 chez la souris (IC ₅₀)(34).....	33
Tableau III : survie moyenne des souris traitées par rapport aux souris non traitées (en%) en fonction des différentes molécules(34)	33
Tableau IV: indications des spécialités Oncovin®, Velbe® et Eldisine® en France(35).....	34
Tableau V : indications des spécialités Navelbine® et Javlor® en France(35)	35
Tableau VI : Taxonomie de <i>Taxus baccata</i> (36)	36
Tableau VII : Taxonomie de <i>Taxus brevifolia</i>	36
Tableau VIII : Indications des spécialités Taxotère® et Jevtana® en France(35).....	57
Tableau IX : indications des spécialités Taxol® et Abraxane®	57
Tableau X : Taxonomie de <i>Camptotheca acuminata</i> (62)	58
Tableau XI : Indications des spécialités Onivyde®, Campto®, Hycamtin® en France (35,72)	70
Tableau XII : indications des spécialités Camtobell®, Enhertu® et Trodelvy® (35,72)	70
Tableau XIII : taxonomie de <i>Podophyllum peltatum</i>	71
Tableau XIV : Taxonomie de <i>Podophyllum hexandrum</i>	71
Tableau XV : indications du Celltop® et d'Etopophos®(35,117)	82

I. Introduction

Au cours du XX^{ème} siècle et jusqu'à aujourd'hui le cancer est au centre de la recherche médicale et pharmaceutique. Réel enjeu de santé publique, en France les tumeurs malignes étaient la première cause de mortalité en 2023 chez les hommes et les femmes avant les maladies cardio-vasculaires (1).

Cette guerre contre le cancer, comme le déclara le président Richard Nixon en 1971, mit sur le devant de la scène certaines plantes qui se sont présentées comme de réelles armes (2). Ces découvertes sont le fruit de plusieurs années de recherches ainsi que celui de l'utilisation ancestrale de ces plantes depuis des milliers d'années. En effet, de nombreuses plantes sont inscrites dans des anciens écrits tel que *De Materia medica*, un traité grec écrit par Dioscoride datant de 77 après JC regroupant des plantes et minéraux aux propriétés médicinales. Elles sont également présentes sur des tablettes d'argile sumériennes et babyloniennes datant de 4 000 ans avant JC ou encore sur le papyrus Ebers datant de 1 600 avant JC. Certaines plantes font l'objet d'un usage médical au sein de médecines traditionnelles comme en médecine chinoise ou ayurvédique (3).

La médecine ayurvédique prend racine en Inde et date d'après les écrits retrouvés de 150 avant JC. Actuellement, elle fait référence à la médecine traditionnelle indienne qui allie rituels religieux et médecine empirique basée sur les sens. Elle prend en charge le patient dans sa globalité en prenant en compte : la santé physique et mentale, l'équilibre spirituel, l'environnement, les habitudes alimentaires et de vie, le bien-être social et l'impact des saisons (4).

Pendant l'ère chrétienne l'utilisation des plantes s'est poursuivie dans les monastères avec des écrits dont on peut citer le « *Flos medicinae* » au 11^{ème} siècle ou encore dans le monde arabe où de nouvelles plantes ont été recensées par Ibn al-Baitar qui a écrit « *Corpus simplicium medicamentorum* » au 13^{ème} siècle (3).

Cependant, afin de rendre ces sources de traitements anticancéreux viables, il faut répondre à d'importants défis de production à l'échelle industrielle et de préservation de la biodiversité. Le protocole de Nagoya, entré en vigueur le 12 octobre 2014, établit un cadre juridique international permettant de conserver la biodiversité et les connaissances traditionnelles, de garantir une utilisation durable et de lutter contre les fraudes (5). De plus la nature, réelle source d'anciennes et de futures découvertes, est mise en péril comme Peter Raven (directeur du Missouri Botanical Garden) le prédit avec une disparition de 50 000 plantes d'ici 2050. Cette destruction massive est causée par l'accroissement de la population et l'activité humaine toujours plus destructrice pour augmenter la productivité et l'exploitation des terres (6).

La synthèse industrielle se place donc comme une bonne alternative pour diminuer l'impact sur les ressources environnementales. Malheureusement, la synthèse est parfois trop complexe et coûteuse. Afin d'illustrer cela, prenons l'exemple de la morphine, cette dernière peut être synthétisée chimiquement, mais il est économiquement plus favorable de l'extraire à partir du pavot (6).

Ces découvertes se sont faites grâce à l'ethnopharmacologie : « L'étude scientifique interdisciplinaire de l'ensemble des matières d'origine végétale, animale ou minérale, et des savoirs ou des pratiques s'y rattachant, mises en œuvre par les cultures traditionnelles pour modifier l'état des organismes vivants, à des fins thérapeutiques, curatives, préventives ou diagnostiques ». En se penchant sur l'utilisation traditionnelle, notamment de certaines plantes, les chercheurs ont ainsi pu découvrir des traitements qui parfois correspondent ou non à l'usage qui en était fait. Cela nécessite de se plonger dans d'anciens écrits ou encore de questionner les

différentes populations puisque, dans les médecines traditionnelles, de nombreuses connaissances se transmettent à l'oral (7).

Dans le domaine de l'oncologie, quatre plantes se sont particulièrement démarquées : *Catharanthus roseus*, *Taxus baccata* / *Taxus brevifolia*, *Camptotheca acuminata* et *Podophyllum peltatum* / *Podophyllum hexandrum*. Ces plantes ont ainsi été sélectionnées pour faire l'objet de cette thèse, en s'intéressant plus particulièrement à leurs utilisations ancestrales, à l'histoire de leur découverte et à leurs indications.

II. *Catharanthus roseus*

1) Description de *Catharanthus roseus*

a) Taxonomie

Règne	Plantae
Sous-règne	Viridaeplantae
Classe	Equisetopsida
Sous-classe	Magnoliidae
Ordre	Gentianales
Famille	Apocynaceae
Genre	<i>Catharanthus</i>
Espèce	<i>roseus</i>

Tableau I : Taxonomie de *Catharanthus roseus*(8)

Autre nom : *Vinca rosea*.

Nom vernaculaire : Pervenche de Madagascar, Tongue ou Tonga (noms donnés par les Tanosy qui sont des habitants du sud-orientale de Madagascar) (9).

En 1759, Carl von Linné décrit la Pervenche de Madagascar qu'il nommera *Vinca rosea*. Le nom de *Catharanthus* du grec « katharos », qui signifie pur et « anthos » pour la fleur, a été donné pour la première fois en 1838 par George Don afin de différencier la Pervenche des *Vinca* européens (10).

Cette même année, Stephane Ladislaus Endlicher écrit un article renommant la Pervenche *Lochnera rosea* dont le nom avait été proposé dix ans auparavant par Gottlieb Ludwig Reichenbach. Mais George Don a bénéficié de l'antériorité, à quelques mois près, faisant de *Catharanthus roseus* la dénomination officielle de la Pervenche de Madagascar (11).

b) Morphologie

Plantes entières (12)	Feuille (12)
	
Fleur (12)	Fruits (13)
	

Figure 1 : description de *Catharanthus roseus* (12,13)

La Pervenche de Madagascar est un sous-arbuste de 30 centimètres à 1 mètre de haut. Il contient du latex blanc et des racines d'une taille maximale de 70 centimètres. Les tiges sont approximativement cylindriques, vertes ou vert jaunâtre et plus ou moins imprégnées de rouge ou de violet.

Les feuilles sont opposées et pétiolées (pétiole de 0,3 à 1 cm de long). Le limbe peut être elliptique, obovale ou étroitement obovale de 4-9 x 1,5-3,5 cm. Le dessus est brillant, vert foncé

à vert pâle et pubescent à glabre des deux côtés. Il y a des nervures principales plus pâles, ainsi que 7 à 11 nervures secondaires. Les nervures tertiaires sont peu visibles.

Concernant l'inflorescence, il y a des pédicelles verts de 0,1 à 0,2 mm de long et une absence de bractées. Les fleurs font 4 à 5 cm de long avec des sépales verts. La corolle est constituée de 5 pétales rouges à roses ou blancs avec un centre violet, rouge, rose, jaune pâle ou blanc réunis à la base en un tube verdâtre de 2,2 à 3 cm de long (Fig. 1).

Le fruit est vert, même à maturité, composé de deux follicules parfois avortés ou réduits et la graine est cannelée d'un côté (1,2-3,8 x 0,2-0,3 cm) (14).

A noter que le plus ancien échantillon de la pervenche est présent au muséum d'histoire naturelle dans l'herbier de Sébastien Vaillant (Fig. 2). Cet échantillon a été envoyé entre 1648 et 1655 par Etienne de Flacourt auteur d'un ouvrage, « Histoire de la grande Isle de Madagascar », dans lequel il mentionne et décrit cette plante (9,15).



Figure 2: Extrait de l'herbier de Sébastien Vaillant (9)

c) Distribution géographique

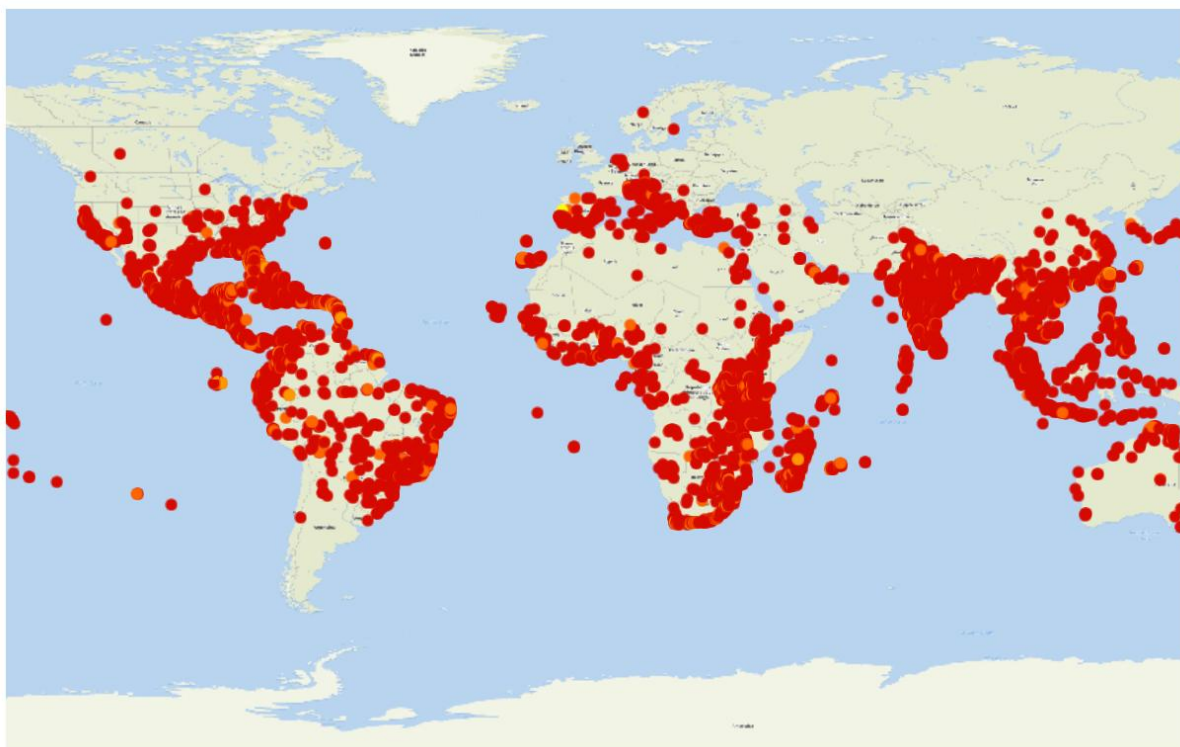


Figure 3 : Répartition géographique de *Catharanthus roseus*(8)

Catharanthus roseus est originaire de Madagascar puis elle a été introduite dans d'autres pays, notamment dans des zones tropicales et occasionnellement subtropicales (Fig. 3). Cette introduction dans d'autres pays et régions du monde serait le fruit de son transport par les navigateurs qui l'utilisaient en tant que coupe faim au cas où les vivres viendraient à manquer. Puis elle a été importée pour sa résistance à la sécheresse afin d'ornementer les maisons et les jardins (10).

On la retrouve en particulier sur la côte dans des régions sablonneuses de par son important niveau de tolérance au sel, ou dans les terres sur les dunes des savanes, les sols secs, rocaillieux (14).

2) Ethnopharmacologie

A travers le monde, *Catharanthus roseus* est exploitée pour soigner diverses maladies et cette utilisation remonte à plusieurs siècles dans certains pays. Elle est retrouvée notamment dans la médecine ayurvédique où elle est appelée « Sadabahar » en Hindi.

Elle est connue pour être traditionnellement utilisée comme anti-diabétique. Par exemple, en Inde, dans le district de Kancheepuram au Tamil Nadu, soit la plante est utilisée entière et réduite sous forme de poudre mélangée à du lait de vache, soit les feuilles sont mises à infuser dans de l'eau bouillante (16). Dans ce pays, elle est également utilisée sous forme de jus extrait à partir des feuilles en application locale pour soigner les piqures de guêpe ou d'abeille. Aux Philippines, elle est préparée sous forme de décoction, les feuilles sont indiquées contre le diabète, les racines contre le parasitisme intestinal et les jeunes feuilles contre les crampes

d'estomac. Elle est également indiquée dans les ménorragies en infusant les feuilles ou encore pour l'activité anticancéreuse à partir des extraits bruts des feuilles et des racines.

A Madagascar, cette plante est utilisée pour ses nombreuses vertus purgatives, dépuratives, hémostatiques (comme à Hawaï), vermifuges, contre les douleurs dentaires ou encore en vomitif. Ce sont les racines qui sont exploitées en dehors de la dernière indication pour laquelle les feuilles sont utilisées (17).

Au Kenya, elle est consommée dans son entièreté en association avec une autre plante *Sesbania sesban* dans le traitement du cancer de la gorge, de l'œsophage et de l'estomac. La sphère oropharyngée est également retrouvée en Amérique en gargarisme. Les racines sont utilisées en Afrique du Sud et au Zimbabwe pour les infections uro-génitales, la gonorrhée et les affections touchant l'estomac. Au Vietnam, la plante entière est préparée dans de l'eau bouillante pour le traitement de l'hypertension artérielle, le cancer, le diabète et la dysenterie (16). Cette dernière indication est retrouvée également aux Philippines.

Les fleurs de *Catharanthus roseus* sont une source de remède dans certains pays comme à Cuba, en Jamaïque et aux Bahamas pour la sphère pulmonaire (asthme, tuberculose), digestive et oculaire chez l'enfant (17). Dans les Caraïbes et notamment dans la France d'outre-mer (Guadeloupe et Martinique), diverses plantes sont utilisées pour traiter l'hypertension artérielle. La Pervenche de Madagascar fait partie de ces plantes et elle est administrée en décoction. Dans cette région du monde, l'hypertension artérielle est un problème de santé publique avec des facteurs environnementaux favorisant comme une forte concentration en sodium dans l'eau potable, une alimentation riche en fruits de mer et une consommation d'alcool. Une forme liquide, comme la décoction, est favorisée par rapport aux formes solides car, dans les croyances locales, la forme liquide passerait plus rapidement dans le sang et agirait plus rapidement. Les extraits sont broyés avec une quantité spécifique d'eau et parfois d'additifs. La délivrance est accompagnée de conseils sur l'heure de la prise, pendant ou en dehors des repas, en fonction de la plante choisie (18).

3) Histoire de la découverte

a) Les prémices de la découverte

La sérendipité, c'est-à-dire la capacité à tirer profit d'une découverte fortuite, est au cœur des différentes avancées médicales qui ont été faites à partir de la Pervenche de Madagascar.

Les propriétés hypoglycémiantes prônées en médecine traditionnelle intriguaient les scientifiques qui souhaitaient vérifier cette indication. Plusieurs études ont alors été lancées avec des résultats contradictoires. En 1924, le journal néo-zélandais « Mount Ida Chronicle » publie un article indiquant que les feuilles de pervenche ont permis de guérir un certain Ernest Whyte. En 1925, Cyril Tenison White explique comment préparer les feuilles de Pervenche afin d'en faire un traitement contre le diabète. Au Royaume-Uni est alors commercialisé la « vinculin ». Les pharmacologues se sont donc penchés sur cette plante et des études sur des animaux ont été réalisées notamment à Cape Town en Afrique du Sud ou encore en Australie

mais les résultats furent négatifs. Deux études cliniques ont été mises en place dans lesquelles des teintures mères ou infusions de feuilles de *Catharanthus roseus* ont été administrées à des patients diabétiques, sans résultat démontrant un effet hypoglycémiant (19).

Des résultats un peu plus concluants ont été trouvés en 1950 à la faculté de pharmacie de Paris. Les chercheurs René Paris et Hélène Moyse ont réalisé des essais sur des rats et des lapins. Au lieu de tester seulement les feuilles, ils ont également testé les fleurs fraîches et les alcaloïdes totaux de la plante. Le seul résultat qui allait dans le sens de l'indication ancestrale était une diminution de la glycémie après administration des sommités chez les lapins dont l'hyperglycémie était induite avec du glucose (11,15).

En 1952, Robert Laing Noble commença ses recherches dans le laboratoire de James Bertram Collip à l'université de Western Ontario au Canada sur la Pervenche de Madagascar afin de vérifier si son utilisation traditionnelle contre le diabète était fondée. Robert Noble commença ses recherches sur cette plante grâce à son frère Clark Noble qui a participé à la découverte de l'insuline avec James Collip, Frederick Banting, Charles Best et John Mac Leod. Après cette découverte, Clark Noble suivait des patients diabétiques et l'une d'entre eux, madame Farquharson, lui ramena de son voyage en Jamaïque des feuilles de pervenche de Madagascar. En effet, elle avait découvert lors de son excursion qu'elles étaient utilisées par la population locale contre le diabète. Il envoya alors ces feuilles dans le laboratoire de son frère pour tester l'activité hypoglycémiante de cette plante (11,19).

Robert Noble les testa alors sur des rats et des lapins en leur administrant par voie orale un extrait aqueux des feuilles mais sans effet sur leur glycémie. Il a ensuite réessayé par voie injectable (intrapéritonéale) et le résultat n'était toujours pas en faveur d'une activité hypoglycémiante. À la suite de cette injection, les rats mouraient au bout de cinq à sept jours de septicémie (20).

Robert Noble ne s'arrêta pas à cette infirmation et il continua ses recherches afin de comprendre pourquoi les rats avaient déclenché une septicémie. Il s'assura dans un premier temps que les bactéries à l'origine de l'infection ne venaient pas d'une contamination de la plante, ce qui n'était pas le cas. Dans un second temps, il étudia la moelle osseuse des souris et découvrit une baisse des globules blancs. La Pervenche de Madagascar a donc une toxicité sur la moelle osseuse mais pas d'effet sur la glycémie (20).

b) Identification des alcaloïdes actifs de la Pervenche de Madagascar

En 1958, Charles Beer apporta son aide à Robert Noble afin d'isoler la ou les alcaloïdes à l'origine de cette activité et c'est ainsi qu'ils découvrirent un alcaloïde qu'ils nommèrent la vincaleucoblastine appelée plus communément VLB ou encore vinblastine. Ce nom de vincaleucoblastine a été choisi en référence à la plante avec le préfixe « vinca » et « leucoblastine » faisant référence à la leucopénie induite par cet alcaloïde. Le docteur Harry Cutts, qui avait rejoint l'équipe quelques années auparavant, testa cet alcaloïde sur des rats ce qui entraîna une diminution drastique des globules blancs et de la moelle osseuse (Fig. 4) (19).

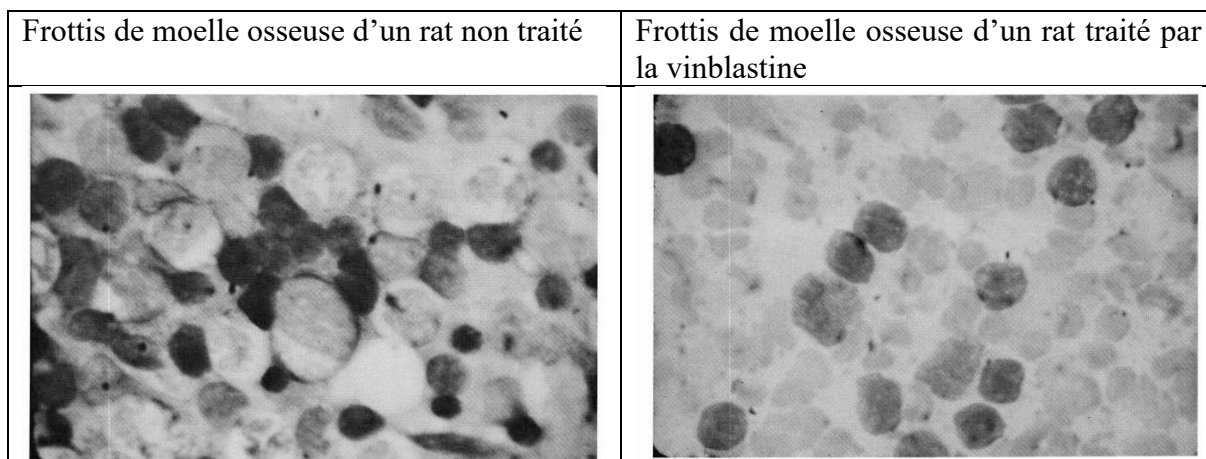


Figure 4 : Comparaison d'une moelle osseuse de rats avec ou sans traitement par vinblastine (19)

En parallèle, aux États-Unis, le laboratoire pharmaceutique Eli Lilly effectuait des recherches sur cette plante menées par Gordon Svoboda. Les chercheurs ont constaté cette activité anti leucémique sur des souris porteuses d'implants de leucémie P-1534 et en 1961 ils isolèrent une molécule active différente de celle découverte par Robert Noble, qu'ils nommèrent la leucocristine puis vincristine. Ces deux équipes ont ensuite collaboré après s'être rencontrées à une conférence de l'Académie des sciences de New-York (19,20).

Au début des années 60, des études pour déterminer la structure des alcaloïdes de la Pervenche furent réalisées. À ce moment-là, seules la catharanthine et la vindoline avaient été élucidées mais ce n'étaient pas celles-ci qui les intéressaient car elles ne possédaient pas de propriétés anti-cancéreuses (Fig. 5 et 6).

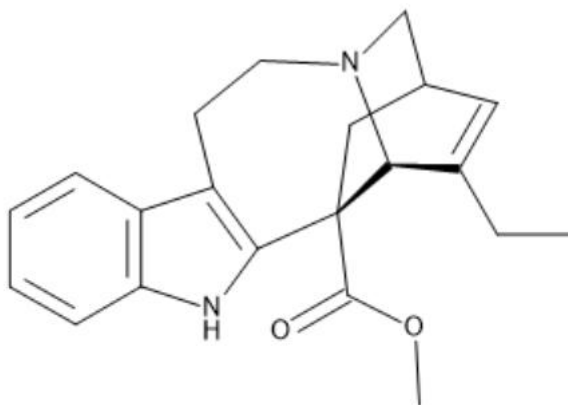


Figure 5 : structure de la catharanthine

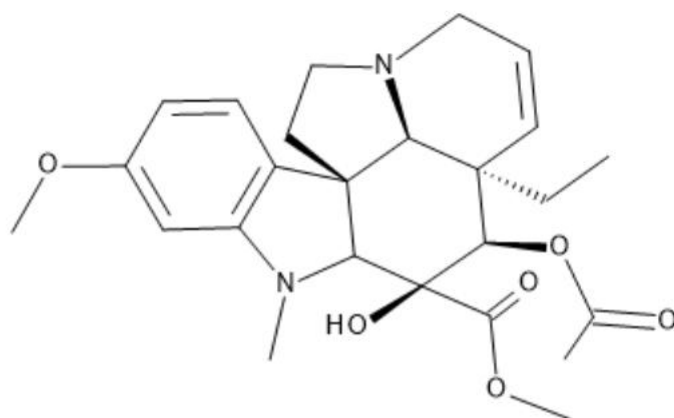


Figure 6: structure de la vindoline

Les structures de la vinblastine et de la vincristine seront quant à elles déterminées par diffraction aux rayons X en 1965. La vinblastine et la vincristine se distinguent par le groupement attaché à l'atome d'azote du dihydroindole. La vincristine possède un N-formyle et la vinblastine un N-méthyle (Fig. 7 et 8) (11).

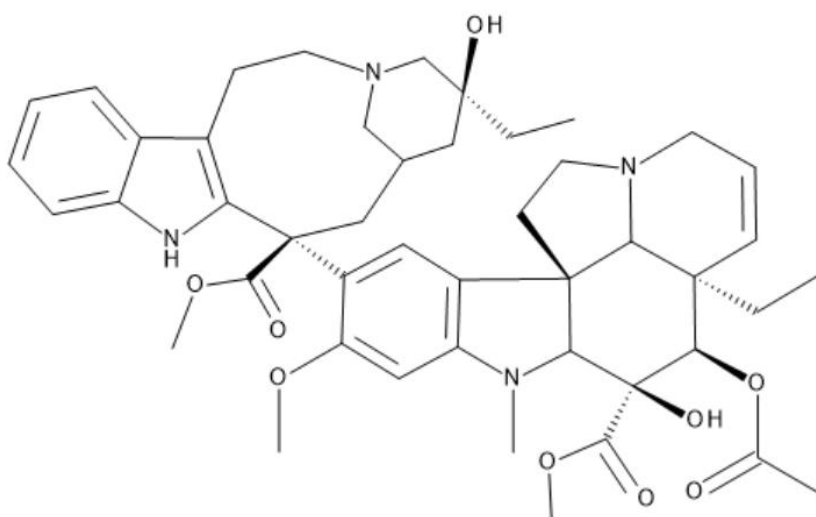


Figure 7 : structure de la vinblastine

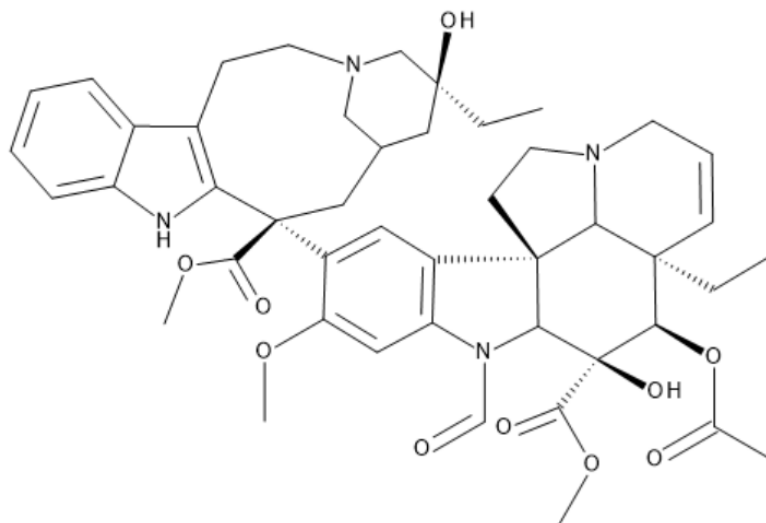


Figure 8 : structure de la vincristine

A partir de 1960, des essais sur des animaux puis des essais cliniques ont démontré l'activité anti-leucémique de la vinblastine puis 1 an après de la vincristine. La vinblastine a été testée pour la première fois sur vingt-deux patients par un ami de Robert Noble, le docteur Harold Warwick. Parmi eux, huit étaient atteints d'une leucémie, cinq d'un lymphome et neuf d'autres types de tumeurs malignes. Ces dernières sont une prolifération anormale de cellules cancéreuses qui peuvent ensuite métastaser. Les leucémies sont une multiplication excessive de leucocytes immatures ou anormaux envahissant la moelle osseuse et entraînant une cytopénie tandis que le lymphome touche les lymphocytes T ou B qui envahissent les organes lymphoïdes secondaires. La posologie administrée était de 0,15 mg/kg en intra-veineux (IV) pendant trois ou quatre jours. Vingt-quatre à quarante-huit heures après la première injection, tous les patients présentaient une diminution des leucocytes. Une amélioration a été observée chez quatorze patients avec une diminution de la taille des ganglions lymphatiques, de la rate, du foie et de la masse tumorale. Parmi les huit patients atteints d'une leucémie aigüe, trois ont eu une rémission partielle de quatre à six semaines, c'est-à-dire une diminution significative des symptômes de la maladie et parmi les patients souffrants d'un lymphome, l'un d'entre eux a présenté une amélioration clinique importante. Enfin, une patiente atteinte d'un carcinome du sein a bénéficié d'une rémission de six semaines. Les études cliniques de la vincristine ont été effectuées sur 28 patients dont 23 avaient une maladie de Hodgkin qui est une prolifération de lymphocytes B anormaux appelés cellules de Reed-Sternberg, 2 un lymphome, 2 une leucémie lymphocytaire chronique et 1 une leucémie granulocytaire chronique. Parmi eux, 9 patients (tous atteints de la maladie de Hodgkin) ont eu une amélioration de leur état clinique pendant 5 à 16 semaines. La principale toxicité était neuromusculaire. Ces premières études n'ont pas permis de conclure sur une efficacité avérée mais donnait bon espoir pour la suite des études (21,22).

c) Découverte du mécanisme d'action de la vinblastine et de ses dérivés

En 1961, le canadien James Harry Cutts publie un article sur l'activité de la vinblastine et suggère que c'est un poison du fuseau. La tubuline est une protéine qui s'assemble pour former des microtubules essentiels pour la constitution du fuseau mitotique dans le noyau cellulaire. Ce fuseau joue un rôle essentiel lors de la division des cellules afin que les chromosomes soient répartis équitablement dans chaque cellule fille (23).

En 1975 et 1976 Michael L. Shelanski et Richard Himes publient chacun un article sur leurs essais *in vitro* permettant de suivre l'impact de la vinblastine sur la formation du microtubule. Ces essais permettent ainsi d'attester de l'effet inhibiteur sur l'assemblage de la tubuline (11).

En 1976, Bhabatarak Bhattacharyya et Janice A. Wolff ont ensuite élucidé les sites sur lesquels se lie la vinblastine. Il y a donc deux sites, l'un de forte affinité entraînant un désassemblage du microtubule et l'autre de faible affinité produisant une agrégation de la tubuline (24).

Daniel Guénard de l'ICSN commença à étudier *in vitro* le mécanisme d'action des alcaloïdes pour donner suite aux résultats publiés par les chercheurs précédemment cités. Pour ce faire, il a collaboré avec Dominique Pantaloni, biologiste au sein du laboratoire d'enzymologie du CNRS. Ils ont récupéré de la tubuline à partir de cerveaux de mammifères provenant d'un abattoir proche du laboratoire. En appliquant la méthode de Shelanski basée sur l'augmentation de la turbidité d'une solution de tubuline au fur et à mesure qu'elle se polymérise. Ils ont pu suivre la polymérisation de la tubuline dans une microcuve thermostatée équipée d'un spectrophotomètre UV (à 350nm) (Fig. 9) (11).

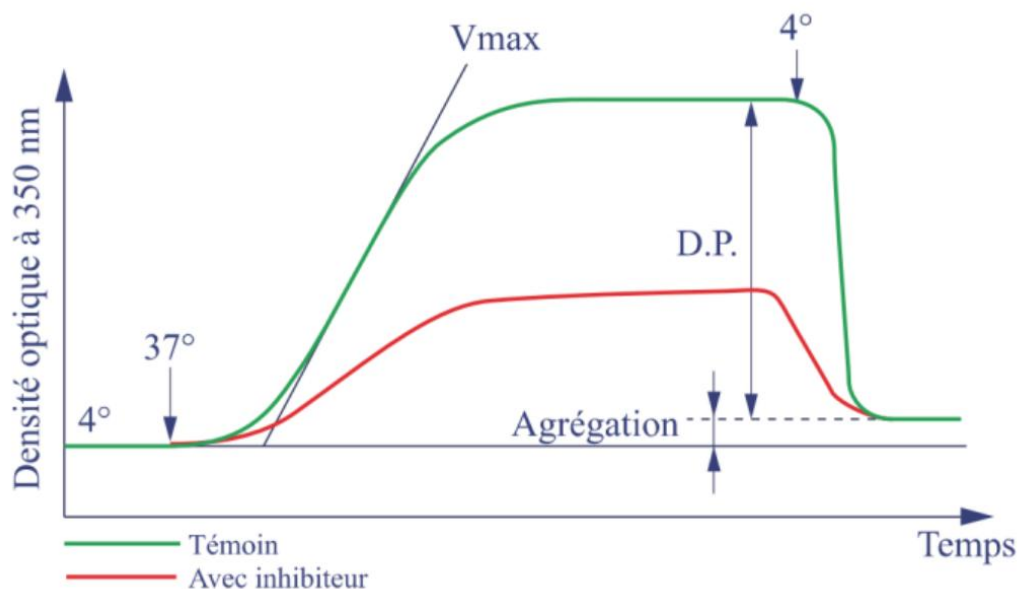


Figure 9: densité optique en fonction du temps et de la température de la tubuline(11)

V_{max} = Vitesse maximale

DP = amplitude de dépolymérisation

Les résultats obtenus sont visibles sur ces deux graphiques. En vert est représenté le témoin, c'est-à-dire la tubuline sans inhibiteur. Lorsque la température passe de 4°C à 37°C, la densité optique augmente, traduisant un assemblage de la tubuline en microtubule. Puis la température repasse à 4°C et on assiste à un désassemblage des microtubules entraînant une diminution de la densité optique. En rouge est représentée la tubuline soumise au même changement de température que le témoin, mais elle est en présence de vinblastine. La densité optique augmente également lors du passage à une température de 37°C mais cette augmentation est bien inférieure au témoin. Cette différence s'explique donc par la présence de vinblastine. Ce « test à la tubuline » deviendra alors la méthode de référence pour tester *in vitro* l'activité d'un composé inhibiteur (11).

d) Commercialisation de la vinblastine, vincristine et vindésine

Le laboratoire Eli Lilly commercialise entre 1963 et 1965 la vinblastine et la vincristine (Velbé® et Oncovin®) extraites de *Catharanthus roseus*. Elles sont mises sur le marché en France fin 1969 (6). La vincristine est alors indiquée dans les leucémies aiguës en pédiatrie et la vinblastine dans la maladie de Hodgkin avant de voir leurs indications s'élargir par la suite (11).

Dans les années 1980, une troisième molécule voit le jour : la vindésine. Elle est le produit d'une hémisynthèse à partir de la vinblastine extraite de la Pervenche de Madagascar. Elle diffère de la vinblastine au niveau du carbone 16 avec une fonction amide primaire à la place d'un ester et une hydrolyse de la fonction ester acétique sur le carbone 17 (Fig. 10) (20).

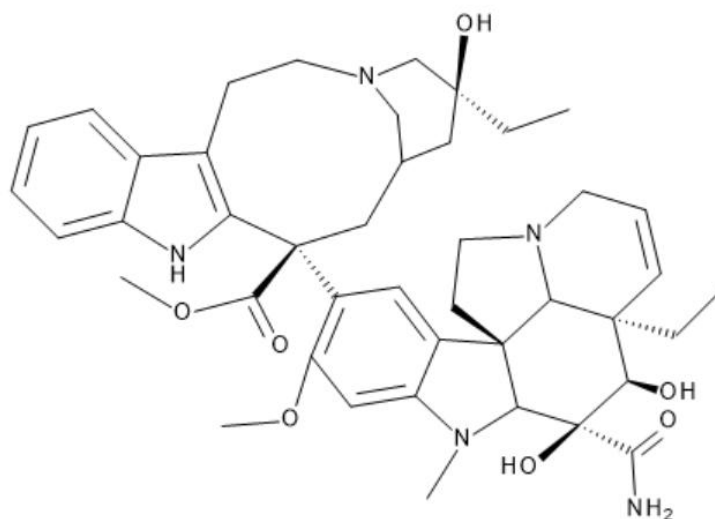


Figure 10 : structure de la vindésine

Cette molécule développée par Eli Lilly présente le même mécanisme d'action que la vinblastine et la vincristine. Les études effectuées chez l'animal ont montré une activité similaire à ces dernières sur la leucémie P-388. Au cours des premières recherches effectuées chez l'Homme, elle a montré une activité significative contre les lymphomes non-Hodgkinien, la leucémie

myéloïde chronique en crise blastique et la leucémie lymphocytaire aigüe. Elle présente également une activité intéressante dans les cancers du poumon non à petites cellules et des carcinomes du sein. Les principaux effets indésirables sont une neurotoxicité avec notamment des paresthésies et une myélotoxicité (6,25).

En France, la vindésine (Eldisine®) a été commercialisée en 1979 par Eli Lilly puis repris par EG labo en 2004 (26,27).

e) L'anhydrovinblastine : un intermédiaire de choix

Concernant l'approvisionnement en substance active, il se trouve que la quantité en vinblastine et en vincristine est très faible dans la plante. Pour obtenir quelques dizaines de grammes de vinblastine, il faut une tonne de feuilles sèches et avec cette même quantité on obtient 10 à 20 fois moins de vincristine. A noter que la vincristine peut être obtenue par hémisynthèse à partir de la vinblastine donc, si une hémisynthèse de la vinblastine est mise au point, il est possible d'obtenir les deux alcaloïdes. Les chercheurs se sont intéressés à la vindoline présente dans les parties aériennes et potentielle source de précurseur pour obtenir la vinblastine par hémisynthèse. A travers le monde, entre 1967 et 1971, plusieurs équipes se mettent à la recherche d'une solution pour coupler la vindoline avec la catharanthine. Ce sera sans succès, aucune équipe n'arrivera à coupler les deux structures dans la bonne configuration. En effet, à cause de la chiralité de la molécule, les chercheurs n'arrivaient à la produire que sous sa forme « droite » qui est inactive et pas sous sa forme « gauche » active (20).

Il faudra attendre 1974 pour que Pierre Potier, directeur de recherche au CNRS et pharmacien, trouve la solution. Mais pour répondre à ce défi, il est essentiel de revenir en 1962, année où Pierre Potier retourne à ses travaux sur les alcaloïdes de la monnaie-du-pape à l'institut, après son service militaire. Il commença alors à se pencher sur la réaction de Polonovski développée en 1927 (Fig. 11). Père et fils travaillèrent sur l'ésérine et la gènesérine provenant de *Phytostigma venerosum*. Ils mettent au point la réaction suivante où le N-oxyde d'amine réagit en présence d'anhydride acétique pour former un dérivé N-acétylé (et minoritairement un aldéhyde)(11).

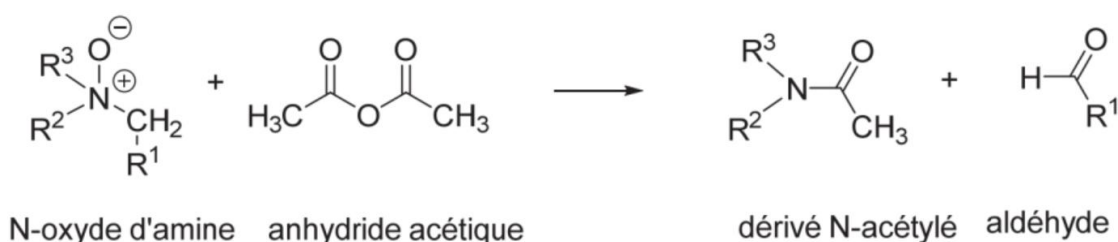


Figure 11: réaction de Polonovski(11)

Cette réaction qui consiste à oxyder des alcaloïdes a été modifiée par Pierre Potier avec l'aide de deux étudiants Alain Ahond et Adrien Cavé. La modification qu'ils ont apportée concerne le réactif. En effet à la place de l'anhydride acétique, ils décident d'utiliser de l'anhydride trifluoroacétique sur des N-oxydes d'amines tertiaires. Ce réactif permet d'obtenir des fragmentations de liaisons carbone-carbone lorsqu'il est appliqué sur ces derniers (11). La

réaction de « Polonovski-Potier » se base sur le biomimétisme, c'est-à-dire qu'elle imite la synthèse naturelle à l'intérieur de la plante. Il est important de mentionner cette découverte car elle fait partie du processus qui a permis par la suite de grandes avancées pour la synthèse des alcaloïdes de la pervenche (6).

Afin d'étudier la Pervenche de Madagascar à l'ICSN, il était essentiel d'être fourni en matière première et c'est grâce à une collaboration étroite avec le botaniste Pierre Boiteau, spécialiste de la flore Malgache, que le laboratoire de recherche a pu être approvisionné. A noter que Lucile Boiteau-Allorge prendra le relais en 1980 après la mort de son père, afin de poursuivre les recherches sur d'autres plantes (11).

Pour relever ce défi Pierre Potier était également accompagné de Nicole et Yves Langlois. En 1974, il soumit alors l'idée à ses deux collaborateurs de reprendre la formule de « Polonovski-Potier » mise au point quelques années plus tôt. Ils ont observé la présence de vindoline et de catharanthine et ont ainsi émis l'hypothèse que la Pervenche fabriquait la vinblastine à partir de celles-ci. Nicole Langlois met ainsi en pratique cette réaction sur de la vindoline et de la N₆-oxyde de catharantine et elle obtient un analogue de la vinblastine, l'anhydrovinblastine (Fig.12). Cette dernière qui possédait la bonne configuration, donna des résultats concluants et permis de faire avancer les recherches. Cette découverte a été déposée le 14 octobre 1974 à l'académie des Sciences puis brevetée le 30 décembre de cette même année, leur permettant d'être les premiers avant que James P. Kutney ne dépose le sien en mai 1975 (11,28).

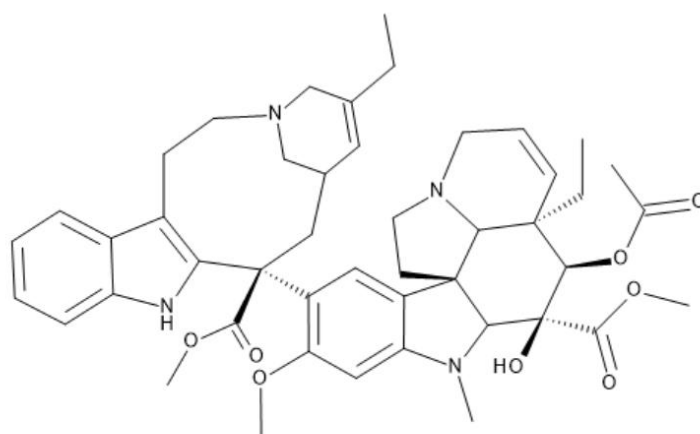


Figure 12 : structure de l'anhydrovinblastine

La formation de l'anhydrovinblastine commence par une première étape de transformation de la catharantine en N₆-oxyde de catharantine par l'acide p-nitroperbenzoïque à basse température pour éviter un réarrangement du squelette de la catharantine. Ils additionnent ensuite de l'anhydride trifluoroacétique donnant un "intermédiaire A" qui se fragmente sur la liaison C5-C18. Ils obtiennent alors deux iminiums « B » et « C » qui sont attaqués par un nucléophile, la vindoline, donnant deux iminiums dimères (épimères sur le carbone 18'). Puis, en présence de borohydrure de sodium, ils se transforment en anhydrovinblastine et en épi-18' anhydrovinblastine. La température optimale se trouve à -78°C, permettant un meilleur

rendement car cette température favorise l'iminium B qui permet d'obtenir une configuration 18'S après réaction avec la vindoline (Fig. 13) (11).

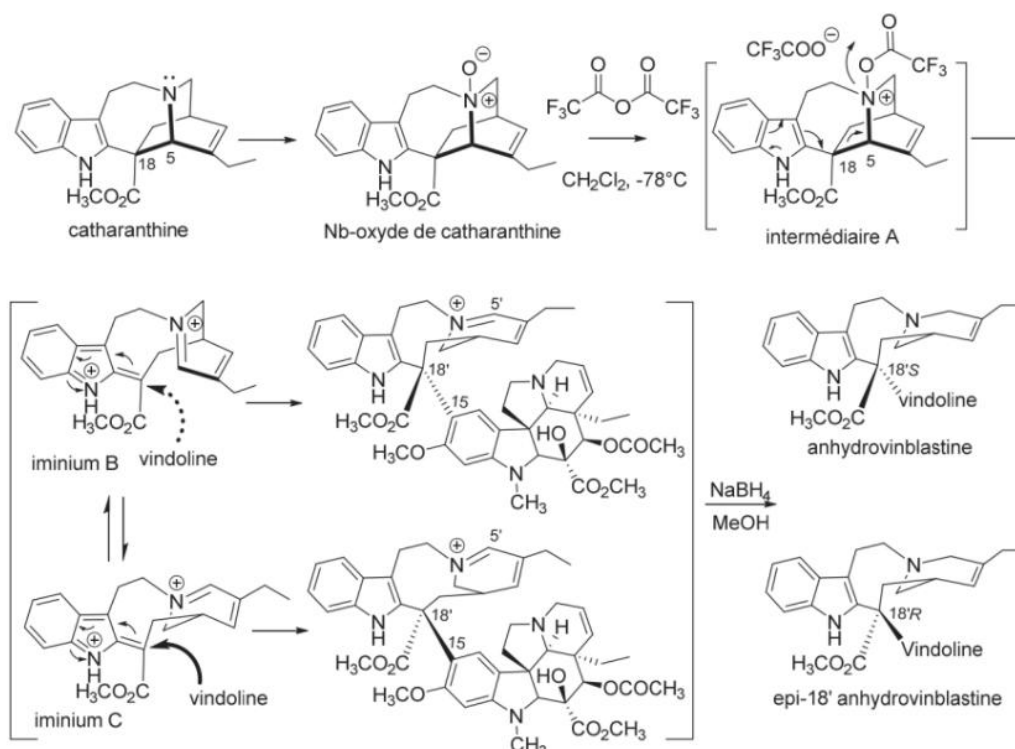


Figure 13: formation de l'anhydrovinblastine(11)

A noter que la numérotation utilisée ici est celle de l'IUPAC (International of Pure and Applied Chemistry). Dans certaines publications est utilisée la numérotation biogénétique.

Le rendement était à ce moment-là de 50% puis amélioré à 77% par James Peter Kutney et John Vukovic en 1988, grâce au chlorure ferrique qui favorise l'attaque du nucléophile (la vindoline) sur la face inférieure de l'iminium (Fig. 14) (11).

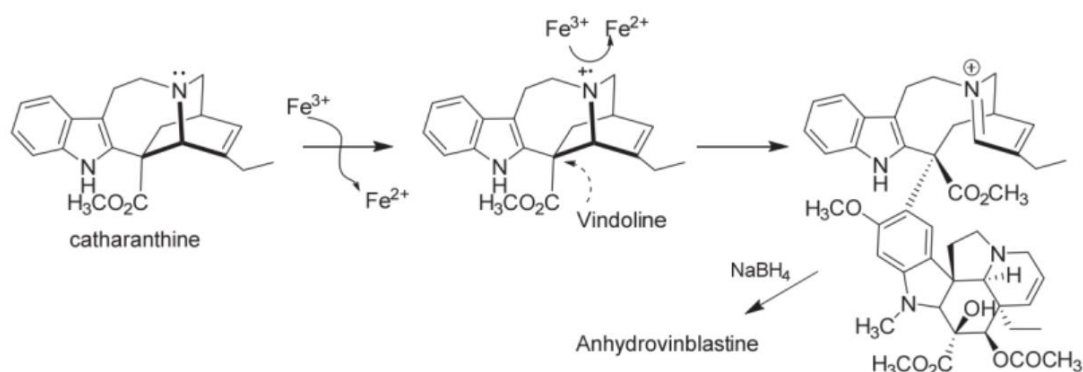


Figure 14: Hémisynthèse de l'anhydrovinblastine par le chlorure ferrique (11)

Afin de déterminer la configuration du carbone 18', ils ont utilisé le dichroïsme circulaire. Ce dernier est une « technique d'absorption différentielle de la lumière polarisée qui permet d'avoir des informations sur la configuration et la conformation de molécules chirales ». L'effet Cotton

($\Delta\epsilon$) est positif lorsque les alcaloïdes sont de configuration 18'S et négatif lorsqu'ils sont 18'R. Il est positif pour la vinblastine (1), l'anhydrovinblastine (8a) et le désacétyl anhydrovinblastine (10). Il est négatif pour l'épi-18' anhydrovinblastine et traduit une absence d'activité biologique contrairement à la configuration 18'S (Fig. 15) (11,28).

c.d.(EtOH)	(1)	(8a)	(8b)	(10)
λ/nm	254	258	258	260
$\Delta\epsilon$	+10.5	+13.3	-13.2	+12.0
λ/nm			280	
$\Delta\epsilon$			+3.2	
λ/nm	302	305	309	304
$\Delta\epsilon$	+4.8	+6.4	+8.0	+4.8

Figure 15 : résultat du dichroïsme circulaire de la vinblastine (1), anhydrovinblastine (8a), de l'épi-18' anhydrovinblastine (8b) et du désacétyl anhydrovinblastine (10) (28)

Françoise Guéritte, en collaboration avec l'équipe du professeur Ian Scott, publia en 1978 la démonstration que l'anhydrovinblastine était bien produit naturellement par la plante. Pour ce faire, ils ont incorporé dans une Pervenche de Madagascar de la catharanthine marquée au tritium (^3H) et de la vindoline au carbone 14 (^{14}C). L'anhydrovinblastine a ensuite été extraite et elle présentait bien ces deux marqueurs radioactifs. Nicole Langlois et Pierre Potier ont ensuite démontré pourquoi l'anhydrovinblastine n'était pas retrouvée lors d'anciennes études d'isolement. Ils l'expliquèrent par son instabilité à cause de réactions d'oxydo-réduction. En 1988, deux études montrent que l'extraction en milieu acide permet de stabiliser et d'isoler l'anhydrovinblastine. L'une a été réalisée par l'ICSN et l'autre par la société canadienne Allelix (11,29).

L'anhydrovinblastine montrait de nombreux atouts pour être un intermédiaire de choix. En effet, celui-ci pouvait être obtenu en appliquant la réaction de Polonovski-Potier sur deux composés retrouvés majoritairement chez *Catharanthus roseus* (catharanthine et vindoline). De plus, il s'oxyde spontanément à l'air pour produire des alcaloïdes actifs. Ainsi le 8 décembre 1978, Pierre Mangenay, Pierre Potier, Nicole et Yves Langlois déposèrent un brevet sur le procédé de synthèse de la vinblastine et de la leurosidine à partir de l'anhydrovinblastine (Fig. 16) (11).

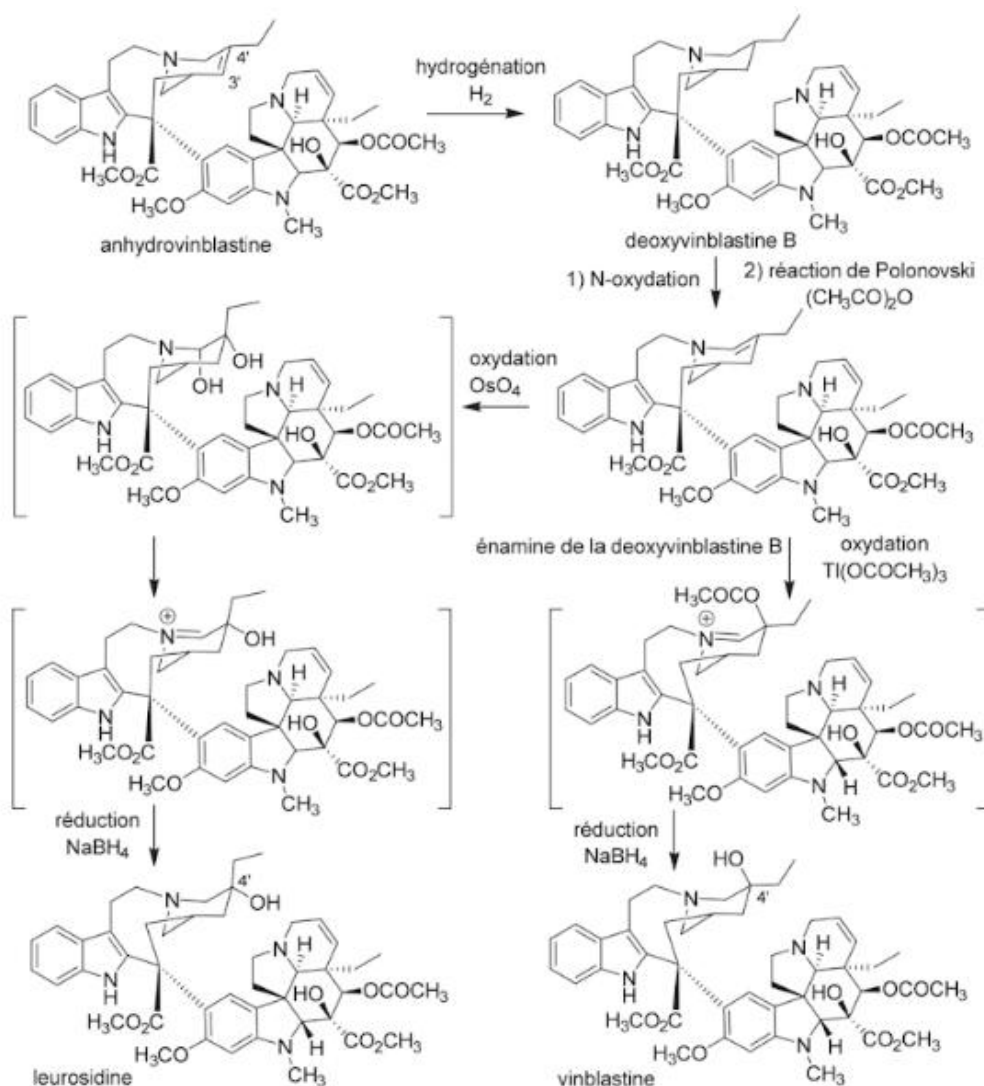


Figure 16: synthèse de la vinblastine et de la leurosidine à partir d'anhydrovinblastine(11)

f) Découverte de la Navelbine

Pierre Mangenay, jeune chimiste chapoté par Yves Langlois, commença des recherches sur l'anhydrovinblastine afin d'obtenir de la vinblastine et il découvrit une nouvelle molécule encore une fois par sérendipité. En réalisant ses recherches sur cette molécule, il réalisa une découverte involontaire, la vinorelbine. Cette molécule est le fruit de la réaction entre l'anhydrovinblastine et de l'anhydride trifluoroacétique qui devait être à la base de l'anhydride acétique et c'est lors de la réalisation d'une chromatographie sur couche mince qu'il découvre un composé de la même couleur (au contact du sulfate de cérium et d'ammonium) et avec la même migration que la vinblastine. L'analyse en spectrométrie de masse permit aux chercheurs de découvrir que la vinorelbine avait une masse moléculaire de 807 contre 810 pour la vinblastine. Le 23 novembre 1977, Flora Zavala démontra l'activité inhibitrice au test de la tubuline de ce mystérieux composé. Il était maintenant nécessaire d'en produire en plus grande quantité. Après évaporation à sec et dissolution dans du tétrahydrofuranne, Pierre Mangenay traita le milieu réactionnel par de l'eau et c'est ainsi qu'il réussit à obtenir un rendement de

27%. L'eau permet d'hydrolyser la liaison N6'-C7' conduisant l'iminium A à l'iminium B. S'en suit alors une attaque nucléophile par l'amine libre sur la partie indolique (30).

Accompagné de Jean Yves Lallemand, il réussit à déterminer la structure par RMN, permettant d'identifier ce composé comme étant la 7'-nor-anhydrovinblastine. La résonance magnétique nucléaire est une technique de spectroscopie mesurant la variation d'énergie d'un noyau atomique soumis à un champ magnétique, provoquant des transitions entre deux niveaux d'énergie très proche. Elle permet de déterminer la structure d'une molécule. A noter que la différence de masse moléculaire entre la 7'-nor-anhydrovinblastine (778) par rapport à celle déterminée précédemment s'explique par des transméthylations (11).

Des tests *in vivo* ont été réalisés sur des souris atteintes de leucémies lymphoblastiques L1210 ou de leucémies lymphoïdes P388 (modèles murins utilisés pour la recherche en cancérologie), en 1978 par Suzanne Cros dans le laboratoire d'un confrère de Pierre Potier (le laboratoire de pharmacologie et de toxicologie de Claude Paoletti à Toulouse). Les résultats obtenus étaient très prometteurs avec une activité antitumorale proche de la vinblastine et une toxicité inférieure à celle de la vincristine. Un brevet sur cette molécule a ensuite été déposé par l'ANVAR aux noms de Pierre Potier, Nicole Langlois, Yves Langlois et Pierre Mangenay le 24 août 1978 (11,31). Pierre Potier renomma cette molécule plus simplement la navelbine (Fig. 17).

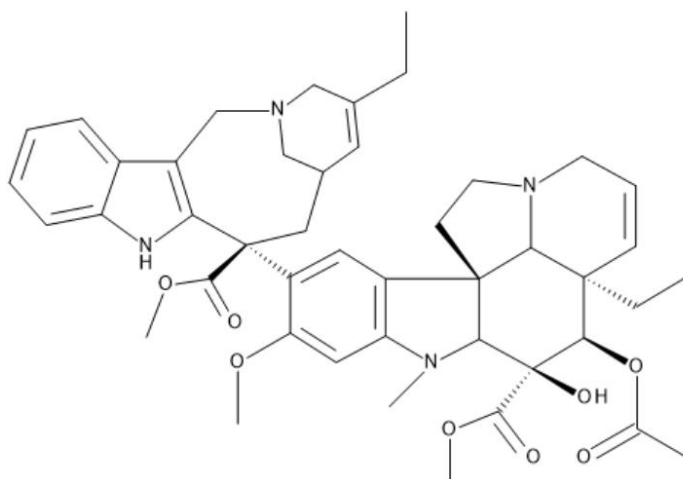


Figure 17 : structure de la navelbine (vinorelbine)

Afin de poursuivre les études sur cette molécule, il était nécessaire d'améliorer la synthèse de celle-ci et l'arrivée de Françoise Guéritte au sein de l'équipe de recherche permis de mettre au point une hémisynthèse à partir de catharanthine et de vindoline (Fig. 18) (11).

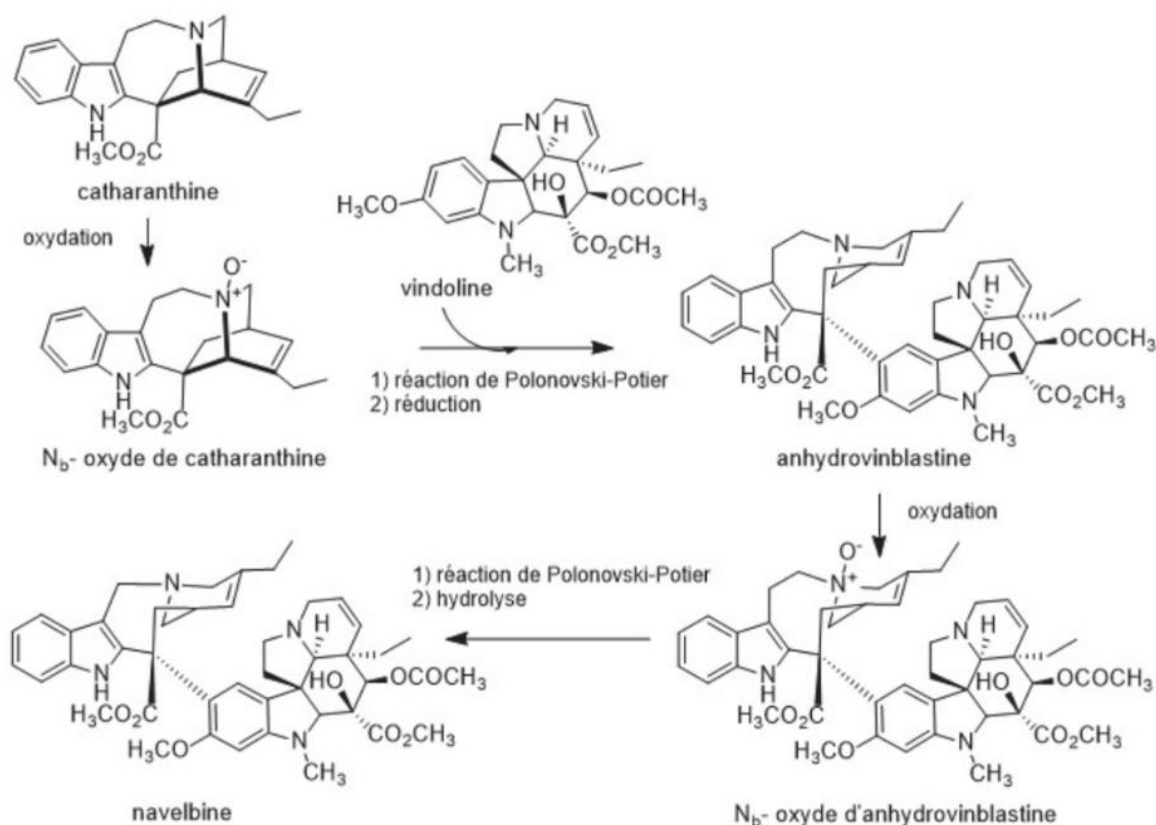


Figure 18: synthèse de la navelbine à partir de catharanthine et de vindoline(11)

La navelbine obtenue a ensuite été confiée, le 22 décembre 1978, à la pharmacie centrale des hôpitaux de Paris afin de réaliser des études pharmacologiques et cliniques. Les essais sur l'Homme avec une première étude de phase I est annoncée en 1981 et c'est à Villejuif à l'Hôpital Paul Brousse qu'ils débutèrent dans le service du cancérologue du Professeur Georges Mathé. Cependant, pour que ces essais puissent se dérouler correctement il était essentiel d'améliorer le rendement qui était de 27% et c'est ce que fit l'équipe de Pierre Potier avec le développement d'une hémisynthèse à partir de la bromo-9' indolénine anhydrovinblastine (Fig. 19) (11).

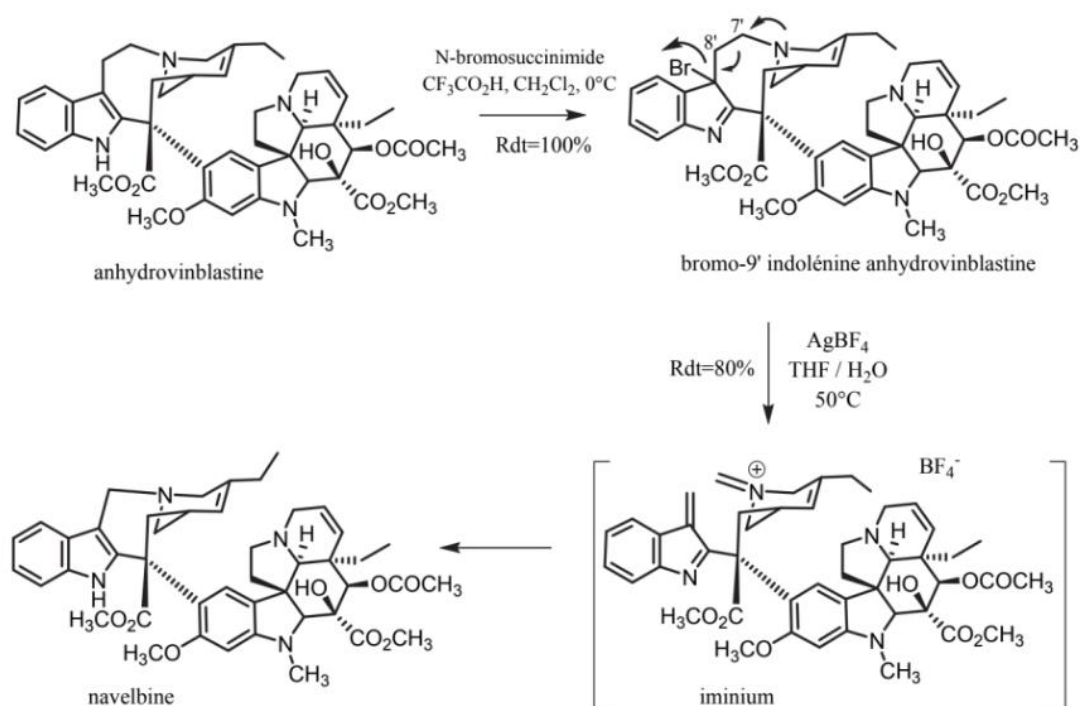


Figure 19: hémisynthèse de la navelbine à partir de la bromo-9' indolénine anhydrovinblastine(11)

Les essais cliniques pouvaient donc se poursuivre et Georges Mathé publia en 1985 les résultats de cette étude de phase I. Il a inclus dans cette étude 20 patients dont 9 atteints d'un carcinome, 10 d'un lymphome et 1 d'une leucémie myéloïde chronique en phase blastique. Ils ont reçu des doses croissantes (3,6 ; 7,2 ; 12 ; 18 ; 32,4 ; 35 ; 43 mg/m²) et hebdomadaires de navelbine. Les principales toxicités retrouvées sont des neutropénies, allergie localisée, dysfonction hépatique transitoire et des neuropathies périphériques réversibles. L'apparition d'une leucopénie entraînait une limitation de la dose. Elle est apparue à partir de 32,4mg/m² et une dose maximale tolérée de 43mg/m². Des réponses mineures induisant une régression inférieure à 50% de la tumeur ont été observées chez des patients atteints d'un lymphome de Hodgkin mais aussi non-hodgkinien. Il recommande une dose de 40mg/m² par semaine pour les essais de phase II (32).

En parallèle de ces essais, il fallait faire appel à un industriel et après plusieurs refus de la part notamment de Rhône-Poulenc, Roussel-Uclaf ou encore de Servier, Pierre Fabre accepta de développer cette molécule à l'échelle industrielle. Un accord est signé en juillet 1982. Ainsi, une partie des chercheurs de l'ICSN est partie à Castres au siège de Pierre Fabre afin de mettre au point la synthèse du médicament à l'échelle industrielle. Différentes études ont été réalisées afin d'obtenir la posologie avec la meilleure efficacité tout en limitant la toxicité. L'autorisation de mise sur le marché (AMM) a été obtenue en 1989, permettant de commercialiser la Navelbine® dans l'indication du cancer du poumon non à petite cellule, puis dans celle du cancer du sein métastatique en 1991 (20).

g) Découverte de la vinflunine

La découverte de nouvelles chimiothérapies ne s'arrête pas là. Jean-Claude Jacquesy, de la faculté des sciences de Poitiers, s'est intéressé à la vindoline en effectuant des travaux pour produire cette molécule par hémisynthèse. Jean-Claude Jacquesy, spécialiste de la chimie en milieu superacide¹, utilisait pour ses recherches un mélange de d'acide fluorhydrique HF et un composé fluoré d'antimoine SbF_5 . L'objectif était de produire de la vindoline présente naturellement en faible quantité dans les feuilles de Pervenche de Madagascar et possédant une structure proche des vinca-alcaloïdes sur le marché. Afin de l'atteindre, il a porté son attention sur un alcaloïde présent dans une autre plante le *Voacanga africana*. Cet alcaloïde s'appelle la tabersonine et il est présent abondamment dans les graines de cet arbre. Il présente un squelette chimique similaire à celui de la vindoline mais certaines fonctions sont différentes. Afin d'obtenir la vindoline, il fallait passer par une oxygénation en position 11 mais la présence de carbone plus réactif mis à mal ces espoirs de synthèse de la vindoline (20).

Jean-Claude Jacquesy décida de poursuivre ses recherches et il étudia la réaction en milieu superacide de la vindoline, la vinblastine, l'anhydrovinblastine et la vinorelbine. Après traitement de la vinorelbine par un super acide, l'acide fluorhydrique et le pentafluorure d'antimoine (HF/SbF_5), il a synthétisé la vinflunine (Fig. 20).

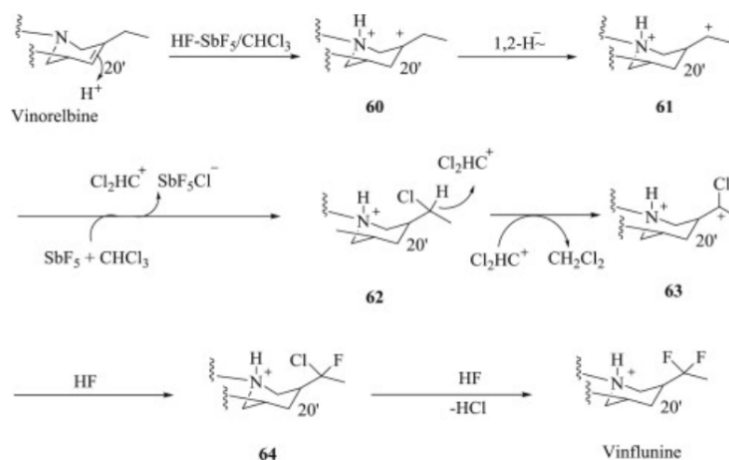


Figure 20: synthèse de la vinflunine à partir de vinorelbine(33)

La vinflunine a été comparée à la vinblastine, vincristine et vinorelbine *in vitro* sur des cellules de leucémie murine L1210. La concentration induisant une inhibition de 50% de la prolifération cellulaire a ainsi été évaluée (Tab. II). La vinflunine a alors montré un potentiel cytotoxique inférieur aux autres (20).

¹ Définition de superacide : « Tout composé ou mélange de composés qui est plus acide que l'acide sulfurique pur ». (20)

	IC ₅₀ nM
Vinblastine	16
Vincristine	16
Vinorelbine	28
Vinflunine	97

Tableau II: concentration (nM) inhibant 50% de la prolifération cellulaire de la leucémie L1210 chez la souris (IC₅₀)(34)

Cependant lors des tests *in vivo* sur leucémie murine P388, la vinflunine a montré une efficacité supérieure par rapport à la vinorelbine mais avec des doses supérieures (Tab. III). Elles ont également été comparées sur 11 tumeurs malignes xénogreffées et la vinflunine a une activité forte ou modérée sur 7² d'entre elles contre 3 pour la vinorelbine. Ces résultats permettent d'élargir les indications (34).

	P388 T/C % (dose : mg/kg)
Vinblastine	143 (5)
Vincristine	143 (1,25)
Vinorelbine	157 (10)
Vinflunine	200 (40)

Tableau III : survie moyenne des souris traitées par rapport aux souris non traitées (en%) en fonction des différentes molécules(34)

Le développement et la commercialisation le 31 décembre 2009 du Javlor® (vinflunine) ont été réalisés par Pierre Fabre en collaboration au départ avec Bristol-Myers Squibb puis seul (Fig. 21). (20)

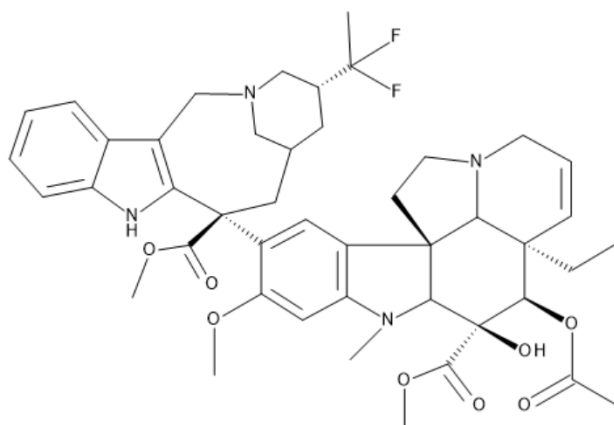


Figure 21 : structure de la vinflunine

² RXF944 rein, NCI-H69 poumon petites cellules, MX1 sein, LX1 poumon petites cellules, TC37 colon, PAXF549 pancréas, PC-3 prostate

4) Indications

A la suite des découvertes vues précédemment, divers traitements ont été développés et mis sur le marché. Dans les tableaux IV et V sont résumées les différentes spécialités commercialisées en France et leurs indications (35).

Spécialité / DCI	Oncovin® / Vincristine	Velbe® / Vinblastine	Eldisine®/ Vindésine
Indications	▪ Cancer bronchopulmonaire à petites cellules ▪ Cancer du col de l'utérus ▪ Cancer du sein ▪ Leucémie aiguë lymphoblastique ▪ Lymphome malin non hodgkinien ▪ Maladie de Hodgkin ▪ Médulloblastome ▪ Mélanome malin ▪ Mycosis fongoïde ▪ Myélome multiple ▪ Néphroblastome ▪ Neuroblastome ▪ Traitement de 2e intention du Purpura thrombopénique idiopathique, ▪ Rétinoblastome ▪ Rhabdomyosarcome ▪ Sarcome d'Ewing ▪ Sarcome des os ▪ Tumeur embryonnaire de l'enfant	▪ Cancer de l'ovaire ▪ Cancer de la vessie ▪ Cancer du rein ▪ Cancer du sein ▪ Cancer du testicule ▪ Choriocarcinome ▪ Histiocytose ▪ Lymphome malin non hodgkinien ▪ Maladie de Hodgkin ▪ Sarcome de Kaposi	▪ Cancer bronchopulmonaire ▪ Cancer de l'oesophage ▪ Cancer du sein ▪ Cancer ORL ▪ Leucémie aiguë lymphoblastique ▪ Lymphome malin non hodgkinien ▪ Maladie de Hodgkin
Modalité d'administration	Intraveineux	Intraveineux	Intraveineux

Tableau IV: indications des spécialités Oncovin®, Velbe® et Eldisine® en France(35)

Spécialité / DCI	Navelbine®/Vinorelbine	Javlor®/vinflunine
Indications	Par voie IV : ▪ Traitement adjuvant du cancer bronchopulmonaire non à petites cellules, ▪ Cancer du sein métastatique ▪ Cancer bronchique non à petite cellule localement avancé ou métastatique Par voie orale : ▪ Cancer bronchopulmonaire non à petites cellules ▪ Cancer du sein localement avancé ▪ Cancer du sein métastatique	▪ Traitement de deuxième intention du cancer de la vessie avancée ou métastatique
Modalité d'administration	Intraveineux / voie orale	Intraveineux

Tableau V : indications des spécialités Navelbine® et Javlor® en France(35)

Les découvertes réalisées par Pierre Potier et son équipe ne se sont pas arrêtées là puisqu'ils ont participé aux recherches de nouvelles chimiothérapies à partir de la plante qui va suivre.

III. *Taxus baccata* et *Taxus brevifolia*

1) Description de *Taxus baccata* et *Taxus brevifolia*

a) Taxonomie

Taxus baccata :

Règne	Plantae
Sous-règne	Viridaeplantae
Classe	Pinopsida
Sous-classe	Cupressidae
Ordre	Cupressales
Famille	Taxaceae
Genre	<i>Taxus</i>
Espèces	<i>Baccata</i>

Tableau VI : Taxonomie de *Taxus baccata*(36)

Noms vernaculaires : if à baies, if commun, if récurvé, if fastigié, if à baies fastigié, if dressé, Canada yew (anglais) (36).

Taxus brevifolia :

Règne	Plantae
Sous-règne	Viridaeplantae
Classe	Pinopsida
Sous-classe	Cupressidae
Ordre	Cupressales
Famille	Taxaceae
Genre	<i>Taxus</i>
Espèces	<i>Brevifolia</i>

Tableau VII : Taxonomie de *Taxus brevifolia*

Noms vernaculaires : if du Pacifique, if de l'Ouest (36).

b) Morphologie

Taxus baccata :

Taxus baccata est une gymnosperme mesurant en moyenne 20 mètres. Le tronc est cannelé et asymétrique avec de nombreuses tiges. Les branches sont longues et ne sont pas verticillées. Les rameaux quant à eux sont verts et alternent irrégulièrement.

L'écorce est mince, écailleuse avec une surface externe rugueuse et irrégulière, de couleur brun rougeâtre. Le bois est dur, lourd et flexible avec une densité particulièrement élevée pour un gymnosperme. Les feuilles sont en forme d'aiguilles aplaties sur 2 rangées et font 1 à 3 cm de long et 2 à 3 mm de large.

Les bourgeons de cet If sont petits avec des écailles brun foncé, arrondies et imbriquées. Celles-ci se déploient et restent à la base de la pousse qui croît, puis persistent sous la forme d'une écaille sèche et brunâtre.

Si une branche tombe sur le sol, celle-ci peut produire des racines adventives et survivre en l'absence du tronc principal (37).

C'est un arbre dioïque qui fleurit au début du printemps, sous forme de petits cônes globuleux à la face inférieure du rameau pour les pieds mâles et de petits bourgeons correspondant à un ovule nu pour les pieds femelles. En automne, la graine mûre est entourée d'un arille rouge qui est consommé par les volatiles entraînant une dispersion de la graine (Fig. 22).

L'ensemble de l'arbre est toxique, seul l'arille ne l'est pas (38).

Plante entière	Les feuilles
	
Fleurs mâles	Fleurs femelles
	
Fruit	Ecorce
	

Figure 22 : description de *Taxus baccata* (39)

Taxus brevifolia :

Taxus brevifolia est un grand arbuste dioïque pouvant mesurer jusqu'à 15 mètres de haut et 60 centimètres de diamètre pour le tronc. Les feuilles en forme d'aiguille sont souples, vertes et persistantes. Elles mesurent 1 à 3 millimètres de large et 8 à 35 millimètres de long avec un pétiole de 1 millimètre. L'écorce est écailleuse de couleur rouge-violet. Les graines sont ovoïdes et mesurent 5 à 6,5 millimètres de diamètre et elles sont entourées comme l'if commun d'une arille rouge vif. Le fruit apparaît entre la fin de l'été et l'automne (40).

Les arbustes mâles ont des strobiles de couleur jaunâtre sur la face inférieure des rameaux. Ils sont composés de 6 à 12 étamines, chacune portant 5 à 9 anthères. La pollinisation est anémophile. Les arbustes femelles ont quant à eux des petits strobiles verts également présents sur la face inférieure des rameaux, mais sont moins nombreux que les mâles. Le bois est dur et lourd avec le cœur qui est rouge brunâtre et l'aubier est blanc jaunâtre (Fig. 23) (41).

Plante entière	Feuilles
	
Strobile mâle	Strobile femelle
	
Fruit	Ecorce
	

Figure 23 : description de *Taxus brevifolia*(42)

La toxicité des ifs est liée à la présence de taxine et elle dépend de la partie consommée. S'il s'agit de la graine, on retrouve des nausées, vomissements, diarrhées, des troubles neurologiques mineurs et rarement des troubles cardiaques. Si ce sont les feuilles qui sont consommées, il y a une première phase avec des troubles digestifs, des tremblements, une faiblesse musculaire, une mydriase, des vertiges ainsi que des taches ecchymotiques. Cette phase est ensuite suivie d'une dyspnée, d'une bradycardie, de troubles du rythme et d'une hypotension. Puis un risque de coma et de collapsus (43).

c) Distribution géographique

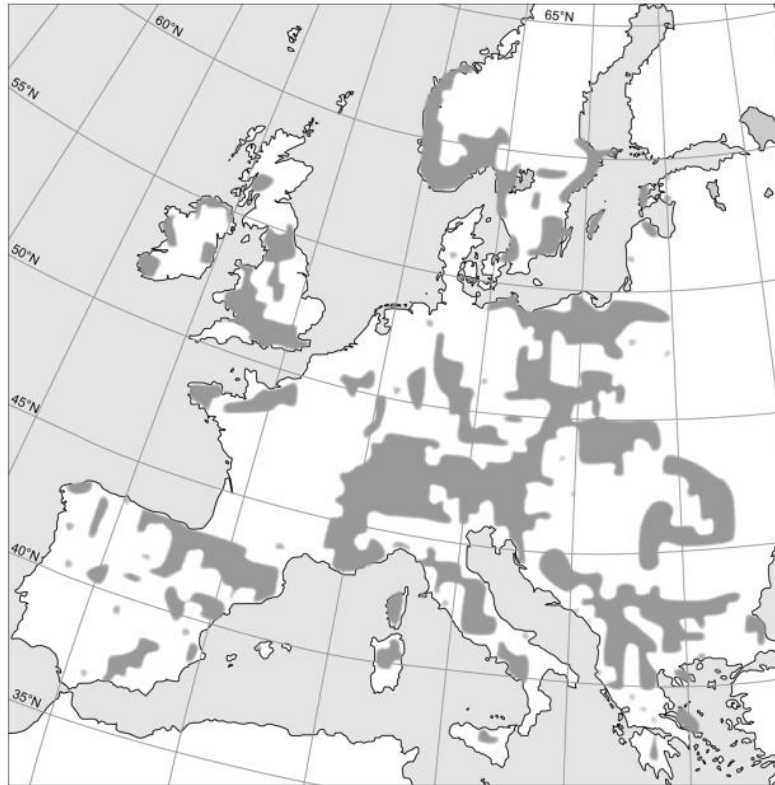


Fig. 3. – Carte de répartition actuelle de l'if (*Taxus baccata* L.) en Europe occidentale (en grisé).
Carte simplifiée, tirée de l'*Atlas Florae Europaeae*, Finnish Museum of Natural History, Université de Helsinki.

Figure 24 : Répartition en Europe de l'ouest de *Taxus baccata*(44)

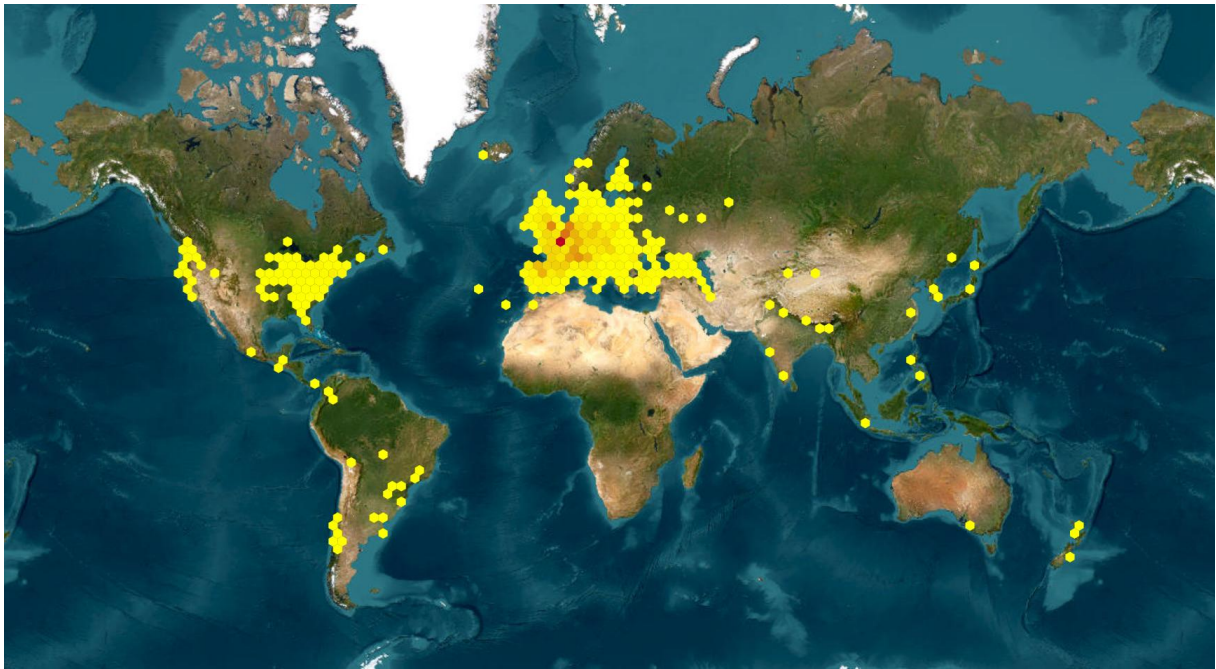


Figure 25 : Répartition mondiale de *Taxus baccata*(45)

L'if commun pousse principalement en Europe centrale et occidentale, mais se trouve également en Amérique et en Asie (Fig. 24 et 25). Il pousse à basse altitude autant qu'en montagne jusqu'à 1600 mètres d'altitude. Effectivement, on le retrouve notamment en Inde du côté de l'Himalaya. Un climat océanique humide et frais est propice à son développement, ce qui n'est pas le cas d'un hiver ou d'une sécheresse prolongée. C'est un arbre qui supporte très bien l'ombre et apprécie les sols calcaires et riches. Grâce à ses racines fasciculées, il peut pousser sur des sols en pente, mal stabilisés et d'affleurement rocheux (44,46).

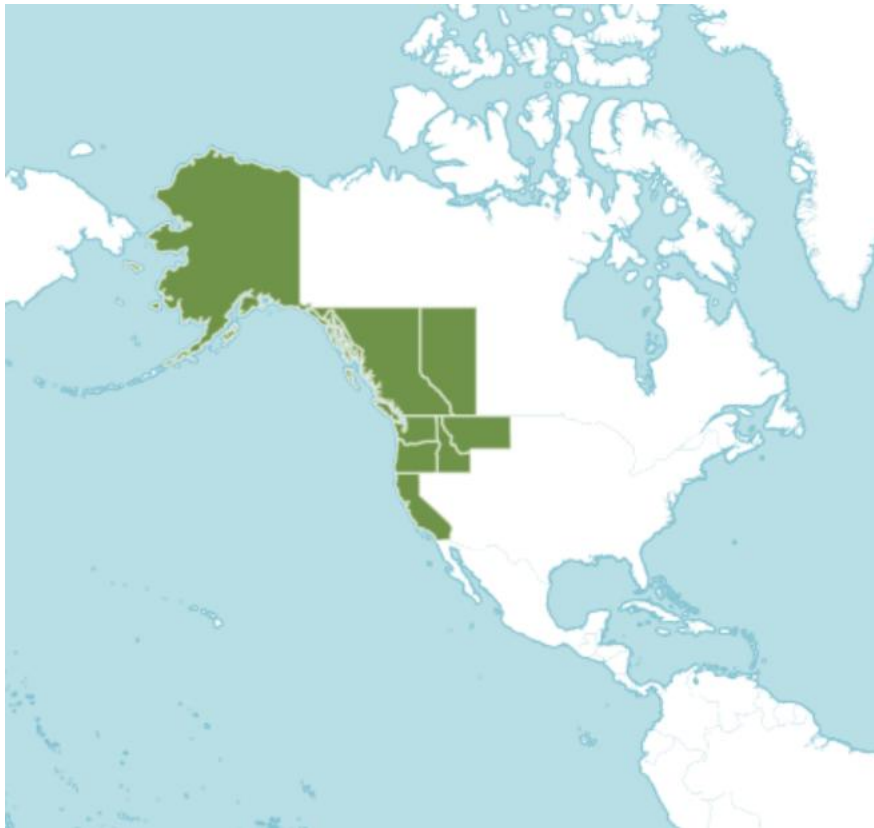


Figure 26: distribution géographique de *Taxus brevifolia*(47)

Taxus brevifolia est originaire d'Amérique du Nord et plus précisément au niveau de la côte Ouest des Etats-Unis, du Canada et dans le sud de l'Alaska (Fig. 26). Il est présent dans les forêts en sous-étage, au bord des cours d'eau ou encore en altitude jusqu'à 2000 mètres (48). Il se développe dans des régions où les températures et le degré d'humidité sont très différents. Dans certaines zones, il peut y avoir en moyenne 500 millimètres de précipitations contre 1 400 à 4 000 millimètres dans d'autres. Il se développe sur des sols profonds, humides, riches ou rocheux (41).

2) Ethnopharmacologie

Les premières traces d'exploitation de ces arbustes remontent à la préhistoire où ils étaient utilisés potentiellement pour la chasse en tant que poison mais aussi pour fabriquer des armes et des outils grâce à leur bois de très bonne qualité (44). Des outils comme des manches de hache, des bâtons pour creuser ou encore des ustensiles de cuisine datant du néolithique ont notamment été retrouvés dans le nord de la Catalogne (Fig. 27) (49). L'If du Pacifique était utilisé par les peuples autochtones du Nord-Ouest de l'Amérique pour fabriquer des harpons, des époussettes et des lances pour la pêche (40).

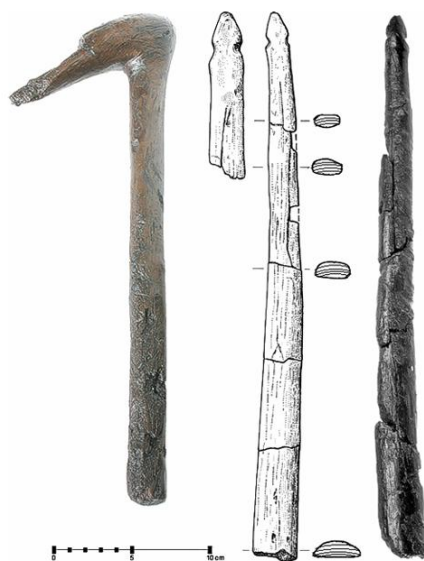


Figure 27 : batteur et arc datant du Néolithique retrouvés à Gérone en Espagne(49)

Durant l'Antiquité, Pline prévient les vignerons de ne pas utiliser de tonneaux fabriqués en bois d'If pour leur vin. Dans son ouvrage « les commentaires sur la guerre des Gaules » Jules César raconte le suicide de Catuvolcos, co-roi des Eburons avec Ambiorix. Catuvolcos s'empoisonna avec de l'if pour ne pas faire face à la honte de sa captivité suite à une attaque déclenchée contre les romains (6,50).

Le bois d'if a été exploité pour la fabrication des armes utilisées par les archers anglais lors de la guerre de cent ans. Il aurait contribué à leur réussite face aux français. Cette utilisation pour la fabrication d'armes lui donnera le surnom « d'arbre de la guerre » (11).

Taxus baccata est utilisé traditionnellement en Inde pour traiter l'asthme, les maux de tête, l'épilepsie, les morsures de serpents, les piqures de scorpions, le diabète ou encore pour induire la transpiration ou comme aphrodisiaque (46). Dans l'est de l'Europe, comme l'Ukraine ou la Pologne, il était indiqué dans le traitement contre la rage. Les habitants utilisaient l'écorce et les feuilles mais, afin de bénéficier de leurs bienfaits, ils ont développé des méthodes pour tenter de diminuer la toxicité. Ils faisaient notamment bouillir dans de l'eau ou encore dans un mélange de lait, miel, ghee et jaggery pendant plusieurs heures. Une autre méthode consistait à les faire fermenter ou sécher au soleil. En Espagne la pulpe de l'arille était transformée en sirop pour traiter les affections pulmonaires (51).

Taxus baccata est utilisée en médecine traditionnelle contre le diabète dans la région d'Al Haouz-Rhamna au Maroc. Dans ce pays, où le diabète touche 7,81% des habitants et où les traitements sont onéreux et compliqués d'accès pour certains, l'usage traditionnel de plantes tient une place importante. L'if en fait partie et il est administré après avoir réalisé une décoction des racines (lavées et pulvérisées), à raison d'une cuillère à café dans un verre d'eau une fois par jour (52).

Son utilisation en tant que poison a inspiré de grands écrivains comme Shakespeare dans « Macbeth » et Agatha Christie avec « A pocket full of rye » (11).

Taxus brevifolia est utilisé par des peuples indigènes comme les Chehalis³ qui mettent dans l'eau des feuilles écrasées afin d'améliorer la santé des enfants et des personnes âgées en les faisant transpirer. Les Klallams⁴ les mettent également dans l'eau mais ils font bouillir l'eau pour ensuite la consommer afin de guérir des blessures ou douleurs internes. Les Cowlitz⁵ broient les feuilles humidifiées pour guérir les plaies. Enfin les Quinaults⁶ exploitent l'écorce en la faisant sécher puis bouillir pour boire le liquide infusé, dans l'objectif de guérir les affections bronchiques (40).

L'image de ces arbres est fortement reliée à la mort et c'est ainsi qu'on les retrouve dans des cimetières, des sites funéraires et sacrés.

3) Histoire de la découverte

a) La découverte du taxol

La première découverte du taxol date de 1967 aux Etats-Unis en Caroline du Nord par Mansukh Wani et Monroe Wall. Tout commence en 1957 par la mise en place d'un programme de recherche de nouveaux traitements antitumoraux dans le règne végétal lancé par Jonathan L. Hartwell du National Cancer Institute (NCI) en collaboration avec le « United States Department of Agriculture ». Ces deux chercheurs du « Research Triangle Institute » ont découvert cette substance dans l'écorce de l'if du Pacifique, récoltée en 1962 dans la forêt Guifford Pinchot de l'Etat de Washington par le botaniste Arthur Barclay (11,20).

L'extraction de la substance active a été mise au point grâce à une extraction à l'éthanol puis une distribution à contre-courant de Craig (Fig. 28 et 29). Cette technique de purification de mélanges a été inventée par Lyman C. Craig. Elle se base sur la répartition des différents composés entre deux solvants non miscibles. Chaque composé se répartit en fonction de son coefficient de partage et ceci est réalisé sur une série de tubes sans risques d'endommager les molécules fragiles (53).

Seulement 0,5g de taxol ont pu être isolé à partir de 12kg d'écorce d'if. Plus la purification augmente et plus le rapport T/C diminue, c'est-à-dire le poids tumoral moyen des animaux traités par rapport à celui des témoins. Ce composé isolé qu'ils nommèrent « Taxol » présentait chez les rongeurs une activité particulièrement élevée sur le mélanome B16 qui est une lignée cellulaire murine utilisée pour la recherche sur les cancers de la peau (53).

³ Peuple amérindien de l'Etat de Washington

⁴ Peuple amérindien de la région de Vancouver

⁵ Peuple amérindien de l'ouest de l'Etat de Washington

⁶ Peuple amérindien de l'ouest de l'Etat de Washington

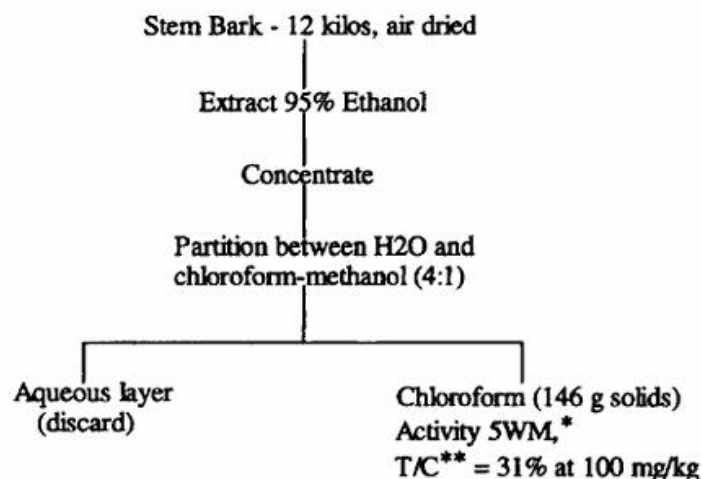


Figure 28 : extraction du taxol à partir de *Taxus brevifolia*(53)

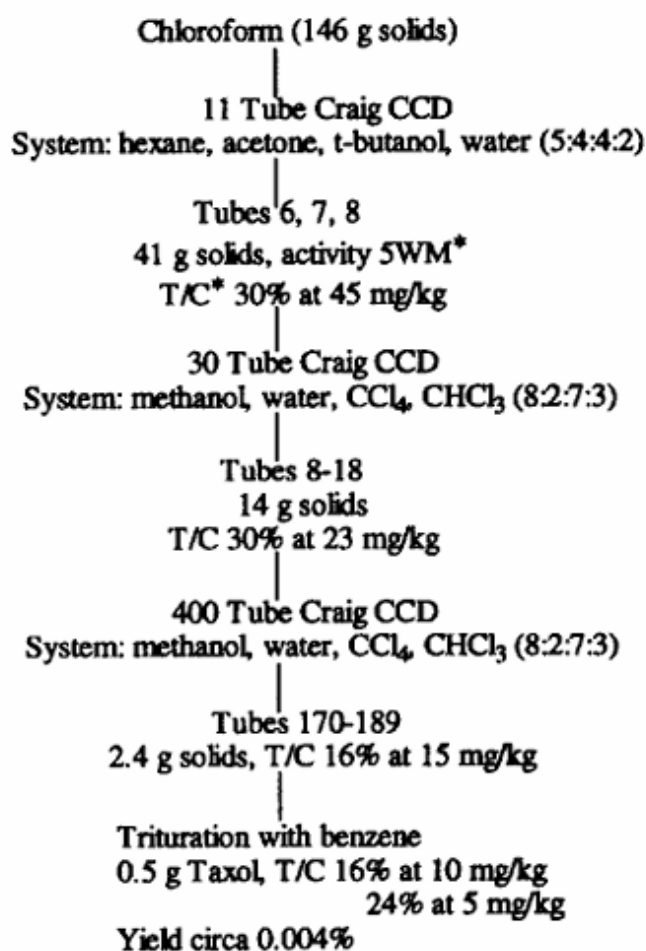


Figure 29 : Purification de l'extrait chloroformique(53)

Les chercheurs utilisèrent la méthanolyse afin de pouvoir déterminer la structure de la molécule aux rayons X. La méthanolyse est une réaction chimique où une molécule est clivée par du méthanol entraînant des ruptures de liaisons esters. Cette méthode a permis de séparer la

molécule en deux parties : un ester méthylique de la N-benzoyl- β -phénylisorésine et un tétraol (désacétyl-10 baccatine III). Le premier a été transformé en parabromobenzoate et le second en bis-iodoacétate afin qu'ils puissent être analysés aux rayons X. Il ne restait plus qu'à retrouver d'où provenait l'ester (en C7 ou en C13) et pour cela ils ont réalisé une oxydation du taxol en milieu légèrement basique. Ils ont obtenu un analogue de la baccatine III oxydé en position 13. En le comparant aux structures cristallographiques des deux éléments obtenus par méthanolyse, ils ont pu démontrer qu'il était porté sur le groupement hydroxyle en C13. La structure a ainsi été déterminée en 1971 (Fig. 30) (53).

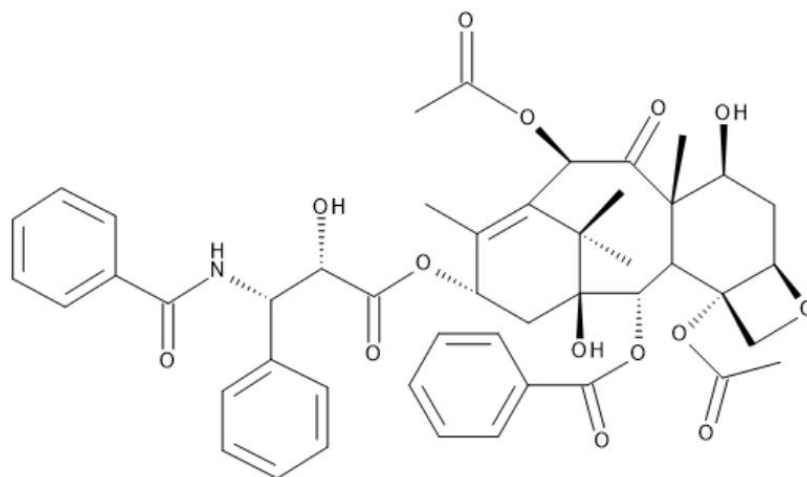


Figure 30 : Structure du paclitaxel (taxol)

Une problématique a interféré avec l'avancée de leurs recherches : un problème d'approvisionnement. En effet, il y a un faible pourcentage de taxol présent dans l'écorce de *Taxus brevifolia* seulement 0,02% et la récupération de la matière première source de cette molécule entraîne la mort de l'arbre. Un tel rendement a donc entraîné la fin des recherches en 1971 qui ont tout de même permis d'isoler le taxol (DCI : paclitaxel), de décrire sa structure et ses propriétés. De plus, sa faible solubilité compliquait l'administration du traitement aux patients.

b) Détermination du mécanisme d'action du taxol

En 1979, les études ont repris grâce à Susan Horwitz, chercheuse au Albert Einstein Institute de New York, qui a découvert le mécanisme d'action du taxol. Après avoir eu connaissance de l'activité antitumorale du taxol suite aux études publiées par Mansukh Wani, Susan Horwitz se pencha sur cette molécule. Elle la testa *in vitro* sur des microtubules issus de cerveaux de veaux ainsi que sur des cellules HeLa qui sont une lignée de cellules cancéreuses. L'assemblage des microtubules a pu être étudié en suivant la turbidité et la taille a été évaluée grâce à la microscopie électronique. A de faibles concentrations (0,25 μ M) le taxol inhibe la multiplication des cellules HeLa et il favorise l'assemblage des microtubules mais inhibe leur dépolymérisation. En présence de 10 μ M de taxol, la taille des microtubules assemblées est inférieure à celle du témoin (en moyenne 1,49 μ m contre 4,12 μ m pour les témoins). Concernant

le désassemblage des microtubules, les échantillons traités par 5 μM de taxol étaient partiellement résistants et, avec 10 μM , ils étaient complètement résistants à la dépolymérisation (Fig. 31) (54).

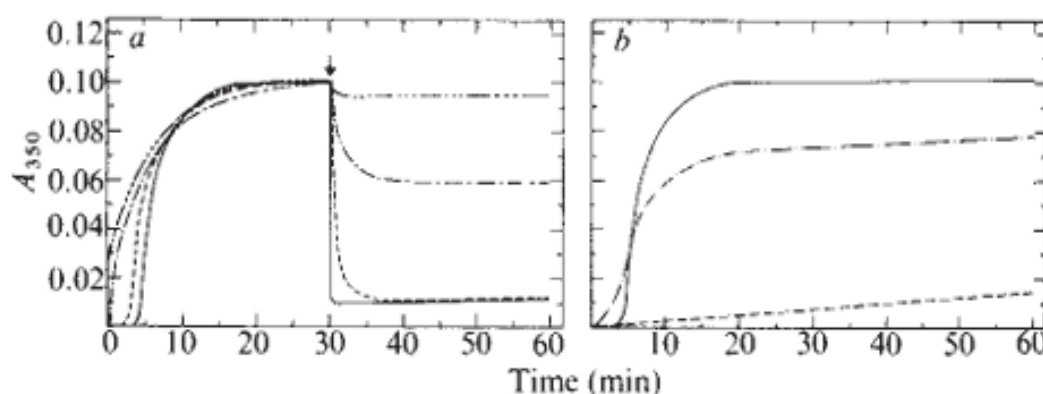


Figure 31 : dépolymérisation des microtubules par du CaCl_2 (a) et polymérisation (b) en présence de concentrations variables en Taxol en fonction du temps. (54)

Légende du graphique a :

- (—) : absence de taxol
- (---) : 0,1 μM de taxol
- (- · -) : 5 μM de taxol
- (- · · · -) : 10 μM de taxol

Légende du graphique b :

- (—) : absence de taxol
- (- · -) : 5 μM de taxol
- (---) : 4 mM de CaCl_2

En résumé, le taxol possède une action antimitotique différente de la colchicine ou encore de la vinblastine car celui-ci va favoriser la polymérisation de la tubuline en microtubule mais va inhiber le désassemblage des microtubules en tubuline. À la suite d'essais cliniques sur l'Homme, l'intérêt pour cette plante était grandissant, mais la problématique de départ était toujours la même. Afin d'illustrer celle-ci, il fallait abattre six arbres centenaires pour obtenir deux grammes de taxol. Bruce Chabner, chercheur au NCI dans la « Division of cancer treatment », estimait la nécessité d'abattre 36 000 ifs pour traiter 20 000 patients (20).

c) *Taxus baccata* et le 10-DAB III

Il faudra attendre 1980, pour qu'une solution fruit du hasard soit découverte à Gif-sur-Yvette à l'ICSN⁷. Fin 1979, la ville de Gif-sur-Yvette décidait d'abattre plusieurs ifs européens (*Taxus baccata*) sur le campus du CNRS afin de construire une route. Ayant eu connaissance des découvertes faites un peu plus tôt sur l'if du Pacifique, les chimistes du CNRS menés par Pierre Potier s'intéressèrent à ces ifs. Daniel Guénard spécialiste du test « tubuline » demanda à récupérer les différentes parties de l'arbre afin de les étudier dans l'espoir de trouver du taxol ou une molécule qui s'en rapprocherait. Mais, pour appliquer ce test à l'if, il était nécessaire d'apporter quelques modifications étant donné une différence de mécanisme d'action par rapport aux alcaloïdes de la Pervenche. Le taxol va augmenter la vitesse d'assemblage des microtubules puis il stabilise le microtubule et on observe alors une diminution de la vitesse de désassemblage (Fig. 32) (11).

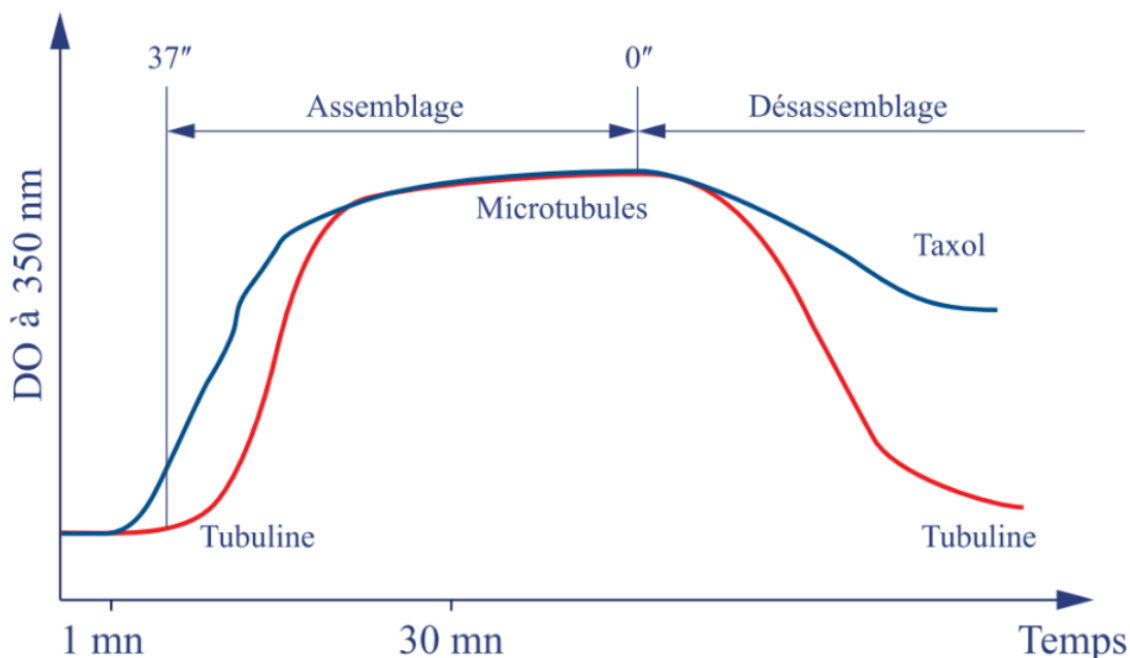


Figure 32 : action du taxol sur l'assemblage et le désassemblage de la tubuline en microtubule in vitro(11)

Daniel Guénard mis au point une extraction à l'éthanol sur les feuilles et sur l'écorce de *Taxus baccata*. Les extraits étaient tous actifs et il se pencha plus particulièrement sur l'extrait obtenu à partir des feuilles car c'était une activité inédite sur des extraits provenant de feuilles d'If. A partir de 1 kilogramme de feuilles sèches ils ont obtenu 200 milligrammes de cet extrait et cette extraction sera améliorée plus tard à 1 gramme pour 1 kilogramme de feuilles fraîches. Des méthodes de chromatographie ont été appliquées sur cet extrait afin d'obtenir un composé dont la structure a été déterminée par spectrométrie de masse et RMN. Ce fameux extrait s'est révélé être la désacétyl-10 baccatine III (10-DAB III), la même molécule obtenue après méthanolyse du taxol. Cette découverte a été un réel tournant puisque les feuilles peuvent être récoltées sans avoir à abattre l'arbre faisant d'elles une source renouvelable. De plus, cette molécule pourrait servir à une hémisynthèse du taxol (6,11,55).

⁷ Institut de chimie des substances naturelles (laboratoire du CNRS)

La 10-DAB III présente une structure similaire à celle du taxol mais il lui manque l'acétyl au carbone 10 et la chaîne latérale essentielle à son activité antimitotique.

Les premières expériences sur le désacétyl-10 baccatine III menées par Véronique Sénilh étaient centrées sur la réactivité des groupements hydroxyles lors de son acétylation par l'anhydride acétique. La molécule est composée de quatre hydroxyles en position 1, 7, 10 et 13. Celui qui est en position 1 est peu réactif. Lors de l'expérience, l'hydroxyle en position 13 était bien moins réactif que les deux autres. Il fallait donc protéger les hydroxyles en position 7 et 10 avant d'estérifier en position 13 par l'acide de la chaîne latérale du taxol. Afin de protéger ces deux hydroxyles, ils ont choisi le trichloroethyloxycarbonyl (TROC) donnant comme intermédiaire le ditroc-7,10 désacétyl-10 baccatine III. La déprotection est effectuée par le zinc dans le méthanol ou dans l'acide acétique (Fig. 33) (11,56).

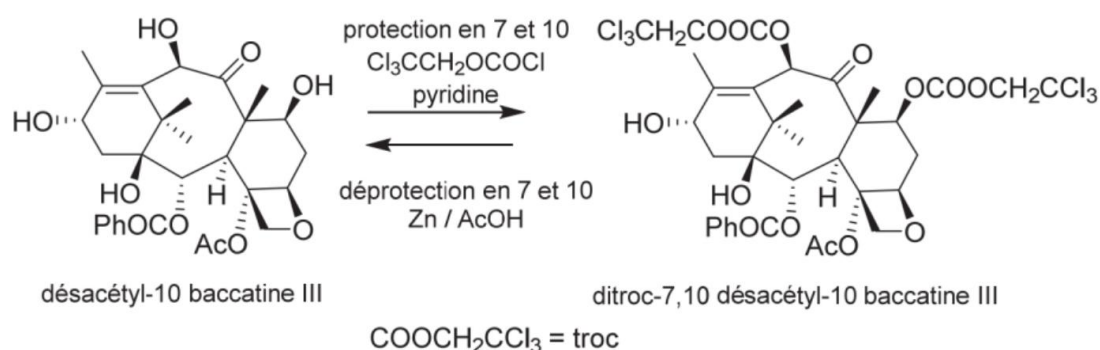


Figure 33 : Protection de la désacétyl-10 baccatine III par le TROC(11)

Afin d'estérifier l'hydroxyle porté sur le carbone 13, ils ont utilisé le chlorure de l'acide cinnamique en présence de dicyclohexylcarbodiimide en tant qu'agent de couplage et la 4-diméthylaminopyridine afin de catalyser la réaction (Fig. 34) (11,56).

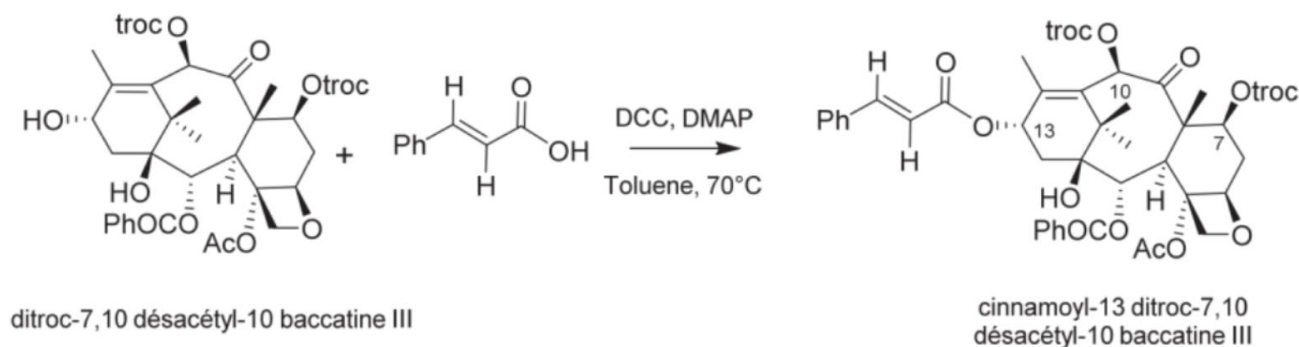


Figure 34 : estérification du ditroc-7,10 désacétyl-10 baccatine III avec l'acide cinnamique(11)

La prochaine étape consiste en une hydroxyamination de l'ester cinnamique. En octobre 1984, Françoise Guéritte utilisa le sel de sodium de N-chlorocarbamate de tert-butyle en présence d'un catalyseur le tétraoxyde d'osmium. Quatre produits ont ainsi été obtenus (Fig. 35).

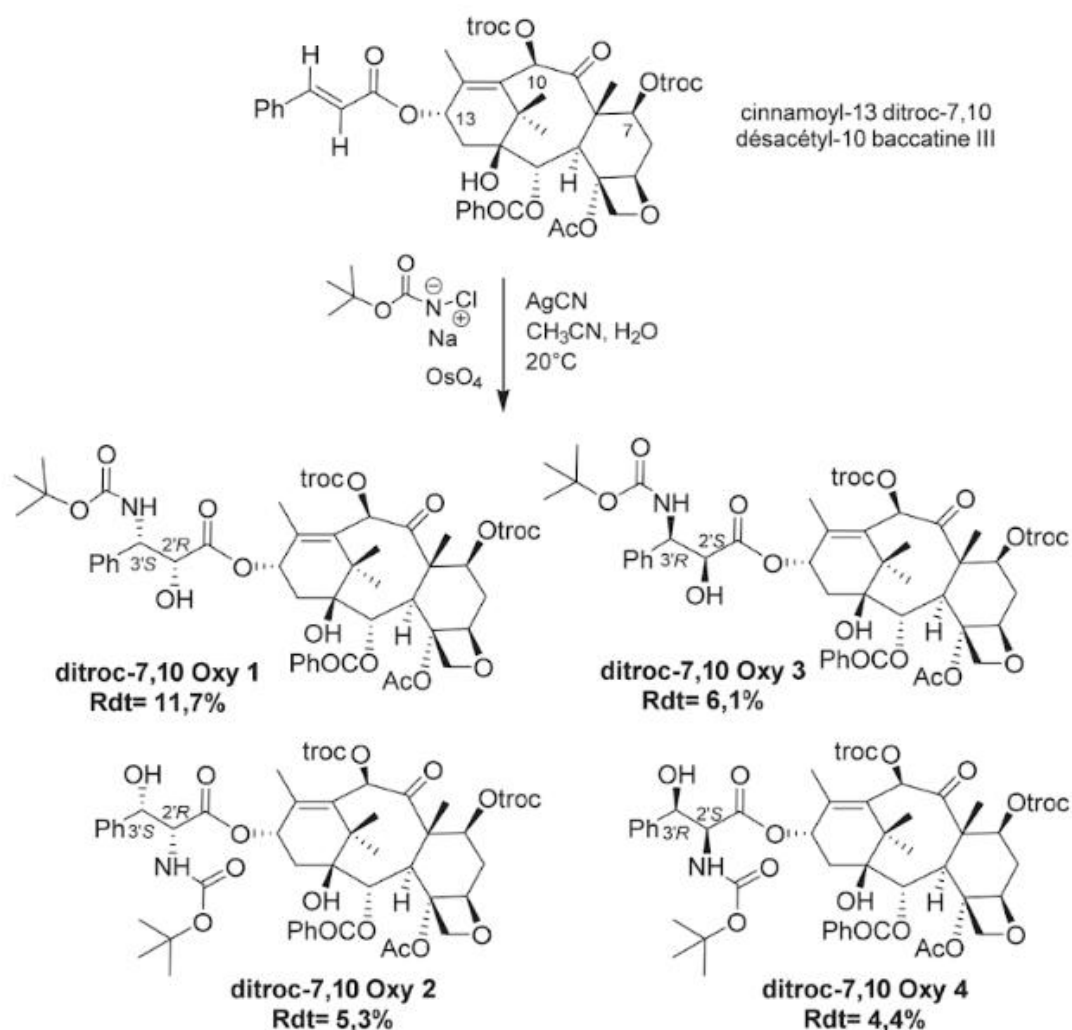


Figure 35 : Hydroxyamination de l'ester cinnamique en présence de sel de sodium de *N*-chlorocarbamate de *tert*-butyle(11)

En testant leur activité respective sur la tubuline après déprotection du groupement TROC l'un d'entre eux, l'oxy 1, se fit remarquer par son action inhibitrice supérieure à celle du taxol. Leurs structures ont été élucidées par RMN du proton et du carbone 13. L'oxy 1 a la même configuration $2'R$ $3'S$ au niveau de la chaîne latérale que le taxol.

Le ditroc-7,10 oxy1 est transformé en dérivé 3-aminoalcool par action de l'iodotriméthylsilane puis elle l'a fait réagir avec du chlorure de benzoyle avant d'utiliser le zinc pour le déprotéger. Elle a ainsi obtenu le désacetyl-10 taxol (Fig. 36). Ce procédé a été élargi au taxol. En 1986, Rhone-Poulenc dépose un brevet sur cette découverte.

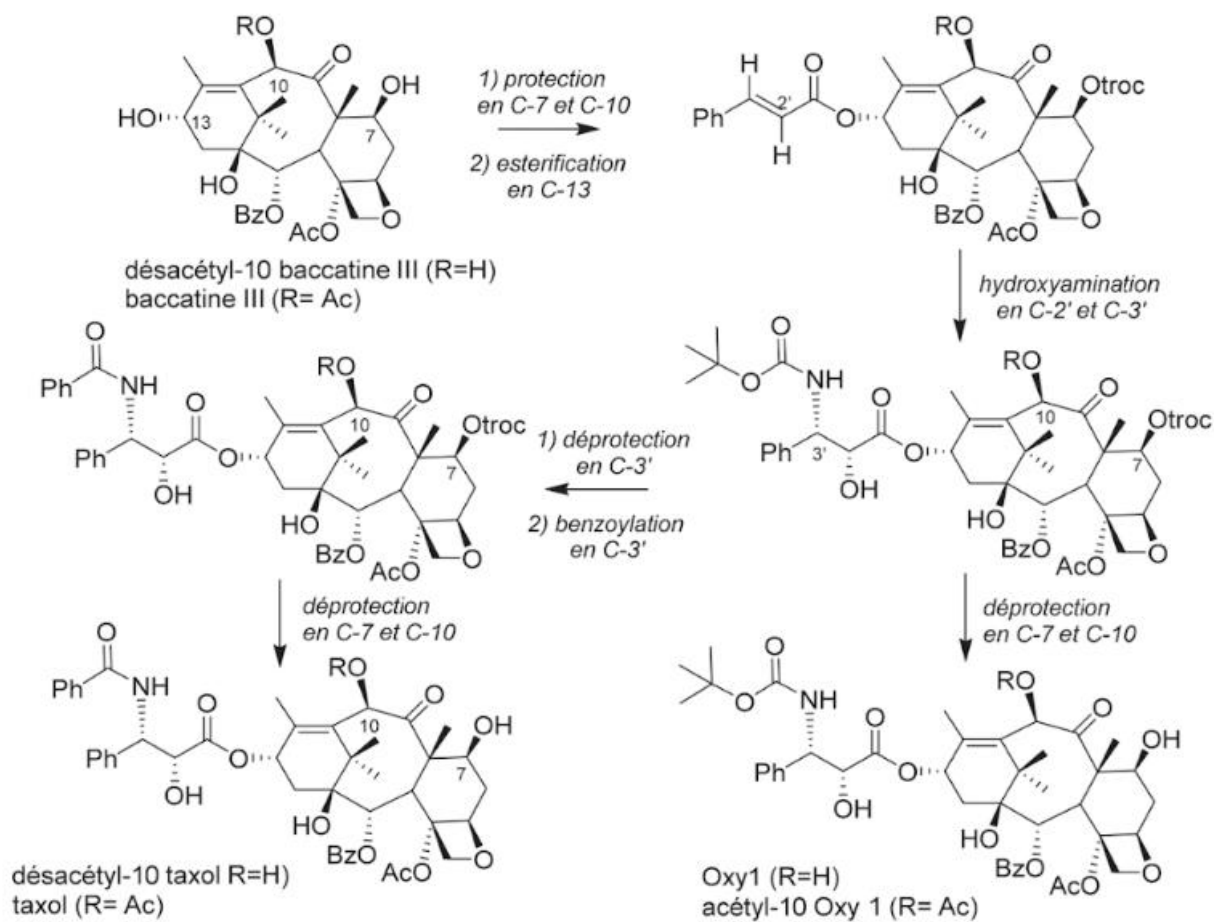


Figure 36 : Hémisynthèse du taxol, du désacétyl-10 taxol, de l'Oxy1 et de l'acétyl-10 oxy 1(11)

Ils ont ainsi découvert un précurseur pour l'hémisynthèse du taxol et un nouveau composé avec une activité encore plus importante. A noter que cette hémisynthèse du taxol ne peut pas être appliquée à grande échelle en raison de la faible concentration de son précurseur dans les feuilles de *T. baccata*. Une nouvelle stratégie vit alors le jour : l'hémisynthèse convergente par couplage de la baccatine III protégée en position 7 avec la chaîne latérale du taxol. La première équipe à expérimenter cela était celle de Pierre Potier et Andrew Greene qui réussirent et publièrent leur résultat en 1988. Mais c'est bien Robert A. Holton et son couplage de la baccatine III protégée avec un bêta-lactame et une oxazinone qui fut choisi en 1993 par Bristol-Myers Squibb pour la production à échelle industrielle du Taxol (Fig. 37). Bien sûr l'article de Pierre Potier et Andrew Greene a participé à la découverte de Robert A. Holton (11).

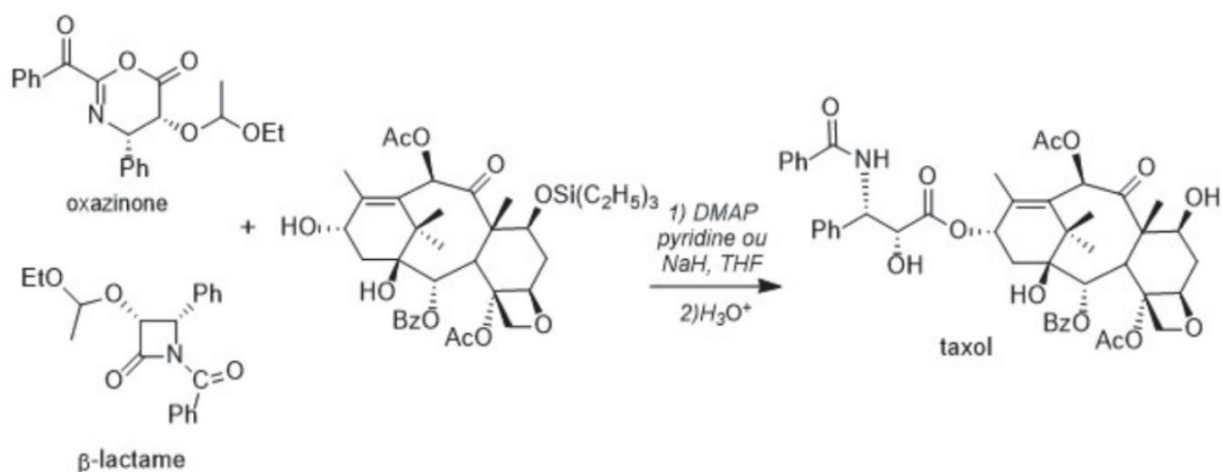


Figure 37: hémisynthèse convergente du taxol par Robert A. Holton(11)

A partir de 1989, Bristol-Myers Squibb collabore avec le NCI pour développer le taxol. Son utilisation est approuvée par la FDA en 1992 dans le cancer réfractaire de l’ovaire puis dans le cancer du sein en 1994. Le taxol obtient une AMM en 1993 en France et est commercialisé sous le nom de Taxol® ; la DCI est le paclitaxel (11,57).

d) Développement du Taxotère®

Concernant l’Oxy 1 qui montrait une très bonne action inhibitrice, il a continué d’être étudié par Pierre Potier en 1986 en collaboration avec François Lavelle responsable de la recherche de traitements anti-cancéreux chez Rhône-Poulenc. Les essais *in vitro* sur des cellules leucémiques murines P388 ont montré une concentration inhibant plus de 50% de la prolifération deux fois plus faible que le taxol. Ces résultats traduisent une action inhibitrice supérieure à celle du taxol (Fig. 38) (58).

Table III. Cytotoxicity of Taxol Analogues

compd	P388 ^a		
	IC ₅₀	IC ₅₀ /IC ₅₀ (13a) ^b	ID ₅₀ /ID ₅₀ (13a) ^c
taxol (1)	0.27	2	2
taxotere (13a)	0.13	1	1
13b	>10	>77	60
13c	4	31	20
16a	0.17	1.3	1
17b	7	54	9
17c	6	46	20
21	>4	>31	11
24	0.19	1.5	1.4
25	0.12	1	2

Figure 38 : comparaison de l'IC₅₀ (μg/mL) du taxol, taxotère et des analogues sur des cellules leucémiques murines P388 (54)

Les premiers essais *in vivo* ont ainsi été réalisés sur des souris porteuses de leucémies L1210 et P388. L'oxy 1 (nommé 56 976 RP dans cet essai) a été comparé au taxol et à la daunorubicine (Fig. 39) (106,107).

L'inhibition de la croissance tumorale de l'oxy 1 s'est révélée supérieure à celle du taxol.

FLA/FC/86/517

TABLEAU 2

Réf. Essai : 1058

Tumeur : P388

Greffe : 10⁶ cell i.p.

Voie de traitement : i.p.

Séquence des traitements : +1,+2,+3,+4

Souris utilisées : B6D2F1

Durée d'observation : 63 jours

Mode d'administration : solubilisation
éthanol, emulphor, sérum physiologique
(1/1/18)

Code R.P.	Doses (mg/kg)	Variations pondérales j 8 - j 0 (g)	Toxicity	Activité T/C X 100 (%)
13 057 R.P. (daunorubicine)	1	+ 0,8	-	153
48 725 R.P. (taxol)	10	- 0,5	-	133
	5	+ 1,3	-	125
	2,5	+ 0,2	-	136
	1,25	+ 1,7	-	118
	0,625	+ 0,4	-	118
	0,312	+ 2,0	-	116
56 976 R.P. (FG 1392)	10	- 1,7	+/-	199(3v/5)
	5	+ 0,4	-	218(1v/5)
	2,5	+ 1,0	-	200
	1,25	+ 0,7	-	160
	0,625	- 0,4	-	142
	0,312	+ 0,8	-	139

REMARQUES : légère chute de poids à 10 mg/kg 56 976 R.P.

Figure 39: extrait des résultats obtenus de l'oxy 1 en comparaison à la daunorubicine et le taxol chez des souris greffées d'une tumeur P388. Résultats envoyés par François Lavelle à l'équipe de l'ICSN. (11)

T/C correspond à l'inhibition de la croissance tumorale avec T correspondant aux souris traitées et C aux souris non traitées.

Après avoir laissé passer la Navelbine®, Rhône-Poulenc ne commit pas la même erreur pour le Taxotère® et François Lavelle, directeur du pôle de cancérologie, s'est engagé entièrement dans les recherches. Plusieurs millions de Francs ont été investis pour approfondir les études (6).

Les résultats étant très prometteurs, il fallait maintenant pouvoir la produire à plus grande échelle. A l'ICSN, les chercheurs se mirent à étudier une hémisynthèse convergente de l'oxy 1 ainsi qu'à une amélioration de l'extraction et de la purification du désacétyl-10 baccatine III. A partir de 1983, des études sur l'extraction de ce dernier ont été entreprises afin de déterminer les conditions optimales. Ils ont étudié les lieux de récoltes, la période de l'année, la conservation, la différence entre l'if mâle et femelle etc. Ils ont ainsi pu voir que les feuilles jeunes contiennent plus de désacétyl-10 baccatine III et la forêt du Massif de la Sainte Baume a été sélectionné. Ainsi, 376 grammes de cette molécule ont été envoyés à Rhône-Poulenc en 1988 (11).

Concernant l'hémisynthèse convergente, elle était essentielle afin de produire à grande échelle car le tétraoxyde d'osmium vu précédemment est fortement toxique et une diminution du nombre d'étapes serait bénéfique. La première étape est la synthèse de l'acide correspondant à la chaîne latérale en partant du phényl-3-glycidate de tert-butyle. Cette synthèse produit un mélange racémique (2'R, 3'S et 2'S, 3'R) du N-(tert-butyloxycarbonyl)-β-phénylisosérine (Fig. 40).

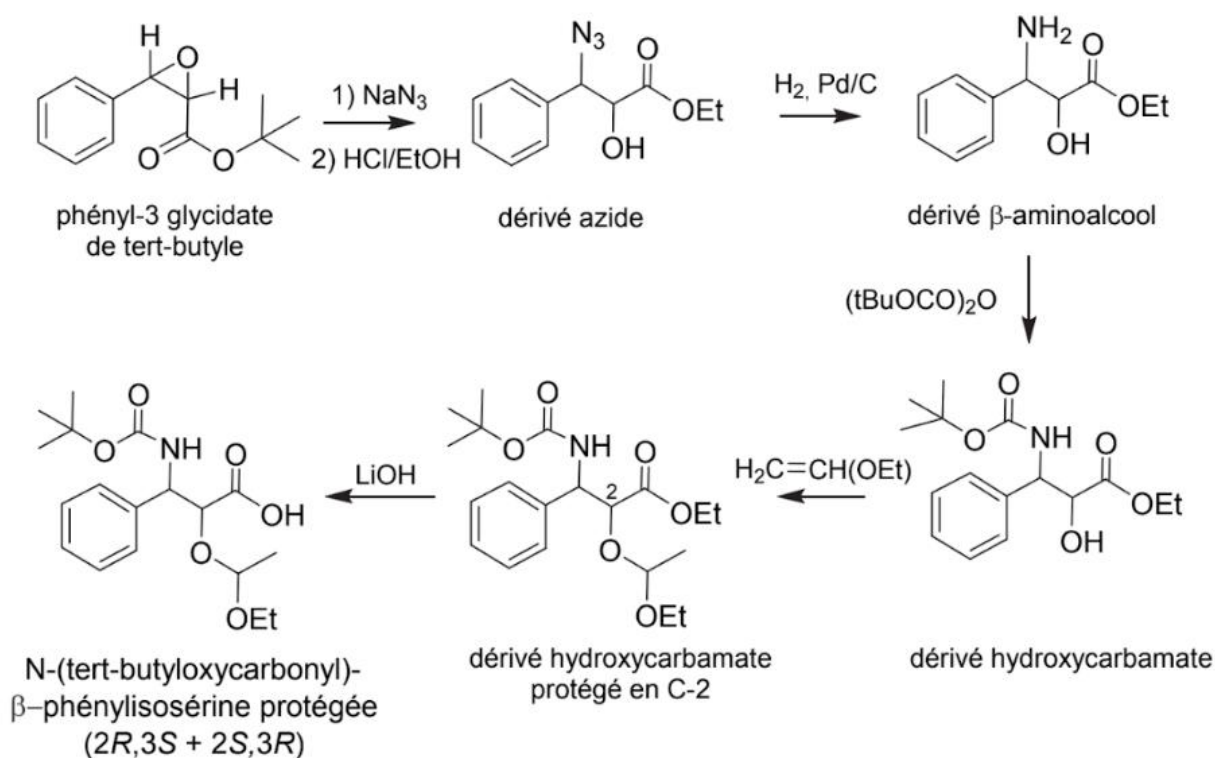


Figure 40 : synthèse de l'acide (chaîne latérale) de l'oxy 1(11)

Ils ont ensuite fait réagir ce dernier avec le ditroc-7,10 désacétyl-10 baccatine III. Ils ont ainsi obtenu le ditroc-7,10 oxy 1 avec la bonne configuration 2'R, 3'S et le ditroc-7,10 oxy 3 (2'S, 3'R). Après déprotection de celle ayant la bonne configuration, on obtient l'oxy 1 (56 976RP) avec un rendement de 34% à partir du désacétyl 10-baccatine III (Fig. 41).

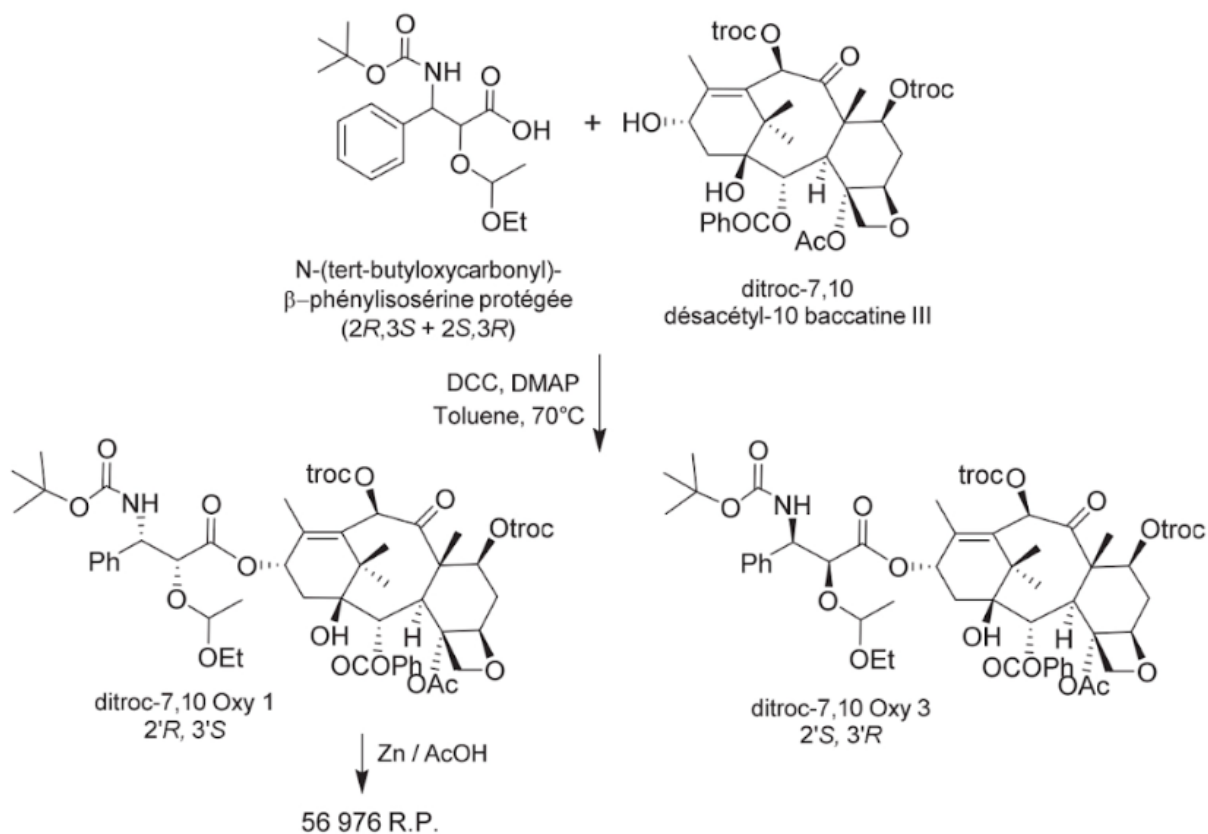


Figure 41 : hémisynthèse convergente de l'oxy 1 (56 976 RP)(11)

Rhône Poulenc dépose alors un brevet le 6 avril 1988. Ce composé a ensuite été baptisé docétaxel et commercialisé sous le nom de Taxotère® (Fig. 42). Les voies d'hémisynthèse ont ensuite été retravaillées et améliorées (11).

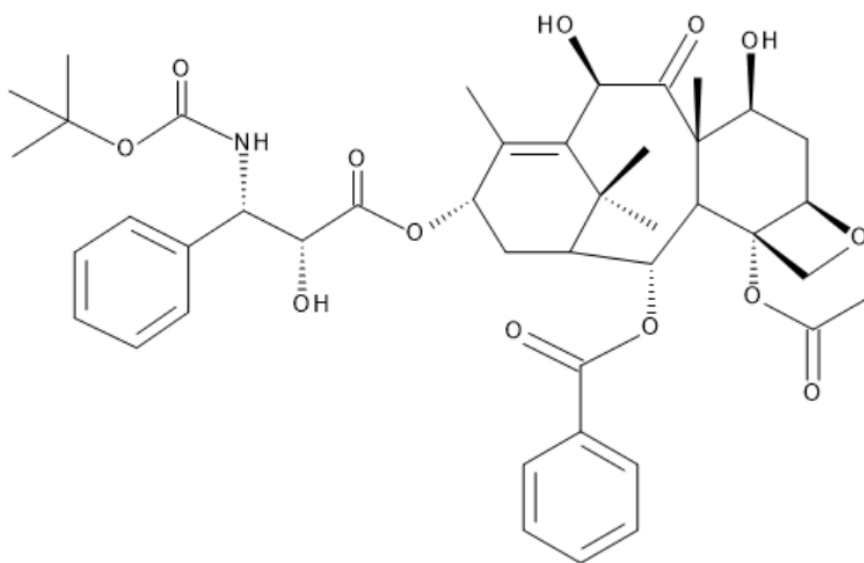


Figure 42 : structure du docétaxel

En 1990, les essais cliniques ont commencé en Europe et aux Etats-Unis. Les patients éligibles avaient des cancers résistants aux autres traitements. Les résultats étaient très encourageants lors de la phase I notamment dans le cadre du cancer du sein et des ovaires. Ces premiers essais de phase I étaient concluants et ont permis de définir la dose et la fréquence d'administration. Les essais de phase II ont ensuite commencé en mai 1992 et ont permis de savoir que ce composé était plus actif sur le cancer du sein, du poumon et des ovaires. Après des essais de phase III concluants, il a été commercialisé en 1995 et 1996 dans une quarantaine de pays (en Europe et aux Etats-Unis) sous le nom de Taxotère® (docétaxel) (6,11).

e) Développement du cabazitaxel

Un autre traitement a été développé par Sanofi-Aventis, le cabazitaxel (Fig. 44). Cette molécule a vu le jour, lors d'une étude testant plus de 450 molécules dérivées du 10-désacétylbaccatine III (Fig. 43). Le cabazitaxel est un dérivé diméthoxy du docétaxel lui permettant de bénéficier d'une faible affinité pour la P-glycoprotéine (P-gp), une pompe d'efflux. Grâce à cette propriété, il conserve son action sur les tumeurs résistantes au docétaxel. En effet, la résistance des tumeurs au docétaxel peut être liée à une surexpression des P-gp (59,60).

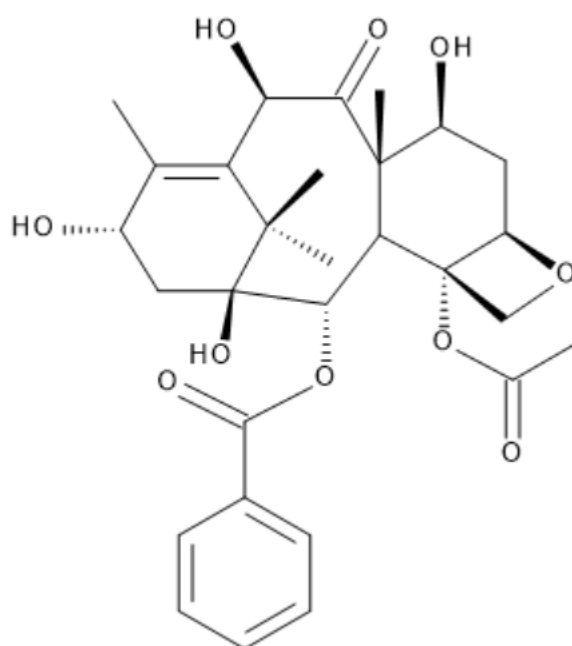


Figure 43 : structure du désacétyl-10 baccatine III

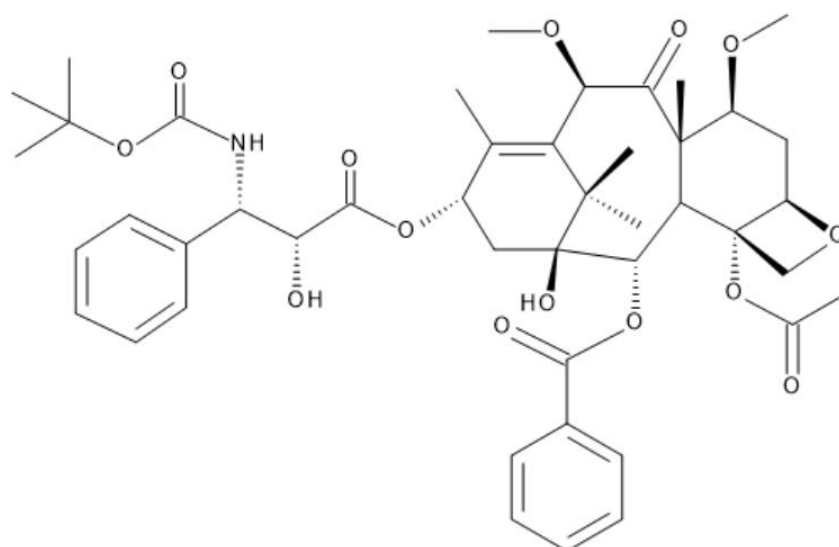


Figure 44 : structure du cabazitaxel

Une grande étude randomisée de phase III (étude TROPIC) a été réalisée dans 26 pays avec 755 hommes atteints de cancers de la prostate métastatiques résistants aux hormones et ne répondant pas au docétaxel. Le cabazitaxel a été comparé au mitoxantrone qui était à ce moment-là le traitement de référence en cas de résistance au docétaxel. Il jouait plus un rôle palliatif que curatif. Le cabazitaxel a montré un bénéfice médian de 2,4 mois de survie par rapport au mitoxantrone. La toxicité du cabazitaxel nécessite cependant des précautions car il entraîne plus régulièrement des neutropénies, qui sont une diminution des polynucléaires neutrophiles en dessous de $1,5 \times 10^9/L$. Il a été autorisé par la FDA en 2010 puis par l'EMA en 2011 et mis sur le marché au nom de Jevtana® par Sanofi. Il est indiqué dans les cancers de la prostate résistants à la castration ne répondant pas au docétaxel (59,61).

4) Indications

Les chimiothérapies développées à partir de l'if ont trouvé leur place dans diverses indications, comme dans les cancers du sein et de la prostate ou encore dans le cancer bronchopulmonaire (Tab. VIII et IX) (35).

Spécialité / DCI	Taxotère®/Docétaxel	Jevtana®/ Cabazitaxel
Indications	▪ Cancer de l'estomac métastatique ▪ Traitement associé à une castration du cancer de la prostate métastatique ▪ Cancer de la prostate métastatique hormonorésistant ▪ Traitement adjuvant du cancer du sein ▪ Cancer du sein localement avancé ▪ Cancer du sein métastatique ▪ Cancer du sein métastatique HER2 positif ▪ Cancer ORL localement avancé ▪ Cancer bronchique non à petite cellule localement avancé ou métastatique	▪ Traitement de deuxième intention du cancer de la prostate métastatique hormonorésistant
Modalité d'administration	Intraveineux	Intraveineux

Tableau VIII : Indications des spécialités Taxotère® et Jevtana® en France(35)

Spécialité / DCI	Taxol®/Paclitaxel	Abraxane® ⁸ /Paclitaxel-albumine ⁹
Indications	▪ Cancer bronchopulmonaire non à petites cellules ▪ Cancer de l'ovaire avancé ▪ Traitement de deuxième intention du cancer de l'ovaire métastatique ▪ Cancer du sein localement avancé et métastatique ▪ Cancer du sein métastatique HER2+ ▪ Traitement de deuxième intention du sarcome de Kaposi associé au SIDA	▪ Cancer bronchopulmonaire non à petites cellules ▪ Cancer du pancréas métastatique ▪ Traitement de 2e intention du cancer du sein métastatique
Modalité d'administration	Intraveineux	Intraveineux

Tableau IX : indications des spécialités Taxol® et Abraxane®

Les chimiothérapies mises au point grâce à l'if ont permis une avancée majeure au sein des traitements oncologiques. La plante qui va suivre, *Camptotheca acuminata*, a permis la découverte d'une nouvelle cible thérapeutique : la topoisomérase de type I.

⁸ Génériques d'Abraxane®: Apexelsin®, Bugvi®, Naveruclif®, Pazénir®

⁹ Le paclitaxel est lié à l'albumine afin d'augmenter l'efficacité et diminuer la toxicité du traitement

IV. *Camptotheca acuminata*

1) Description de *Camptotheca acuminata*

a) Taxonomie

Règne	Plantae
Sous-règne	Viridiplantae
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Magnoliidés
Ordre	Cornales
Famille	Nyssaceae
Genre	<i>Camptotheca</i>
Espèces	<i>acuminata</i>

Tableau X : Taxonomie de *Camptotheca acuminata*(62)

Camptotheca acuminata est surnommé « the happytree », traduit en français par l'arbre du bonheur.

En 1873, *Camptotheca* pourtant originaire de Chine a été décrite et baptisée par le directeur du jardin des plantes de Paris Joseph Decaisne. Le Père Armand David lui ramena lors d'un voyage en Chine des spécimens collectés dans la province du Jiangxi. Cependant, on le retrouve décrit pour la première fois en Chine en 1848 dans le livre « Zhi Whu Ming Shi Tu Kao » où il est appelé Han lian. Actuellement, en Chine il est appelé Xi Shu traduit en anglais par happytree (63).

L'étymologie du genre *Camptotheca* vient du grec « campto » qui signifie courber et « theca » une boîte, une gaine, en référence aux anthères qui sont recourbées vers l'intérieur. Quant à « *acuminata* » il fait référence aux extrémités acuminées (en pointe allongée) des feuilles.

b) Morphologie

Camptotheca acuminata est un arbre pouvant atteindre jusqu'à 20 mètres de haut. L'écorce est gris clair et sillonnée. Les feuilles sont caduques avec un pétiole de 1,5 à 3 centimètres de long et un limbe vert et oblong-ovale de 12 à 28 centimètres de long et 6 à 12 centimètres de large. Les nervures sont latérales et au nombre de 8 à 11 paires.

Les fleurs sont hermaphrodites, en capitule terminal ou axillaire composées de 2 à 9 fleurs avec des bractées triangulaires de 2,5 à 3 millimètres. Les fleurs sont composées de 5 pétales vert clair d'environ 2 millimètres, il y a 10 étamines dont 5 qui sont plus longues que les pétales.

Les fruits sont plats et allongés, lisses et gris-bruns avec une taille de 2,5-3,5 centimètres de long et 5 à 7 millimètres de large et forment une grappe (Fig. 45) (64).

Plante entière(65)	
	
Ecorce (66)	Feuilles (67)
	
Fleurs (67)	Fruits (63)
	

Figure 45 : Description de *Camptotheca acuminata* (63,65–67)

c) Distribution géographique

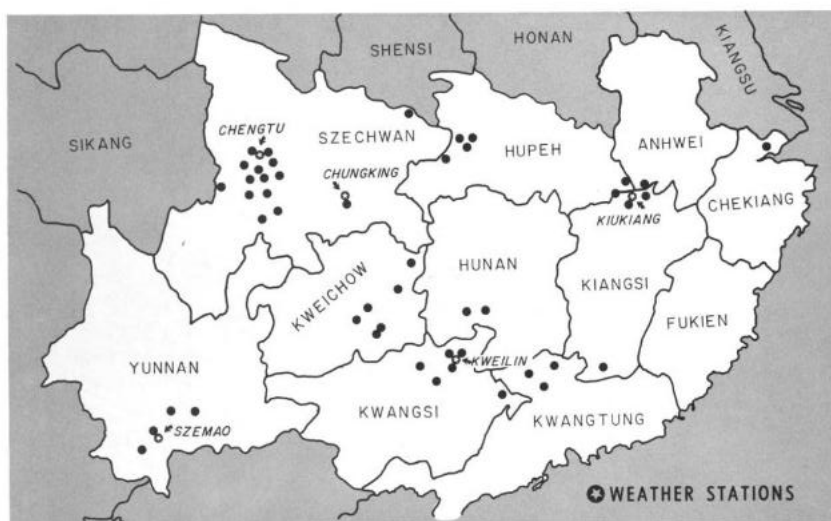


Figure 46 : distribution de *Camptotheca acuminata* dans le sud de la Chine(68)

Camptotheca acuminata est originaire de Chine et il est présent plus précisément dans le sud-est, notamment dans le sud du Yunnan, le Sichuan, l'Anhui ou encore le Hunan (Fig. 46). On le trouve également en Birmanie et dans le Nord de la Thaïlande et il pousse la plupart du temps à une altitude de 300 à 1 100 mètres. Dans les régions où *Camptotheca* pousse, l'environnement est humide, peu ensoleillé et le sol est argileux. Les températures minimales dans ces régions sont en moyennes de 3,4°C à 11,2°C (68).

2) Ethnopharmacologie

L'utilisation en médecine traditionnelle de *Camptotheca acuminata* est retrouvée notamment dans la province du Guang Dong. La communauté Dong utilisait les feuilles ou les fruits pour former une pâte ou bien elle utilisait n'importe quelle partie de l'arbre afin d'obtenir une poudre. Ils étaient ensuite mélangés avec de la liqueur ou du vin de riz dans lesquels ils sont solubles. Cette préparation était ensuite appliquée localement sur des furonculoses, des maladies de peau, voire potentiellement des cancers cutanés. Elle était appliquée traditionnellement trois jours de suite. L'exploitation de cet arbre à des fins médicinales dans cette province est sur le déclin depuis plusieurs dizaines d'années, liée à la disparition de ces arbres et l'absence de nouvelles plantations. Dans d'autres régions comme le Sichuan, le Hunan et le Yunnan, aucune trace n'a été retrouvée concernant une utilisation médicinale mais ça ne certifie pas que ce n'était pas le cas. En effet, les arbres ont été grandement rasés afin de laisser place à l'agriculture et les connaissances se transmettaient en grande partie à l'oral ne permettant pas d'avoir de traces écrites et entraînant une perte de transmissions au fil des générations.

Cependant, dans les années 70, les médecins de nationalité Han se sont de nouveau intéressés à cette plante et elle est conseillée dans diverses indications. Le fruit est administré par voie orale sous forme de liquide ou par voie cutanée pour traiter les cancers, les leucémies, le psoriasis et la bilharziose. L'écorce, quant à elle, est utilisée seulement pour le psoriasis par voie orale ou cutanée. Pour ce faire, il faut mettre dans de l'eau bouillante des morceaux d'écorce, le liquide obtenu est ensuite mélangé à de la graisse de laine et à de la vaseline. On obtient alors une pommade concentrée à 10 ou 20% d'extrait d'écorces de *Camptotheca*. Pour la voie orale, il faut mettre de l'écorce dans une quantité équivalente d'eau et la laisser mijoter afin d'obtenir la solution thérapeutique. Les feuilles fraîches sont appliquées sur les plaies, les

furuncles ou l'anthrax après avoir été broyées et mélangées avec du sel. Il faut faire attention avec l'utilisation d'ustensiles en fer lors de la préparation afin d'éviter des interactions avec le principe actif.

Camptotheca acuminata peut être associée à *Bupleurum marginatum* pour les cancers, à *Schoepfia chinensis* pour les cancers, la leucémie et la bilharziose et à la corne de rhinocéros pour la leucémie en médecine traditionnelle chinoise (Fig. 47 et 48).



Figure 47 : *Bupleurum marginatum* (69)

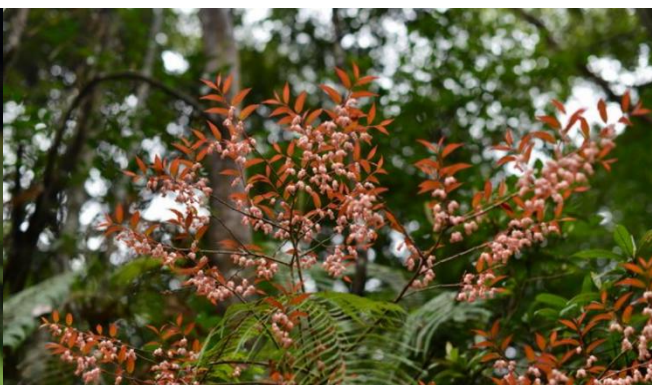


Figure 48 : *Schoepfia chinensis* (70)

Cette plante tient une place importante en médecine traditionnelle chinoise mais elle est également utilisée dans d'autres domaines comme dans l'agriculture. Les feuilles servent d'engrais vert, augmentant le rendement des semis de riz et permettant d'avoir une action répulsive contre les nuisibles. Les fruits sont exploités pour produire des détergents ou du savon. Le bois est également exploité afin de produire des meubles grâce à ses nombreuses propriétés (flexible, facile à travailler, léger, inodore...) (63).

3) Histoire de la découverte

a) Découverte de la camptothécine et de la 10-hydroxycamptothécine

Depuis 1911, l'arbre originaire de Chine a été introduit aux Etats-Unis. En Californie, et plus précisément à Chico, se trouve cet arbre qui a été planté dans les années 50 dans le jardin du ministère de l'Agriculture (USDA). En 1957, un programme de recherche de nouvelles sources de sapogénines stéroïdiennes est développé. L'objectif était de trouver des précurseurs de la cortisone. Dans le cadre de ce programme mené par Monroe Wall de « l'Eastern Regional Research Laboratory », des milliers de plantes dont *Camptotheca acuminata* ont été sélectionnées grâce à une collaboration essentielle avec les botanistes afin d'étudier leurs potentiels. Au-delà de la recherche de sapogénines stéroïdiennes, ils ont également testé la cytotoxicité, l'activité antibiotique et antivirale.

Grâce à ces recherches poussées, les chercheurs ont découvert en 1958 au « National Cancer Institute (NCI) » que *Camptotheca acuminata* avait une importante cytotoxicité *in vitro*. A la suite de cette découverte, une collaboration s'effectua entre le NCI et le « Research Triangle Institute » développé par Monroe Wall en 1960, puis rejoint en 1964 par Mansukh Wani. A partir de 20 kilogrammes de bois et d'écorces de tronc, la camptothécine a été isolée puis sa structure a été déterminée en 1966. Pour pouvoir isoler la molécule à l'origine de cette activité

cytotoxique ils ont utilisé un fractionnement bio-guidé. Le fractionnement bio-guidé permet d'obtenir des mélanges de moins en moins complexes et, in fine, d'isoler la ou les molécules actives. La première étape consiste en une extraction à chaud avec de l'heptane. La deuxième étape est une extraction avec de l'éthanol chaud à 95% suivie d'une concentration. Le résidu éthanolique aqueux est ensuite extrait avec du chloroforme (Fig. 49).

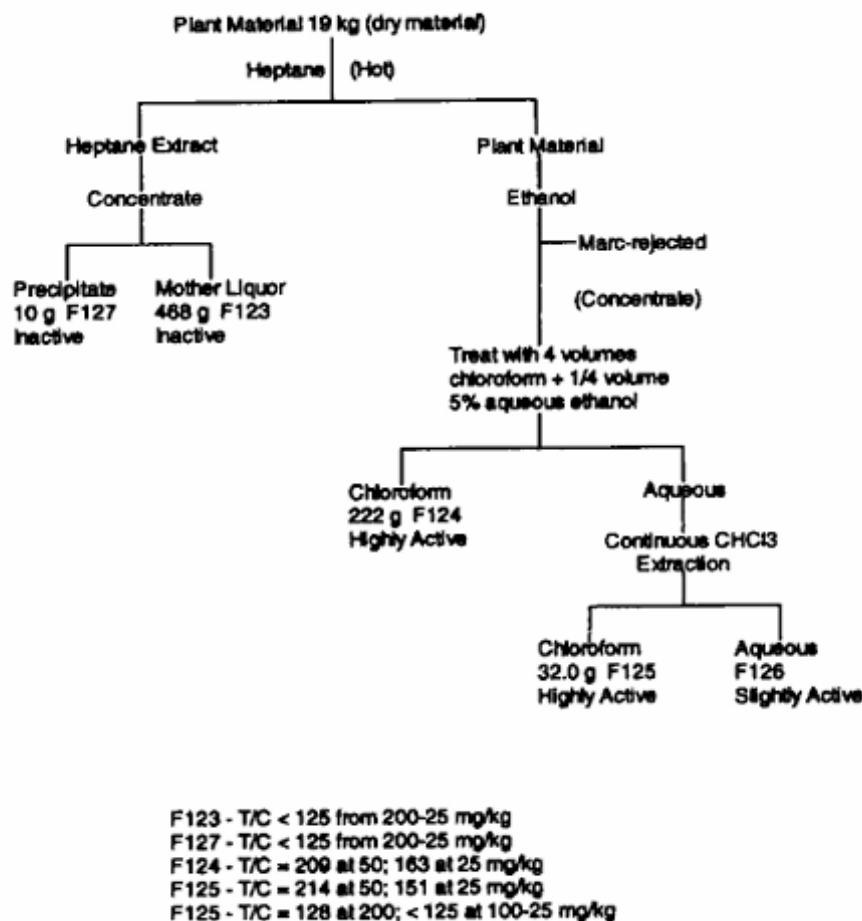


Figure 49 : Fractionnement de *Camptotheca acuminata*(53)

Les différentes fractions obtenues ont ensuite été testées sur des souris atteintes de leucémies L1210 et seules les fractions de chloroforme se sont montrées actives. L'activité antitumorale a été évaluée en calculant la survie des souris traitées par rapport aux souris non traitées. Afin que ce soit significatif, il faut que le rapport T/C soit supérieur à 125%, ce qui est le cas pour la fraction 124 et 125 (53).

Afin de séparer les différents composants de cette fraction chloroformique, la chromatographie a été le premier choix. Elle s'est révélée infructueuse à cause de l'adsorption de la camptothécine sur l'oxyde d'aluminium. La raison de cet échec n'était pas connue à cette époque et les deux chercheurs testèrent une autre technique : la distribution à contre-courant de Craig. La phase chloroformique a ainsi été soumise à cette technique en 11 étapes.

NSC no.	Tube no.	Weight fraction (g)	Dose (mg/kg) ^a	T/C	9KB
FO98	— ^b	—	125	153	<1.0
FO99	1	21.5	250	179	5.3
FO100	2	8.7	62.5	201	0.8
FO101	3	7.2	62.5	201	0.5
FO102	4	6.9	31.2	206	0.09
FO103	5	7.6	31.2	156	0.3
FO104	6	7.2	31.2	198	0.5
FO105	7	9.3	31.2	160	<1.0
FO106	8	11.5	250	172	0.5
FO107	9	16.1	250	148	4.3
FO108	10	19.2	250	96	33.0
FO109	11	62.7	250	100	>100.0
K128 (CPT)	—	—	0.5	163	0.7

^aDose at which maximum T/C in L1210 was observed.

^bStarting material.

Figure 50: résultat de la distribution à contre-courant de Craig(53)

Ceci a permis de séparer différentes fractions en calculant le rapport T/C vu précédemment et en réalisant un test *in vitro* sur des cellules humaines 9KB. Contrairement au rapport T/C, plus la valeur du test 9KB est faible, meilleure est la cytotoxicité puisqu'elle correspond à la dose effective (mg/mL) permettant une diminution de 50% des cellules. Dans ce tableau sont présentes la masse de la fraction récupérée et la dose qui a été administrée aux souris L1210 (cellules leucémiques) pour laquelle il y a un rapport T/C plus élevé. Les tubes 2 à 6 sont ceux ayant les meilleurs résultats avec un T/C élevé et un bon résultat au test 9KB en ayant une faible dose efficace (Fig. 50). L'échantillon K128 contient de la camptothécine pure obtenue après avoir mélangé les échantillons 2 à 6 et récupéré le précipité qui s'était formé puis purifié par chromatographie sur une colonne de gel de silice et cristallisation. Cet échantillon pur est efficace à des doses bien plus faibles (0,5 mg/kg) et présente une toxicité à partir de 4 mg/kg. La camptothécine est très active *in vivo* sur les souris atteintes de la leucémie L1210 et P388, ainsi que sur les tumeurs solides y compris celle de Walker WM (carcinome mammaire de rat) (53).

La structure de camptothécine a été résolue en 1966 (Fig. 51). Les docteurs McPhail et Sim ont transformé la camptothécine en chloroacétate puis en iodoacétate. Ce dernier peut être cristallisé, le rendant compatible avec l'analyse par rayon X. Ainsi la structure de cette molécule a été révélée (53).

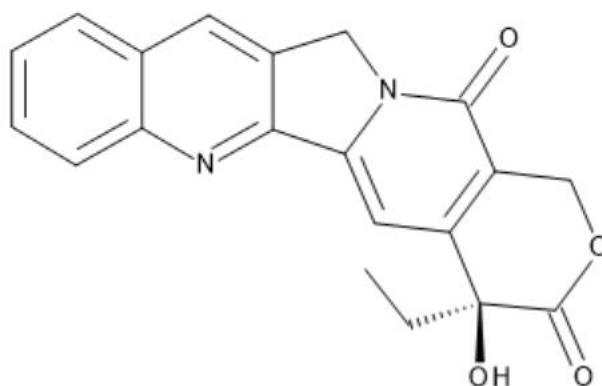


Figure 51 : Structure de la camptothécine

En 1969, deux autres molécules ayant une structure proche, mais présentes en très faible quantité, ont été découvertes dont la 10-hydroxycamptothécine (Fig. 52) (53).

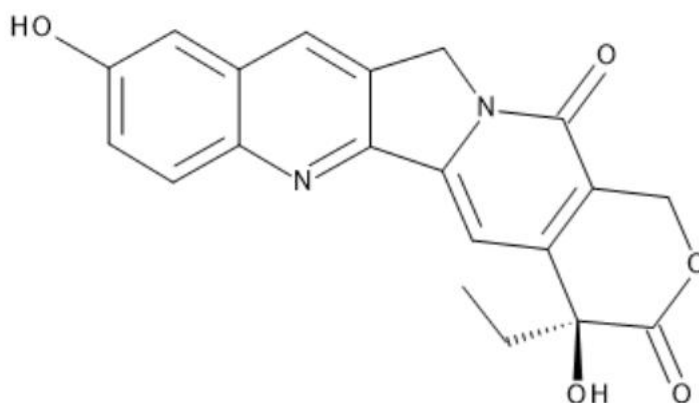


Figure 52 : structure de la 10-hydroxycamptothécine

Afin d'étudier leur activité *in vivo*, les chercheurs ont effectué leur test sur des souris ayant une leucémie L1210 puis ils ont confirmé l'efficacité sur des souris atteintes d'une leucémie P388 et d'un mélanome B16 par greffe de cellules tumorales ou leucémiques. Il y avait un groupe sans traitement et d'autres groupes avec soit de la camptothécine ou un des analogues. La camptothécine montra à nouveau une forte activité et ils découvrirent que la 10-hydroxycamptothécine possédait une activité encore plus forte. Malheureusement, comme dit précédemment, cette dernière est présente en trop faible quantité pour pouvoir être exploitée (20).

Les chercheurs ont été confrontés à des problèmes de solubilité de la camptothécine dans de nombreux solvants dont l'eau, ainsi qu'à une mauvaise réponse lors des essais sur l'Homme qui se sont effectués avec le sel sodique de la camptothécine. En effet, les réponses au traitement n'étaient pas satisfaisantes, seulement 3 patients sur 15 atteints de mélanomes ont bien répondu au traitement et, sur les 61 patients atteints d'un cancer gastro-intestinal avancé, seules 2

personnes ont bénéficié d'une efficacité partielle au traitement. Cette faible réponse est sûrement due à l'instabilité de sa forme sodique qui n'est active que sous forme de lactone à un pH de 4,0 à 5,0 mais qui voit son cycle s'ouvrir à un pH de 7,4 et qui devient alors inactive (Fig. 53). De plus, elle présentait une forte toxicité avec des cystites hémorragiques, des troubles intestinaux sévères et une myélotoxicité. C'est ainsi qu'en 1971-1972 les essais prirent fin (71).

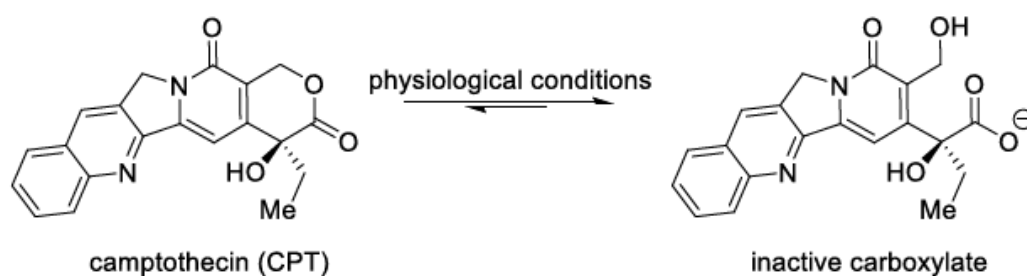


Figure 53 : Ouverture du cycle lactone de la camptothécine à pH physiologique(72)

b) Mécanisme d'action de la camptothécine

A cette même période, Susan Horwitz et David Kessel découvrirent que la camptothécine inhibait la synthèse de l'ADN et entraînait sa fragmentation, mais sans savoir exactement par quel mécanisme d'action (73).

En 1972, Tuticorin Raghavachari Govindachari et Narayanaiyer Viswanathan découvrent la présence de camptothécine dans une autre plante, *Mappia foetida* (74). D'autres sources ont également été découvertes comme chez *Trichoderma atroviride* qui est un champignon qui colonise les racines de diverses plantes et forment des interactions mutualistes ou encore chez différentes espèces d'*Ophiorrhiza* (*O. pumila*, *O. rugosa*, *O. liukiensis*) (75,76).

Au moment où les essais sur la camptothécine s'arrêtaient, la découverte des topoisomérases de type I était en plein essor et c'est cette découverte qui entraînera plus tard un regain d'intérêt pour cette molécule. Les topoisomérases de type I sont des enzymes découvertes pour la première fois par James Wang en 1971 chez *Escherichia coli* et par James Champoux et Renato Dulbecco en 1972 chez la souris. La topoisomérase de type I permet de couper puis de religuer un brin d'ADN pour permettre de le « désenrouler » afin que les deux brins d'ADN se détachent l'un de l'autre lors de la réplication. Si cette topoisomérase est inhibée, alors on empêche la réplication de l'ADN. La découverte d'une molécule capable de cela serait un espoir de futur traitement contre le cancer (20).

Ce futur se trouva au milieu des années 1980 aux Etats-Unis lorsque quatre scientifiques dénommés Yaw-Huei Hsiang, Leroy Liu, Robert Hertzberg et Sidney Hecht ont découvert que la camptothécine inhibait la topoisomérase de type I. Elle inhibe plus précisément la topoisomérase de type I qui est fixée à l'ADN après l'avoir coupé. Elle l'empêche ainsi de religuer le brin d'ADN et entraîne des coupures irréversibles puis une lyse de la cellule. Lors de leur étude, ils ont pu comparer la camptothécine avec deux autres anti-cancéreux le m-

AMSA et le VM-26 qui sont des inhibiteurs de la topoisomérase de type II, afin de vérifier si ils avaient le même mécanisme d'action. Ils ont effectué une électrophorèse avec soit de la camptothécine soit l'un des deux autres inhibiteurs de la topoisomérase de type II. L'électrophorèse est une technique de séparation des molécules grâce à un champ électrique. Ce dernier entraîne la migration des molécules dont la vitesse diffère en fonction de la charge, de la masse, forme, nature du support et conditions physico-chimiques. Sur cette électrophorèse, nous pouvons voir que la camptothécine en présence de topoisomérase de type I entraîne la formation de fragments de l'ADN qui migrent plus loin (Fig. 54). Plus la concentration en camptothécine est importante, plus la fragmentation de l'ADN est importante. Les deux autres anti-cancéreux utilisés en comparaison n'entraînent pas de fragmentation de l'ADN. La camptothécine n'agit donc pas sur la topoisomérase de type II mais agit bien sur la topoisomérase de type I (77).



Figure 54 : électrophorèse de l'ADN et de la topoisomérase de type I en présence de camptothécine, m-AMSA ou VM-26(77)

Légende :

- A : ADN seul
- B : ADN + Topoisomérase de type I
- C à G : ADN + Topoisomérase de type I + Camptothécine (respectivement à 0,2 ; 1 ; 5 ; 25 ;125 μ M)
- H à L : ADN + Topoisomérase de type I+ m-AMSA (respectivement à 0,2 ; 1 ; 5 ; 25 ;125 μ M)
- M à Q : ADN + Topoisomérase de type I+ VM-26 (respectivement à 0,2 ; 1 ; 5 ; 25 ;125 μ M)
- R : ADN + camptothécine 125 μ M
- S : ADN + m-AMSA 125 μ M
- T : ADN+VM-26 125 μ M

c) Développement de l'irinotécan et du topotécan

Cette découverte redonna un élan d'intérêt pour cette molécule mais elle présentait toujours des problèmes de solubilité et de toxicité. Les équipes de recherche se sont alors penchées sur la 10-hydroxycamptothécine qui, malgré une faible concentration, présentait une plus grande efficacité. En s'inspirant de celle-ci, des molécules ont été produites et mises sur le marché : l'irinotécan (Campto®) en 1995 et le topotécan (Hycamtin®) en 1996.

L'irinotécan est une prodrogue soluble dans l'eau qui est transformée en métabolite actif le SN-38 après clivage de la chaîne latérale. Cette dernière est à l'origine de la solubilité de la molécule dans l'organisme. Elle est clivée par des carboxylestérases présentes en grande partie dans le foie et au niveau gastro-intestinal (Fig. 55). L'irinotécan a été fabriqué par ajout d'un dipipéridino en position C10 sur le 7-éthyl-10-hydroxycamptothécine via une liaison carbamate (72). Il a été développé par un groupe de chercheur de l'entreprise japonaise Yakult Honsha en collaboration avec Daiichi Pharmaceuticals (78).

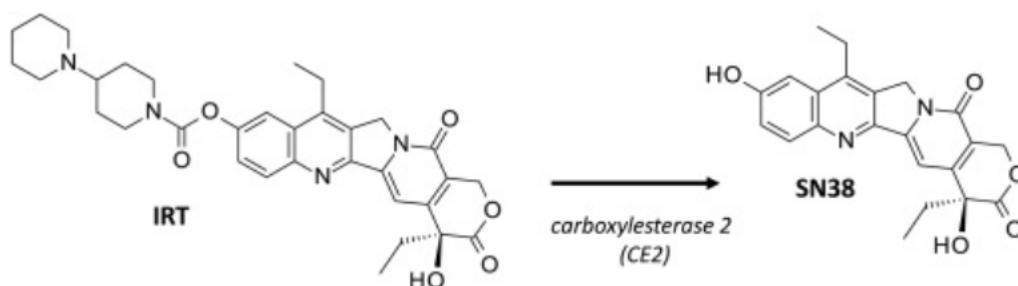


Figure 55 : transformation de l'irinotécan en métabolite actif par la carboxylestérase (78)

Des premières études ont été effectuées sur des xénogreffes et les résultats étaient très prometteurs avec une régression partielle des carcinomes gastriques, pulmonaires à cellules squameuses, les adénocarcinomes du colon et une rémission complète sur des carcinomes du sein. Les meilleurs résultats ont été obtenus sur des rhabdomyosarcomes, qui sont des tumeurs provenant de cellules mésenchymateuses malignes qui se différencient en cellules du muscle squelettique, touchant particulièrement les enfants. Les essais de phase I ont pu commencer et plus de 200 patients à travers le monde (Japon, Europe et Etats-Unis) ont été intégrés dans cet essai. Les principaux effets secondaires qui ont été déclarés sont la diarrhée et la myélosuppression (71,79,80).

Parmi les études de phase 3, l'une d'entre elles, menée par Jean Yves Douillard, était réalisée chez des patients atteints d'un cancer colorectal métastatique. Ils ont d'abord été traités par fluorouracile et acide folinique puis, après randomisation, ils ont reçu ou non de l'irinotécan. Les résultats étaient très concluants avec une meilleure réponse chez les patients traités par irinotécan.(81) Après ces essais, l'irinotécan a été approuvé en mai 1995 par la France puis en juin 1996 par la FDA dans le traitement du cancer colorectal avancé, métastatique (78,79).

A noter, qu'il a été initialement autorisé au Japon en janvier 1994 dans le traitement du cancer du poumon à petites cellules et non à petites cellules, du col de l'utérus et des ovaires (78,79).

Depuis 2015, une forme nanoliposomale de l'irinotécan développée par Merrimack pharmaceuticals a été approuvée par la FDA et commercialisée sous le nom d'Onyvide® (82). Elle a ensuite été autorisée par l'EMA en 2016 (83). Cette forme permet d'augmenter l'absorption cellulaire, de s'accumuler dans les tumeurs, d'augmenter l'efficacité et de diminuer la toxicité (72). Cette mise sur le marché a été permise grâce à l'étude NAPOLI-1 (NAnoliPOsomaL Irinotecan) conduite en association avec le 5-Fluorouracil et l'acide folinique chez des patients atteints d'un cancer du pancréas avancé et métastatique ne répondant pas à la gemcitabine. La thérapie combinée a permis une amélioration de la survie globale médiane par rapport au groupe ne recevant que la 5-Fluorouracine avec l'acide folinique (6,1 mois contre 4,2 mois). Cette amélioration est aussi visible sur la survie sans progression (3,1 mois contre 1,5 mois). Cependant l'irinotécan nanoliposomal seul est équivalent au 5-Fluorouracile (84).

Le topotecan est un analogue soluble de la camptothécine, développé par SmithKline Beecham¹⁰ qui a été produit par des modifications de la 10-hydroxycamptothécine (85). Il est soluble grâce à sa chaîne latérale alkyle avec des amines tertiaires diméthylamino au carbone 9 (Fig. 56).

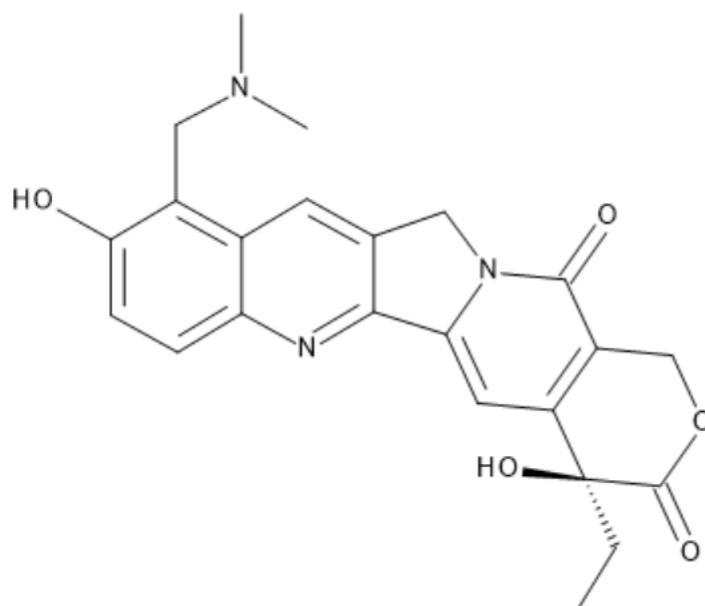


Figure 56 : structure du topotecan(72)

Il s'est avéré être efficace sur des xénogreffes de type cancer du côlon, des adénocarcinomes ovariens, de rhabdomyosarcome, des sarcomes ostéogéniques en entraînant une diminution de leur croissance. Les essais de phase I ont ainsi vu le jour en Europe et aux Etats-Unis sur 250 patients atteints de différents types de cancer (cancer du poumon non à petite cellule, carcinomes ovariens, œsophagiens et adénocarcinome du colon). Parmi ces patients, certains ont eu une réponse partielle et un patient atteint d'un cancer du poumon non à petite cellule a bénéficié d'une rémission complète. L'activité antitumorale était plus importante dans le cas de

¹⁰ Actuellement Glaxo SmithKline

cancer de l’ovaire et du poumon à petites cellules entraînant une poursuite des études dans ces indications (71,79).

Les essais réalisés ont confirmé son efficacité et le topotécan (Hycamtin®) a été autorisé le 28 mai 1996 par la FDA puis le 12 novembre 1996 par l’agence européenne du médicament (86,87).

d) Autres dérivés de la camptothécine

Un autre dérivé de la camptothécine est également commercialisé, mais seulement en Corée du Sud : il s’agit du Bélotécan qui a été approuvé en 2003, dans le cadre du traitement du cancer du poumon à petites cellules et du cancer de l’ovaire. Il existe également d’autres traitements composés d’un inhibiteur de topoisomérase de type I dérivé de la camptothécine, ce sont l’Enhertu® (Trastuzumab et Deruxtecan) et le Trodelvy® (Sacituzumab-govitecan). Ce sont des associations d’un anticorps monoclonal qui cible un récepteur sur les cellules tumorales avec un médicament cytotoxique reliés par un agent de liaison chimique. Le trastuzumab est un anticorps anti-HER2 et le sacituzumab cible TROP-2. Ce dernier est un antigène de surface des cellules trophoblastiques de type 2 surexprimé dans de nombreuses tumeurs solides et qui participe à l’oncogenèse. HER2 est un récepteur du facteur de croissance épidermique humain dont la surexpression favorise la croissance des cellules tumorales (88). Cette association permet de distribuer le cytotoxique au niveau des tumeurs exprimant l’antigène ciblé par l’anticorps. L’action de la chimiothérapie est ainsi plus sélective et les effets indésirables sont atténués. L’Enhertu® a été développé par Daichi Sankyo et Astra Zeneca et il a été autorisé par la FDA en 2019 et en 2021 par l’EMA et le Trodelvy® a été autorisé en 2020 par la FDA et en 2021 par l’EMA et développé par Immunomedics (Fig. 57) (72,89–92).

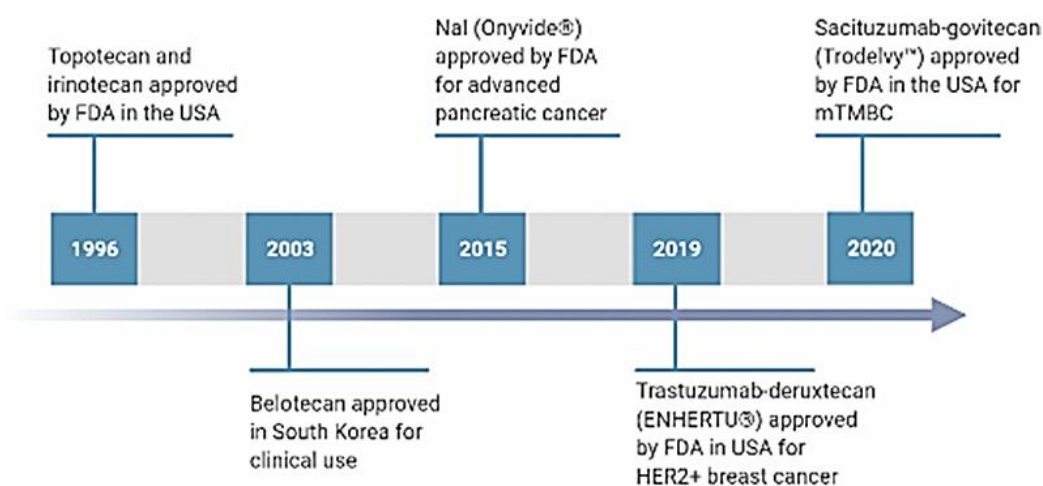


Figure 57 : frise chronologique de la mise sur le marché des traitements dérivés de la camptothécine(72)

4) Indications

Camptotheca acuminata a permis de grandes avancées en permettant le développement du topotecan et de l'irinotecan. Plus récemment des traitements innovants ont été mis au point : les anticorps monoclonaux conjugués. Le Trodelvy® et l'Enhertu® ont permis d'étoffer l'arsenal thérapeutique dans différentes indications dont le cancer du sein (Tab. XI et XII).

Spécialité / DCI	Onivyde®/ Irinotecan	Campto®/ Irinotecan	Hycamtin®/ Topotecan
Indications	▪ Cancer du pancréas métastatique	▪ Cancer colorectal avancé ▪ Cancer colorectal métastatique	▪ Cancer bronchopulmonaire à petites cellules ▪ Traitement de deuxième intention du cancer de l'ovaire métastatique ▪ Cancer du col de l'utérus
Modalité d'administration	Intraveineux	Intraveineux	Voie orale / Intraveineux

Tableau XI : Indications des spécialités Onivyde®, Campto®, Hycamtin® en France (35,72)

Spécialité / DCI	Camtobell®/ Bélotécan (seulement en Corée du Sud)	Enhertu® /Trastuzumab - Deruxtécan	Trodelvy®/Sacituzumab -govitécan
Indications	▪ Cancer du poumon à petites cellules ▪ Cancer de l'ovaire	▪ Cancer du sein HER2 +, HER2 faible ou ultra-faible ▪ Cancer bronchique non à petite cellule HER2 + ▪ Adénocarcinome gastrique ou de la jonction œsogastrique (JOG) HER2 positif	▪ Cancer du sein triple négatif non résécable ou métastatique ▪ Cancer du sein avec récepteurs hormonaux positifs (RH+) et HER2 négatif non résécable ou métastatique
Modalité d'administration	Intraveineux	Intraveineux	Intraveineux

Tableau XII : indications des spécialités Camtobell®, Enhertu® et Trodelvy® (35,72)

Alors que *Camptotheca acuminata* a permis de mettre sur le marché des traitements inhibiteurs de la topoisomérase de type I, la plante suivante, *Podophyllum peltatum*, est à l'origine de chimiothérapies ciblant la topoisomérase de type II.

V. *Podophyllum peltatum* et *hexandrum*

1) Description de *Podophyllum peltatum* et *hexandrum*

a) Taxonomie

Podophyllum peltatum :

Règne	Plantae
Sous-règne	Viridaeplantae
Classe	Equisetopsida
Sous-classe	Magnoliidae
Ordre	Ranunculales
Famille	Berberidaceae
Genre	<i>Podophyllum</i>
Espèces	<i>peltatum</i>

Tableau XIII : taxonomie de *Podophyllum peltatum*

Noms vernaculaires de *Podophyllum peltatum* : Podophylle peltée, Podophylle d'Amérique, Pomme de mai. (93)

Podophyllum hexandrum :

Règne	Plantae
Sous-règne	Viridaeplantae
Classe	Equisetopsida
Sous-classe	Magnoliidae
Ordre	Ranunculales
Famille	Berberidaceae
Genre	<i>Podophyllum</i>
Espèces	<i>hexandrum</i>

Tableau XIV : Taxonomie de *Podophyllum hexandrum*

Synonyme : *Sinopodophyllum hexandrum*.

Noms vernaculaires de *Podophyllum hexandrum* : Podophyllum indien, Pommier de mai indien, Kakhri (au Pakistan), Bankakri (dans la vallée de Niti), Lagu Petra (au Népal), Bantrapushi, Giriparpat (noms en médecine ayurvédique)(94).

b) Morphologie

Podophyllum peltatum :

Plante entière (95)	Feuille (96)
	
Fleur (95)	Fruit (96)
	

Figure 58 : description de *Podophyllum peltatum*

Podophyllum peltatum est une plante mesurant 30 à 45 centimètres de haut et elle est composée d'une à deux feuilles. Cette feuille vert pâle profondément divisée, lobée palmée est en forme de parapluie et mesure 30 centimètres de diamètre. Le pétiole est tacheté de rouge et de vert sur sa partie inférieure et il porte de longs trichomes soyeux sur la partie supérieure.

Seules les plantes avec deux feuilles produiront des fleurs. Ces dernières apparaissent au printemps, d'avril à mai, à l'aisselle des feuilles et sont composées de 6 à 9 pétales blancs. Chaque fleur donne un fruit charnu et vert puis jaune lorsqu'il est mûr (Fig. 58). Il est surnommé « pomme de mai » et il est consommé généralement sous forme de confitures ou de gelées. Le fruit immature est toxique et contient de la podophyllotoxine, présente également dans l'entièreté de la plante et en grande quantité dans les racines.

Les racines ont une paroi externe épaisse caractéristique de cette plante. Les tiges prennent naissance au niveau des rhizomes souterrains. Celles-ci sont lisses, cylindriques et vert clair à rougeâtre (Fig. 58) (97).

Podophyllum hexandrum(98) :

Plantes entières	Feuille
	
Fleur	Fruit
	

Figure 59 : description de *Podophyllum hexandrum*

Podophyllum hexandrum est une herbe vivace mesurant 15 à 40 centimètres de hauteur. Le rhizome est composé de multiples racines adventives. Les feuilles de couleur vert foncé font 10 à 25 centimètres de diamètre. Elles sont lobées (3 lobes) et au nombre de 1 à 2. Les fleurs sont blanches à roses pâles et composées de 6 pétales. Elles mesurent 2 à 4 centimètres de diamètre et fleurissent au printemps. Le fruit mûr est une baie rouge légèrement charnue qui est consommée crue ou cuite sous forme de confiture ou de gelée. L'espèce est liée à la présence

de 6 pétales et 6 étamines sur ses fleurs (Fig. 59). Elle contient 7 à 16% de résine contre 4 à 5% pour *Podophyllum peltatum* ce qui fait d'elle une plante plus riche en podophyllotoxine (94,99).

La toxicité de la podophyllotoxine est liée à son interaction avec la division cellulaire. En cas d'ingestion, des nausées, des vomissements et des diarrhées sont retrouvées avec des douleurs abdominales. La molécule peut ensuite interférer au niveau hépatique et du système nerveux central avec des confusions, des hallucinations et des convulsions. Une dépression respiratoire et un arrêt cardiovasculaire peuvent survenir dans les cas les plus graves. En usage local, elle peut entraîner des irritations et des brûlures sur les muqueuses (100).

c) Distribution géographique

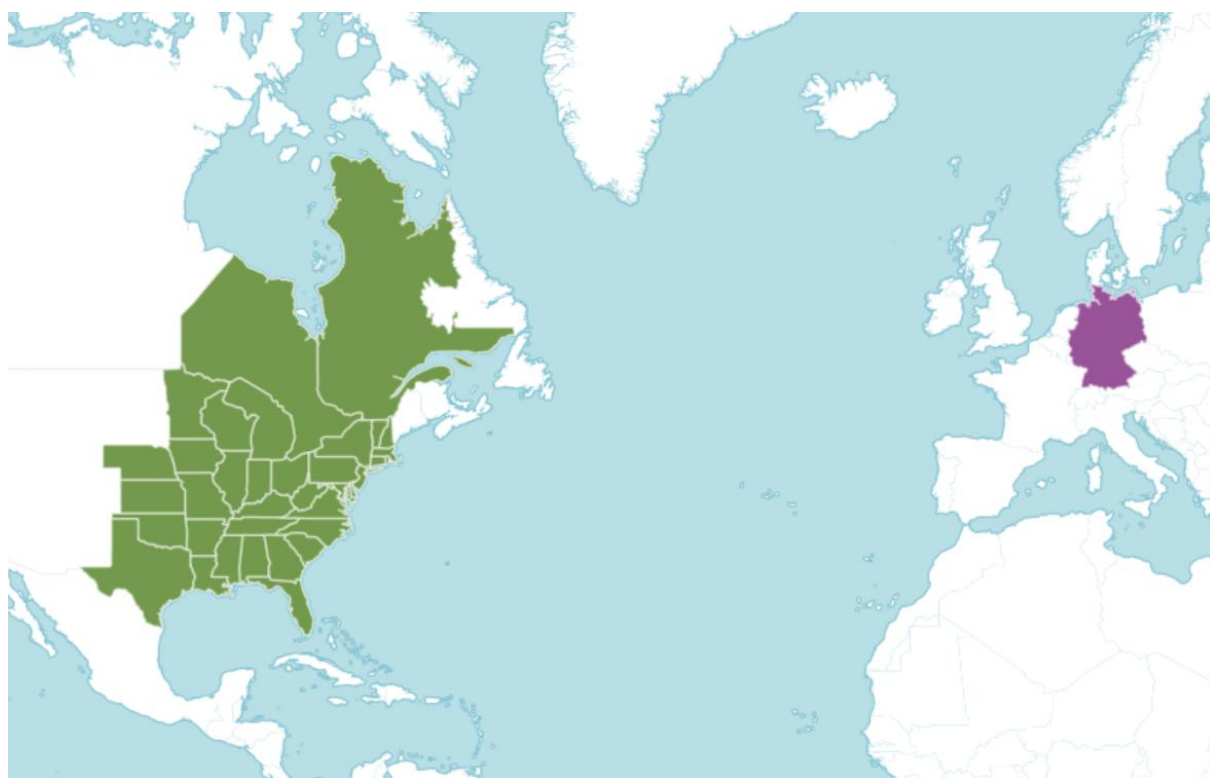


Figure 60 : distribution géographique de *Podophyllum peltatum*(93)

■ Native ■ Introduced

Podophyllum peltatum est originaire d'Amérique et, plus précisément, de l'est des Etats-Unis et du Sud du Canada où elle pousse dans les forêts de chênes et de caryers (Fig. 60) (97). Elle pousse dans les sous-bois à une altitude variant du niveau de la mer à 1400 mètres d'altitude, dans le sud des chaînes de montagnes des Appalaches. Elle est présente en colonie allant jusqu'à 1 000 pousses (101). Les températures minimales qu'elle subit aux Etats-Unis sont de -7°C et il semblerait qu'elle soit conditionnée à un repos hivernal (102).

La présence de cette plante au Canada est peut-être le fruit d'une introduction par l'Homme. Les zones où elle se trouve correspondent à d'anciens villages indiens qui ont peut-être amené cette plante pour une utilisation médicinale (101).



Figure 61 : distribution géographique de *Podophyllum hexandrum*(98)

Podophyllum hexandrum est une espèce himalayenne qui pousse en Chine, au Pakistan, Bhoutan et en Inde (Fig. 61). Elle se trouve habituellement à une altitude de 2000 à 4500 mètres, en sous-bois dans les sols riches en humus. Elle a été découverte en 1824 par Nathaniel Wallich un botaniste danois. Elle présente une composition chimique assez semblable à *Podophyllum peltatum* mais elle est bien plus riche en podophyllotoxine ce qui fait d'elle une source importante de matière première (94).

2) Ethnopharmacologie

Les données concernant *Podophyllum peltatum* remontent à la découverte du Canada par Jacques Cartier (1491-1557) un explorateur français. Il a évoqué le pouvoir mortel des racines mais aussi qu'il s'agissait d'un antidote au venin de serpent. Entre la fin du XVI^e siècle et le début du XVII^e siècle, un autre explorateur français nommé Samuel de Champlain n'indiquait aucune toxicité ou usage médicinale, seulement que le fruit était comestible. Il faudra attendre le XVIII^e siècle pour qu'un anglais, Mark Catesby, évoque l'activité émétique du podophylle, dans son ouvrage « Natural History of Carolina, Florida and the Bahama Islands ». A noter que dans cet ouvrage il le nomme « *Anapodophyllon canadense* », elle sera baptisée *Podophyllum peltatum* par Carl von Linné en 1753. Finalement, c'est auprès des indiens d'Amérique (tribus Iroquois ou encore Cherokee) que les propriétés de la pomme de mai ont été découvertes, révélant l'action purgative, cholagogue, antihelminthique et mortelle de celle-ci. Ainsi, cette plante a été intégrée dans la première édition de la pharmacopée étatsuniennes en 1820. En 1861, est évoquée pour la première fois l'activité de la résine de podophylle sur les tumeurs cancéreuses dans le livre de Robert Bentley « New American remedies ». D'après les articles

de Sullivan et King en 1947 et Hartwell et Schrecker en 1958, dans l'Etat du Maine les Indiens Pentagouets l'utilisaient contre le « cancer » et à la Nouvelle-Orléans elle était utilisée avant les découvertes de Kaplan par les urologues en application sur les verrues génitales (55).

En médecine ayurvédique, *Podophyllum hexandrum* est une plante utilisée traditionnellement dans diverses indications comme le rhume, la constipation, les infections bactériennes, les sensations de chaleur, l'érysipèle, les troubles mentaux, les rhumatismes ou encore la peste (103).

Au Cachemire, le rhizome et la résine sont appliqués en cataplasme ou sous forme de pâte sur les verrues, les infections cutanées et les blessures. Le rhizome peut également être administré par voie orale pour les troubles gastro-intestinaux. Le rhizome et les feuilles sont indiqués comme anti-inflammatoires ou antalgiques en application locale. Dans cette région, il est également utilisé en médecine vétérinaire pour le bétail. Les rhizomes sont mélangés à leur nourriture ou appliqués directement sur la peau pour une action antiseptique et antiparasitaire (104).

Au Pakistan, les racines sont utilisées en purgatif, émétique, antipyrétique et antalgique. Dans la ville de Muzaffarabad, elles sont transformées en une pâte à appliquer sur les ulcères, les coupures et les verrues génitales (94).

A noter que l'exploitation à grande échelle du Podophylle pour son activité cholagogue, facilitant l'évacuation de la bile, remonte à 1868 avec les « Carter's Little Liver Pills » (*Podophyllum* associé à de l'*Aloe vera*) indiqués notamment dans les maux de ventre et indigestions (Fig. 62). Dans les années 40, Andrew Conway Ivy démontra l'absence d'effet cholagogue, ce qui entraîna un changement de composition du médicament en 1959. Le *Podophyllum* a ainsi été remplacé par un laxatif de synthèse, le bisacodyl. Il restera commercialisé en France avec cette nouvelle formulation jusqu'en 2014 sous l'appellation « Petites pilules Carter » (55).



Figure 62 : archive des petites pilules Carter commercialisés en 1938 aux Etats-Unis(105)

3) Histoire de la découverte

a) Découverte de la podophyllotoxine

En 1835, John King découvre la podophylline, à partir des racines de *Podophyllum peltatum* obtenue avec la méthode suivante :

- a) extraction par de l'alcool puis concentration de l'extrait,
- b) dilution de l'extrait dans de l'eau éventuellement acidifiée,
- c) recueil du précipité formé qui est lavé à l'eau, séché et enfin pulvérisé.

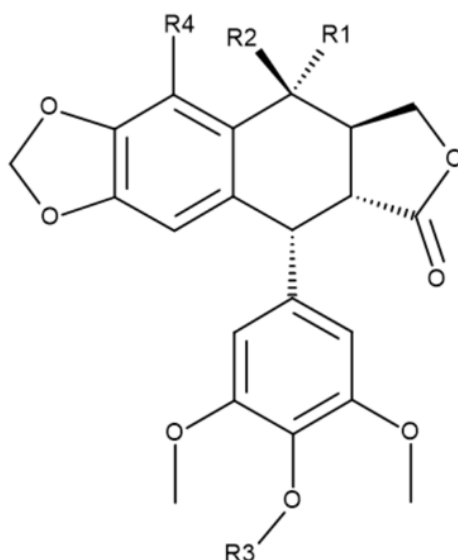
En 1880, la podophyllotoxine a été mise en évidence par Valerian Podwyssotzki à partir de la podophylline. En 1891, Max Neubergger a étudié la podophyllotoxine sur différents animaux (chats, chiens, grenouilles, lapins) après l'avoir cristallisé. Il a remarqué une similarité entre la toxicité induite par cette molécule et celle entraînée par la colchicine (106). Il faudra attendre 1956 pour que la structure soit élucidée complètement par Jonhatan Hartwell et Anthony Schrecker au National Cancer Institute (Fig. 63). Cette molécule possède quatre carbones asymétriques (centres chiraux de C1 à C4) qui sont essentiels pour l'activité biologique de celle-ci (55,107,108).

b) Etude du podophylle sur le papillomavirus humain

Remontons un peu dans le temps jusqu'en 1942, lorsque I. W. Kaplan capitaine au sein du corps médical de l'armée américaine durant la seconde guerre mondiale a publié un article « *Condylomata acuminata* : two hundred cases treated with podophyllin ». Les recherches de ce médecin militaire portaient sur les verrues génitales et le traitement de ces dernières par le podophylle. Il constate que cette affection est plutôt commune et qu'il n'existe pas de traitement spécifique. A cette époque l'étiologie n'était pas encore connue, ce qui compliquait la recherche de traitements. Actuellement, nous savons que ces condylomes sont d'origine virales et plus précisément causés par le Papillomavirus humain (HPV). Il décrit ces lésions en les comparant de manière très imagée à des framboises, choux-fleurs ou encore à des crêtes de coq présentes dans la région génitale en moyenne trois mois. A la suite de ce constat, il a décidé de tester sur 200 patients (15 femmes et 185 hommes) la poudre de podophylline, déjà connue à cette époque pour ses propriétés purgatives, en suspension à 25% dans de l'huile. Il a appliqué cette préparation à l'aide d'un coton-tige sur les lésions. Il décrit cette procédure comme indolore pour les patients et ne nécessitant pas d'hospitalisation ou d'anesthésie. En quelques heures la lésion devient blanche et après 24 à 48 heures elle nécrose jusqu'à se défaire et disparaître rapidement sans laisser de cicatrice ou d'ulcération. Il observe rarement un impact sur le tissu avoisinant. Sur les 200 patients, tous ont été guéris. Parmi eux, 81,5% n'ont nécessité qu'une seule application et aucune personne n'a eu besoin de plus de 4 applications de la préparation pour guérir. Concernant le mécanisme d'action de la podophylline sur le condylome, il ne présente que des hypothèses. L'une d'entre elle est une action vasoconstrictrice sur les petits vaisseaux entraînant une ischémie puis une nécrose sur les lésions qui seraient plus sensibles que les tissus sains. Il semblerait également d'après Kaplan qu'il y aurait une action déshydratante sur les condylomes. Il espérait que cette plante pourrait être une source de nombreux traitements (109).

c) Mécanisme d'action de la podophylline et essais cliniques

Ces fameuses perspectives qu'évoquaient Kaplan ont été découvertes quatre ans plus tard par une étude de King et Sullivan. Ces derniers ont étudié le podophylle et la colchicine sur des cellules épidermiques saines de lapin et d'Homme et sur des cellules de condylomes. Ils ont observé une morphologie similaire entre les cellules traitées par la colchicine et celles traitées par la podophylline. Ils en ont ainsi déduit un potentiel mécanisme d'action commun, c'est-à-dire par blocage de la mitose en métaphase. S'ensuivirent de nombreuses études qui confirmèrent ce mécanisme d'action avec des précisions apportées. Le blocage en métaphase est lié à une inhibition de l'assemblage de la tubuline en microtubules essentiels pour la formation du fuseau mitotique. Des études ont ensuite été réalisées par Jonhatan Hartwell dans les années 50 sur trois composés isolés de la podophylline (la podophyllotoxine, les alpha et bêta-peltatines) (Fig. 63). Ils ont été testés sur le sarcome 37 chez des souris. D'après l'étude effectuée en 1950, les trois molécules ont une forte activité contre ce sarcome. Les essais cliniques chez l'Homme effectués par la suite ont montré une forte toxicité et un manque d'efficacité, ce qui entraîna l'arrêt des recherches (55,110,111).



	R1	R2	R3	R4
<u>Podophyllotoxine</u>	OH	H	CH ₃	H
<u>α-peltatine</u>	H	H	H	OH
<u>B-peltatine</u>	H	H	CH ₃	OH

Figure 63 : structure de la podophyllotoxine et de ses dérivés(106)

d) Découverte du téniposide et de l'étoposide

Le laboratoire Sandoz reprit au milieu des années 50 les recherches sur cette plante. Il y a eu un premier essai infructueux d'Arthur Stoll sur les analogues hétérosidiques des lignanes de podophylle. En effet, une perte de toxicité s'est faite en défaveur de l'activité antiméiotique et antiproliférative. Les recherches ont ensuite été poursuivies par Albert von Wartburg et Hartmann Stähelin sur le bêta-glucoside de podophyllotoxine en réaction avec un

benzaldéhyde. L'objectif de cette réaction était de diminuer le risque d'hydrolyse enzymatique par les Bêta-glucosidases intestinales et d'augmenter la biodisponibilité par voie orale. La décision de réaliser cette réaction à la fois sur le glucoside de podophyllotoxine pur mais aussi brut a complètement changé le cours des recherches. Le brut s'est révélé avoir une action antiproliférative plus puissante *in vitro* que le pur et une efficacité sur des souris atteintes d'une leucémie L1210, ce qui n'était pas le cas du pur. L'activité anti-leucémique était donc le fruit d'une autre molécule présente dans le composé brut et c'est ainsi qu'en 1964 a été isolé le 4'-demethyl epi benzyldène podophyllotoxin glucoside (DEBPG). Il se différenciait du glucoside pur par sa stéréochimie bêta du glycoside en position 4 sur l'aglycone (55,106).

Si son activité anti-leucémique avait bien été confirmée *in vivo*, ce n'était pas le cas de son action antimitotique *in vitro*. Afin d'élucider son mécanisme d'action, il était nécessaire d'isoler une quantité plus importante de ce composé, mais pour cela il fallait passer par une hémisynthèse à partir du précurseur le demethyl epipodophyllotoxin glucoside (DEPG) qui était lui-même obtenu à partir de la podophyllotoxine et c'est ce que firent von Wartburg et son équipe en 1969. Grâce à cette hémisynthèse, des analogues du DEBPG ont pu être mis au point par remplacement du benzaldéhyde par d'autres aldéhydes et ce sont deux molécules qui ont retenu l'attention des chercheurs : le téniposide et l'étoposide (Fig. 65 et 67). Le premier a été obtenu par remplacement du benzaldéhyde par le thiophène-2-carboxaldéhyde et le deuxième par l'acétaldéhyde (55,106,112,113).

e) Mécanisme d'action du téniposide et de l'étoposide

Les premières pistes de compréhension du mécanisme d'action ont pu être établies : elles bloquent le cycle cellulaire en fin de phase S et en début de phase G2 par cassure réversible du double brin de l'ADN. Ce n'est qu'en 1984 qu'ils ont pu élucider complètement le mécanisme d'action, lorsque Warren Ross et son équipe ont prouvé l'interaction de l'étoposide et du téniposide avec la topoisomérase de type II. Ils ont mis en contact de l'ADN radiomarké avec des topoisomérases de type II, de l'ATP puis ils ont soit ajouté de la podophyllotoxine, de l'étoposide (VP-16-213), du téniposide (VM-26) ou du 4'-[(9-acridinyl)amino]methanesulfon-m-anisidide (m-AMSA), qui stabilise l'ADN avec la topoisomérase de type II. Ce dernier sert donc de contrôle positif tout comme le 2-methyl-9-hydroxyellipticinium acétate (2-me-9-OH-E). Sur l'électrophorèse présentée en Figure 64, la colonne C permet d'observer l'activité de base de la topoisomérase en l'absence de principes actifs. En présence de podophyllotoxine, il n'y a pas d'impact sur le clivage de l'ADN tandis qu'en présence de téniposide ou d'étoposide on observe une plus grande quantité de fragments d'ADN. Les résultats sont semblables (voir plus importants) à ceux observés sur le contrôle positif. Cette action antimitotique passe donc par la stabilisation du complexe clivable topoisomérases de type II - ADN. Cette stabilisation entraîne la formation de cassures réversibles des doubles brins d'ADN qui deviennent ensuite irréversibles lorsque la cellule tente de se répliquer. Ces cassures multiples mènent à l'apoptose de la cellule (55,106,112,113).

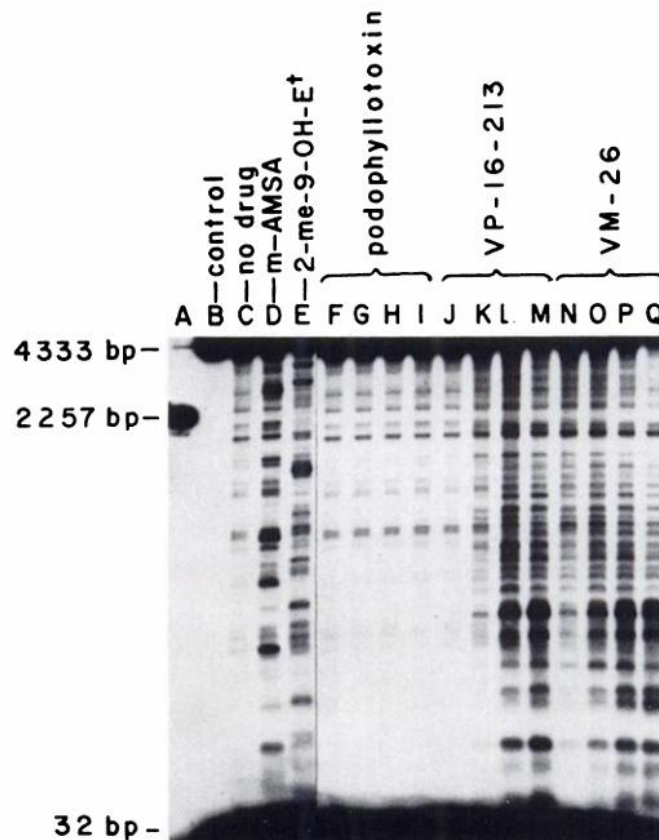


Figure 64: électrophorèse de l'étoposide et du téniposide en présence d'ADN et de topoisomérase de type II(113)

f) Essais cliniques et commercialisation de l'étoposide

Les essais cliniques ont débuté pour ces deux molécules en 1971 avec, deux ans plus tard, des résultats très positifs. Elles ont été réalisées par le laboratoire Sandoz puis en 1978 Bristol-Meyers a pris le relais. L'activité antitumorale est mise en lumière pour l'étoposide sur des leucémies myéloïdes aiguës, la maladie de Hodgkin, des lymphomes non-hodgkinien, les cancers du poulmon, de l'estomac, du sein ou encore des ovaires (112).

L'étoposide est autorisé en 1983 par la FDA et en 1988 en France avec pour nom commercial le Vepesid® (114). Des études en 1989 ont montré chez des patients atteints d'un cancer du poulmon à petites cellules étendu qu'une exposition à l'étoposide sur plusieurs jours (2 heures pendant 5 jours) par rapport à une perfusion de 24 heures était plus efficace malgré une dose totale équivalente. Cela permet une accumulation plus importante et la formation dans le temps de cassures de l'ADN. Ils ont également comparé des schémas sur 5 jours avec des schémas sur 8 jours. Les résultats étaient similaires, seulement la toxicité hématologique était moindre dans les schémas sur 8 jours. L'étoposide présente une faible solubilité nécessitant une inspection visuelle afin de s'assurer de la stabilité avant administration de la poche de chimiothérapie. Face à ces problèmes de solubilité, Bristol-Myers a développé le phosphate d'étoposide (Etopophos®) commercialisé en 1996 en France (Fig. 66). Cette prodrogue est convertie en étoposide grâce aux phosphatases alcalines présentes dans le sang. Il est équivalent à l'étoposide mais avec moins de contraintes et plus de sécurité lors de l'administration puisqu'il nécessite un volume moins important (112,115,116).

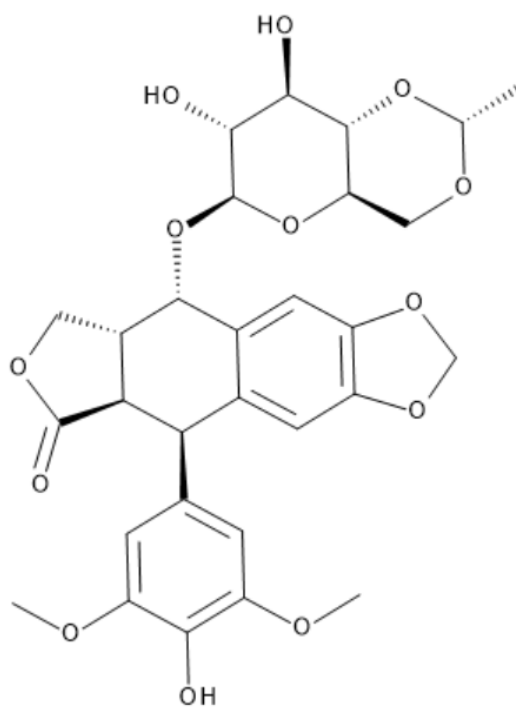


Figure 65: structure de l'étoposide

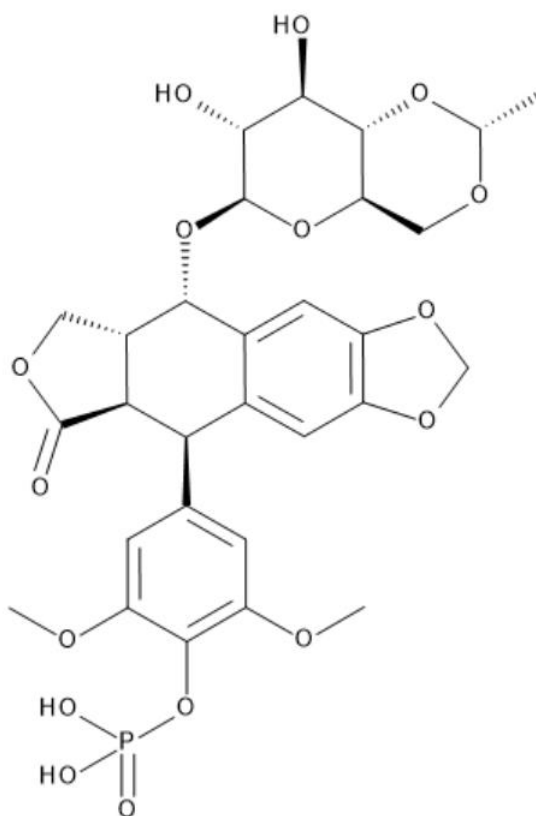


Figure 66 : structure de l'étoposide phosphate

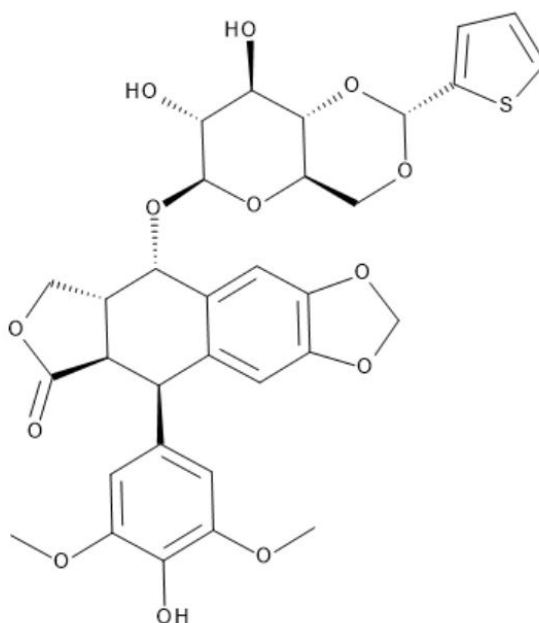


Figure 67 : structure du téniposide

La forme orale de l'étoposide a été commercialisée en France le 11 août 1993 au nom commercial de Celltop® (117).

4) Indications

Actuellement seul l'étoposide est commercialisé en France et il est présent dans de nombreuses indications qui sont regroupées dans le tableau suivant (Tab. XV).

Spécialité / DCI	Celltop®/ Etoposide	Etopophos®/ Phosphate d'étoposide
Indications	▪ Cancer du testicule ▪ Cancer de l'ovaire ▪ Cancers bronchiques à petites cellules ▪ Lymphomes malins hodgkiniens et non hodgkiniens ▪ Leucémie aigüe myéloïde ▪ Néoplasies Trophoblastiques gestationnelles (que pour Etoposide IV)	▪ Cancer bronchopulmonaire à petites cellules ▪ Cancer de l'ovaire ▪ Cancer du testicule ▪ Leucémie aigüe myéloblastique ▪ Lymphome malin non hodgkinien ▪ Maladie de Hodgkin ▪ Tumeur trophoblastique gestationnelle
Modalité d'administration	Voie orale pour Celltop® et Intraveineux pour Etoposide Viatrix®, Hikma®, Accord® et Teva®.	Intraveineux

Tableau XV : indications du Celltop® et d'Etopophos®(35,117)

Des cas de réactions allergiques peuvent avoir lieu avec l'étoposide causées par la présence de polysorbate 80. Afin de pouvoir poursuivre le traitement, il peut être remplacé par le phosphate d'étoposide qui lui n'en contient pas. Cependant des réactions allergiques peuvent aussi avoir

lieu avec ce dernier mais, dans ce cas, cette réaction est sûrement liée à une allergie à l'étoposide (118).

L'AMM du Vepesid® a été archivé le 15 mai 2010, signifiant qu'il n'était plus commercialisé depuis au moins 3 ans ou que le titulaire n'a pas demandé son renouvellement (119).

Le téniposide n'est plus commercialisé en France où il était vendu sous le nom de Vehem-Sandoz® mais aussi dans d'autres pays, comme aux Etats-Unis, où le Vumon® n'est plus commercialisé depuis 2015. Il était indiqué dans les leucémies aigües lymphoblastiques réfractaires en pédiatrie. Les raisons de son arrêt sont mal connues, il semblerait qu'il n'ait pas réellement trouvé sa place dans les différentes stratégies thérapeutiques (120,121).

VI. Perspectives et conclusion

Les formidables découvertes effectuées grâce à *Catharanthus roseus*, *Taxus baccata* / *brevifolia*, *Camptotheca acuminata* et *Podophyllum peltatum* / *hexandrum* mettent en évidence l'importance que jouent les métabolites spécialisés du monde végétal dans la recherche pharmaceutique. Cependant, l'une des principales problématiques rencontrées est la difficulté d'approvisionnement en matières premières. Les principaux enjeux sont donc de préserver les espèces exploitées tout en répondant aux besoins d'approvisionnement.

Parmi les plantes présentées, citons *Podophyllum hexandrum* qui est une plante en grand danger en raison tout particulièrement de son importante exploitation pour ses propriétés médicinales en tant que source de podophyllotoxine, mais aussi en raison de la hausse des températures dans la région himalayenne induite par les changements climatiques. Par conséquent, il est primordial de mettre en place des mesures pour préserver ces plantes et pour favoriser une récolte durable. Cela passe notamment par la mise en place de zones protégées mais aussi de conservation ex-situ (banque de semences et cryobanques) et le développement des biotechnologies afin de disposer d'alternatives pour produire les traitements. Certaines avancées vont dans ce sens avec la découverte complète des voies de biosynthèse de la podophyllotoxine en 2015 (104,122).

Afin de répondre à ces enjeux, les biotechnologies tiennent une place importante. Phyton Biotech, une entreprise spécialisée dans ce domaine, a développé un procédé breveté de fermentation cellulaire végétale PCF®. La première étape consiste à sélectionner et développer des lignées cellulaires à partir de la plante entière. Une fois sélectionnées, le laboratoire va s'intéresser aux conditions de culture afin d'optimiser les performances de production des cellules. La deuxième étape concerne la production de la molécule d'intérêt. A partir d'une fiole cryogénique il synthétise une tonne de produit, grâce à la fermentation cellulaire végétale. Cette technologie favorise la croissance naturelle des cellules et l'expression des voies de biosynthèse. Le produit est ensuite récupéré et purifié. Grâce à leur technologie, ils sont devenus les principaux fournisseurs de paclitaxel et de docétaxel, sans dépendre d'extraits dérivés de l'if (123).

Les « Hairy roots » sont également une autre piste en voie de développement afin de soutenir la production de métabolites nécessaires à la production de ces anti-cancéreux. Elles sont obtenues par infection des plantes par une bactérie, *Agrobacterium rhizogenes*. Cette dernière intègre son plasmide inducteur de racines (Ri) dans le noyau des cellules de la plante, entraînant la formation de racines poilues transgéniques possédant une forte croissance et capacité de production de métabolites. De plus, elles se développent en l'absence d'hormones et elles sont génétiquement stables. Par exemple, *Ophiorrhiza pumila* fait l'objet de cette technique pour la production de camptothécine grâce à son cycle de croissance court, une transformation génétique et une régénération végétale facile. Les « Hairy roots » de cette plante permettent de produire 1,49 fois plus de camptothécine que dans les racines de plantules sauvages. Les « Hairy roots » se présentent comme une potentielle future solution aux enjeux de production des molécules d'intérêts mais nécessitant une amélioration de ce procédé afin de l'adapter à l'échelle industrielle.(124,125)

La découverte de nouveaux traitements à partir de plantes n'appartient pas qu'à un passé lointain. Prenons l'exemple du Synribo® (DCI : mépésuccinate d'omacétaxine) mis sur le marché en 2012 aux Etats-Unis par Chemgenex Pharmaceuticals dans le traitement des leucémies myéloïdes chroniques résistantes aux inhibiteurs de tyrosine kinase. Ce nouveau traitement a été développé à partir de l'homoharringtonine, qui est un métabolite spécialisé de la famille des alcaloïdes présent chez le pin japonais à queue de vache ou *Cephalotaxus harringtonia*. En Europe, elle n'a pas encore été autorisée et des essais cliniques seraient en cours (126,127).

La grande diversité de plantes que nous offre la nature a beaucoup de choses à nous apporter ; il est donc essentiel de poursuivre les efforts engagés pour protéger la biodiversité. Les connaissances anciennes et provenant de diverses cultures doivent également être préservées et mises en lumière car elles sont de réelles sources d'inspiration pour la recherche et le développement de traitements médicamenteux.

VII. Bibliographie

1. Grandes causes de décès en France : tendances et disparités territoriales en 2023 [Internet]. [cité 18 déc 2025]. Disponible sur: <https://www.santepubliquefrance.fr/presse/2025/grandes-causes-de-deces-en-france-tendances-et-disparites-territoriales-en-2023>
2. Ben Soussan P., La déclaration de guerre au cancer. Même pas vrai ! 2004;70-84.
3. Quetin-Leclercq J. Le voyage insolite de la plante au médicament. *J Pharm Belg.* 2002 ; 57:11-20.
4. Pole S., Ayurvedic Medicine: The Principles of Traditional Practice. London : Singing Dragon; 2013.
5. Ministère de l'Agriculture et de la Souveraineté alimentaire [Internet]. Ressources génétiques : l'application du protocole de Nagoya en France. [cité 2 juill 2024]. Disponible sur: <https://agriculture.gouv.fr/ressources-genetiques-lapplication-du-protocole-de-nagoya-en-france>
6. Potier P, Chast F. *Le magasin du Bon Dieu*. Paris: JC Lattès. 2001.
7. Société Française d'Ethnopharmacologie [Internet]. [cité 17 mars 2025]. Ethnopharmacologie, plantes médicinales, médecine traditionnelle. Disponible sur: <http://www.ethnopharmacologia.org/definition/>
8. naturelle M national d'Histoire. Inventaire National du Patrimoine Naturel. [cité 5 juill 2024]. *Catharanthus roseus* (L.) G.Don, 1837 - Pervenche de Madagascar. Disponible sur: <https://www.patrinat.fr/fr/inventaire-national-du-patrimoine-naturel-inpn-6042>
9. *Premiere_motion_pervenche* [Internet]. [cité 7 oct 2025]. Disponible sur: https://www.ilerouge.org/documents/Premiere_motion_pervenche.pdf
10. Veyret Y. Quelques données pour la biosystématique de pervenches malgaches (genre *Catharanthus* G. Don, Apocynaceae). *Candollea*. 1974;29: 297-307.
11. Roux ML, Guéritte F. *La Navelbine® et le Taxotère®: Histoires de sciences*. London: ISTE Group; 2017.
12. Plants of the World Online [Internet]. [cité 5 août 2024]. *Catharanthus roseus* (L.) G.Don | Plants of the World Online | Kew Science. Disponible sur: <http://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:77880-1>
13. Siyang. Rose Periwinkle - *Catharanthus roseus* [Internet]. [cité 5 août 2024]. Disponible sur : https://uforest.org/plants/species?q=Catharanthus_roseus.
14. Plaizier A. C. A revision of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don (Apocynaceae). *Medelingen Landbouwhogeschool Wageningen*. 1981;1: 1-14.

15. Verpoort R, de Luca V, Yu RM, Zhu J. Catharanthus - an overview | ScienceDirect Topics [Internet]. [cité 11 juill 2025]. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/topics/pharmacology-toxicology-and-pharmaceutical-science/catharanthus>
16. Goswami S, Ali A, Prasad ME, Singh P. Pharmacological significance of *Catharanthus roseus* in cancer management: A review. *Pharmacological Research - Modern Chinese Medicine*. 1 juin 2024;11:100444.
17. Das S, Baran Sharangi A. Madagascar periwinkle (*Catharanthus roseus* L.): Diverse medicinal and therapeutic benefits to humankind. *J Pharmacogn Phytochem*. 2017;6(5):1695-1701.
18. Halberstein RA. Blood Pressure in the Caribbean. *Human Biology*. 1999;71(4):659-84.
19. Noble RL. The discovery of the vinca alkaloids—chemotherapeutic agents against cancer. *Biochem Cell Biol*. 1 déc 1990;68(12):1344-51.
20. Lewin G. Drôles d’histoires de médicaments d’origine naturelle : de A comme Artémisinine à Z comme Ziconotide. Paris: Books on demand. Vol. 1. 2019. 284 p.
21. Warwick OH, Darte JMM, Brown TC, Beer CT, Cutts JH, Noble RL. Some Biological Effects of Vincalukoblastine, an Alkaloid in *Vinca rosea* Linn in Patients with Malignant Disease*. *Cancer Research*. 1 août 1960;20(7_Part_1):1032-40.
22. Bohannon RA, Miller DG, Diamond HD. Vincristine in the Treatment of Lymphomas and Leukemias. *Cancer Research*. 1 mai 1963;23(4_Part_1):613-21.
23. Pugieux C, Nédélec F. La chromatine façonne le fuseau mitotique. *Med Sci (Paris)*. 1 févr 2010;26(2):139-42.
24. Bhattacharyya B, Wolff J. Tubulin aggregation and disaggregation: mediation by two distinct vinblastine-binding sites. *Proc Natl Acad Sci USA*. juill 1976;73(7):2375-8.
25. Cersosimo RJ, Bromer R, Licciardello JTW, Hong WK. Pharmacology, Clinical Efficacy and Adverse Effects of Vindesine Sulfate, A New Vinca Alkaloid. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*. 1983;3(5):259-72.
26. Base de Données Publique des Médicaments [Internet]. [cité 14 sept 2025]. Disponible sur: <https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr>
27. Vindesine (Eldisine) | HemOnc.org - Un wiki sur l’hématologie et l’oncologie [Internet]. [cité 3 oct 2025]. Disponible sur: [https://hemonc.org/wiki/Vindesine_\(Eldisine\)](https://hemonc.org/wiki/Vindesine_(Eldisine))
28. Potier P, Langlois N, Langlois Y, Guéritte F. Partial synthesis of vinblastine-type alkaloids. *J Chem Soc, Chem Commun*. 1975:670-671.

29. Goodbody AE, Watson CD, Chapple CCS, Vukovic J, Misawa M. Extraction of 3',4'-anhydrovinblastine from *Catharanthus roseus*. *Phytochemistry*. 1988;27(6):1713-1717.
30. Potier P. Synthesis of the antitumor dimeric indole alkaloids from *Catharanthus* species (vinblastine group). *J Nat Prod*. 1980;43(1):72-86
31. Langlois N, Langlois Y, Mangeney P, Potier P. NOUVEAUX COMPOSES BIS-INDOLIQUES UTILES COMME MEDICAMENTS ET PROCEDE POUR LEUR PREPARATION (Brevets) - Data INPI [Internet]. [cité 11 juill 2025]. Disponible sur: <https://data.inpi.fr/brevets/FR2434171?q=#FR2434171>
32. Mathé G, Reizenstein P. Phase I pharmacologic study of a new *Vinca* alkaloid: Navelbine. *Cancer Letters*. 1 juill 1985;27(3):285-93.
33. Skurski P, Klumpp D, Thibaudeau S, Jouannetaud MP. Superacid - un aperçu | Sujets de ScienceDirect [Internet]. [cité 15 juill 2025]. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/topics/chemistry/superacid?utm.com>
34. Jacquesy JC, Jouannetaud MP. La vinflunine, nouvel agent anticancéreux fluoré dérivé des alcaloïdes de *Vinca*. *Annales Pharmaceutiques Françaises*. 1 janv 2005;63(1):28-34.
35. VIDAL [Internet]. [cité 21 avr 2025]. VIDAL, Éclairer vos décisions médicales. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/>
36. naturelle M national d'Histoire. Inventaire National du Patrimoine Naturel. [cité 10 juill 2024]. *Taxus baccata* L., 1753 - If à baies, if commun. Disponible sur: <https://www.patrinat.fr/fr/inventaire-national-du-patrimoine-naturel-inpn-6042>
37. Thomas PA, Polwart A. *Taxus baccata* L. *Journal of Ecology*. 2003;91(3):489-524.
38. eFlore [Internet]. Tela Botanica. [cité 11 juill 2024]. Disponible sur: <https://www.tela-botanica.org/eflore/>
39. L'if commun (*Taxus baccata*) [Internet]. [cité 11 juill 2024]. Disponible sur: https://viagallica.com/v/if_commun.htm
40. Google My Maps [Internet]. [cité 15 août 2025]. *Taxus of the Americas*. Disponible sur: https://www.google.com/maps/d/viewer?mid=1iFDOC_khwPNHEMxITA6CFtAdAJGNC34h
41. Bolsinger C, Jaramillo A. *Taxus brevifolia* Nutt [Internet]. [cité 15 août 2025]. Disponible sur: https://www.srs.fs.usda.gov/pubs/misc/ag_654/volume_1/taxus/brevifolia.htm?utm.com

42. iNaturalist [Internet]. [cité 17 août 2025]. Photos de if de l'ouest (*Taxus brevifolia*) · iNaturalist. Disponible sur: https://www.inaturalist.org/taxa/55209-Taxus-brevifolia/browse_photos
43. jleduc. IF : plante à baies toxique [Internet]. Centre Antipoison de Lille. 2021 [cité 6 août 2025]. Disponible sur: <https://www.cap.chu-lille.fr/2021/01/26/if/>
44. Martin L, Thiébault S. L'if (*Taxus baccata* L.) : histoire et usage d'un arbre durant la Préhistoire récente. *Anthropobotanica* [Internet]. 2010 [cité 11 juill 2024]; Disponible sur: <https://hal.science/hal-03829677>
45. Pl@ntNet [Internet]. [cité 15 août 2025]. *Taxus baccata* L., If commun (Flore mondiale). Disponible sur: <https://identify.plantnet.org/fr/k-world-flora/species/Taxus%2520baccata%2520L./data>
46. Sharma P, Uniyal P. Traditional knowledge and conservation of *Taxus baccata* in Sikkim Himalaya. *NeBio*. 1 janv 2010;1.
47. World Flora Online [Internet]. [cité 15 août 2025]. Disponible sur: <https://www.worldfloraonline.org/>
48. Plantes et botanique [Internet]. Plantes et botanique; 2020 [cité 15 août 2025]. Plantes et botanique : Genre des *Taxus*. Disponible sur: <https://www.plantes-botanique.org/>
49. Uzquiano P, Allué E, Antolín F, Burjachs F, Picornel L, Piqué R, et al. All about yew: on the trail of *Taxus baccata* in southwest Europe by means of integrated palaeobotanical and archaeobotanical studies. *Veget Hist Archaeobot*. 1 janv 2015;24(1):229-47.
50. Catuvolcos - 2792 - L'encyclopédie - L'Arbre Celtique [Internet]. [cité 4 oct 2025]. Disponible sur: <https://arbre-celtique.com/encyclopedie/catuvolcos-2792.htm>
51. Jijie AR, Iliescu D, Sbârcea L, Boru C, Pătrașcu D, Iftode OA, et al. A Deep Dive into the Botanical and Medicinal Heritage of *Taxus*. *Plants*. janv 2025;14(10):1439.
52. Benkhnigue O, Akka FB, Salhi S, Fadli M, Zidane L. Catalogue des plantes médicinales utilisées dans le traitement du diabète dans la région d'Al Haouz-Rhamna (Maroc). *J Anim Plant Sci*. 2014;23(1):3539-3568.
53. Wall ME, Wani MC. Camptothecin and taxol: from discovery to clinic. *avr* 1996;239-54.
54. Schiff PB, Fant J, Horwitz SB. Promotion of microtubule assembly in vitro by taxol. *Nature*. févr 1979;277(5698):665-7.
55. Lewin G. Nouvelles drôles d'histoires de médicaments d'origine naturelle. Paris: Books on demand. Vol. 2. 2021. 298 p.

56. Guéritte-Voegelein F, Sénilh V, David B, Guénard D, Potier P. Chemical studies of 10-deacetyl baccatin III: Hemisynthesis of taxol derivatives. *Tetrahedron*. 1 janv 1986;42(16):4451-60.
57. TAXOL Kaposi Avis 1 [Internet]. [cité 11 sept 2025]. Disponible sur: <https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/ct032529.pdf>
58. Guéritte-Voegelein F, Guénard D, Lavelle F, Le Goff MT, Mangatal L, Potier P. Relationships between the structure of taxol analogs and their antimitotic activity. *J Med Chem*. 1991;34(3):992-998.
59. Antonarakis E, Paller. Cabazitaxel: a novel second-line treatment for metastatic castration-resistant prostate cancer. *DDDT*. mars 2011;117.
60. Vrignaud P, Semiond D, Benning V, Beys E, Bouchard H, Gupta S. Preclinical profile of cabazitaxel. *DDDT*. 13 oct 2014;8:1851-67.
61. Jevtana | European Medicines Agency (EMA) [Internet]. 2018 [cité 12 sept 2025]. Disponible sur: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/jevtana>
62. ITIS - Report: *Camptotheca acuminata* [Internet]. [cité 16 juill 2024]. Disponible sur: https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=505893#null
63. Li S, Zhang W. Ethnobotany of *Camptotheca Decaisne*: New Discoveries of Old Medicinal Uses. *TOPHARMCJ*. 31 déc 2014;5(1):140-5.
64. *Camptotheca acuminata* dans Flora of China @ efloras.org [Internet]. [cité 16 juill 2024]. Disponible sur: http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=2&taxon_id=200014692
65. Galushko RV, Denisova OS, Gordeev VN. *Camptotheca acuminata* — un guide pour des vacances en Crimée [Internet]. [cité 30 juill 2024]. Disponible sur: <https://jalita.com/guidebook/flora/camptotheca.shtml>
66. *Camptotheca acuminata* - Krachtigeplanten.nl van Plantaardigheden.nl [Internet]. [cité 30 juill 2024]. Disponible sur: <https://krachtigeplanten.nl/1/Camptotheca%20acuminata.htm>
67. PictureThis [Internet]. [cité 30 juill 2024]. How to Plant and Grow Happy tree(*Camptotheca acuminata*). Disponible sur: https://www.picturethisai.com/wiki/Camptotheca_acuminata.html
68. Perdue RE. *Camptotheca Acuminata Decaisne* (Nyssaceae) Source of Camptothecin: An Anti-leukemic Alkaloid. U.S. Agricultural Research Service; 1970. 28 p.
69. *Bupleurum marginatum* – eFlora of India [Internet]. [cité 27 avr 2025]. Disponible sur: <https://efloraofindia.com/efi/bupleurum-falcatum-var-marginatum/>

70. XU Y. 华南青皮木 *Schoepfia chinensis*-花卉图片网 [Internet]. [cité 27 avr 2025].
Disponible sur: <http://www.fpcn.net/a/yeshenghuahui/20180723/8088.html>
71. Costin D, Potmesil M. Preclinical and clinical development of camptothecins. *Adv Pharmacol.* 1994;29B:51-72.
72. Martín-Encinas E, Selas A, Palacios F, Alonso C. The design and discovery of topoisomerase I inhibitors as anticancer therapies. *Expert Opin Drug Discov.* juin 2022;17(6):581-601.
73. Costin D, Potmesil M. Preclinical and clinical development of camptothecins. *Adv Pharmacol.* 1994;29B:51-72.
74. Govindachari TR, Viswanathan N. Alcaloïdes de *Mappia foetida*. *Phytochemistry.* 1 janv 1972;11(12):3529-31.
75. Raveendran VV. Camptothecin-Discovery, Clinical Perspectives and Biotechnology. *Natural Products Chemistry & Research.* 3(3):1-7.
76. Macías-Rodríguez L, Contreras-Cornejo HA, Adame-Garnica SG, del-Val E, Larsen J. The interactions of *Trichoderma* at multiple trophic levels: inter-kingdom communication. *Microbiological Research.* 1 nov 2020;240:126552.
77. Hsiang YH, Hertzberg R, Hecht S, Liu LF. Camptothecin induces protein-linked DNA breaks via mammalian DNA topoisomerase I. *Journal of Biological Chemistry.* nov 1985;260(27):14873-8.
78. Bailly C. Irinotecan: 25 years of cancer treatment. *Pharmacological Research.* 1 oct 2019;148:104398.
79. Pizzolato JF, Saltz LB. The camptothecins. *The Lancet.* 28 juin 2003;361(9376):2235-42.
80. Édition professionnelle du Manuel MSD [Internet]. [cité 4 oct 2025].
Rhabdomyosarcome - Pédiatrie. Disponible sur:
<https://www.msdmanuals.com/fr/professional/pédiatrie/cancers-pédiatriques/rhabdomyosarcome>
81. Douillard JY, Cunningham D, Roth AD, Navarro M, James RD, Karasek P, et al. Irinotecan combined with fluorouracil compared with fluorouracil alone as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: a multicentre randomised trial. *The Lancet.* 25 mars 2000;355(9209):1041-7.
82. U.S. Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Office of Surveillance and Epidemiology, Division of Medication Error Prevention and Analysis. *Memorandum: Review of revised label and labeling for Onivyde (irinotecan liposome injection), NDA 207793.* Silver Spring (MD): FDA; 21 Oct 2015.

83. Onivyde pegylated liposomal (previously Onivyde) | European Medicines Agency (EMA) [Internet]. 2017 [cité 12 sept 2025]. Disponible sur: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/onivyde-pegylated-liposomal>
84. Passero FC, Grapsa D, Syrigos KN, Saif MW. The safety and efficacy of Onivyde (irinotecan liposome injection) for the treatment of metastatic pancreatic cancer following gemcitabine-based therapy. *Expert Rev Anticancer Ther.* juill 2016;16(7):697-703.
85. Prakash O, Kumar A, Kumar P, Ajeet A. Anticancer Potential of Plants and Natural Products: A Review. *AJPS.* 21 déc 2013;1(6):104-15.
86. Hycamtin | European Medicines Agency (EMA) [Internet]. 2018 [cité 6 sept 2025]. Disponible sur: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/hycamtin>
87. U.S. Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Division of Clinical Pharmacology 5. *Clinical pharmacology and biopharmaceutics review: Topotecan hydrochloride injection (NDA 200-199/000)*. Silver Spring (MD): FDA; 2010.
88. cancer CCS/ S canadienne du. Société canadienne du cancer. 2023 [cité 8 oct 2025]. Analyse du statut HER2. Disponible sur: <https://cancer.ca/fr/treatments/tests-and-procedures/her2-status-test>
89. Khaiwa N, Maarouf NR, Darwish MH, Alhamad DWM, Sebastian A, Hamad M, et al. Camptothecin's journey from discovery to WHO Essential Medicine: Fifty years of promise. *European Journal of Medicinal Chemistry.* 5 nov 2021;223:113639.
90. Enhertu | European Medicines Agency (EMA) [Internet]. 2021 [cité 12 sept 2025]. Disponible sur: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/enhertu>
91. Trodelvy | European Medicines Agency (EMA) [Internet]. 2021 [cité 12 sept 2025]. Disponible sur: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/trodelvy>
92. Syed YY. Sacituzumab Govitecan: First Approval. *Drugs.* 1 juill 2020;80(10):1019-25.
93. Plants of the World Online [Internet]. [cité 31 juill 2024]. *Podophyllum peltatum L.* | Plants of the World Online | Kew Science. Disponible sur: <http://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:107599-1>
94. Department of Biotechnology, Women University of Azad Jammu and Kashmir, Bagh, Pakistan, Butt TI, Amjad MS, Department of Botany, Women University of Azad Jammu and Kashmir, Bagh, Pakistan. Ethnopharmacology, phytochemistry and cytotoxicity of emerging biotechnological tool: Mayapple (*Podophyllum hexandrum L.*: Berberidaceae). *J Coast Life Med.* 2015;3(8):652-7.

95. Midwest Groundcovers [Internet]. [cité 5 août 2024]. *Podophyllum peltatum* - Midwest Groundcovers, LLC. Disponible sur:
<https://www.midwestgroundcovers.com/plant/podophyllum-peltatum/>
96. *Podophyllum peltatum* (Mayapple) [Internet]. [cité 5 août 2024]. Disponible sur:
http://www.florafinder.org/Species/Podophyllum_peltatum.php
97. Singh N, Agrawal P. Examen exhaustif du profil pharmacognostique et toxicologique de *Podophyllum peltatum* (Bajiaolian). *Pharmacological Research - Modern Chinese Medicine*. 1 mars 2024;10:100353.
98. Plants of the World Online [Internet]. [cité 10 sept 2025]. *Podophyllum hexandrum* Royle | Plants of the World Online | Kew Science. Disponible sur:
<http://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:327192-2>
99. *Podophyllum hexandrum* (Royle.)-Bankakri (बनककरी) – Plantes alimentaires sauvages de l'Himalaya [Internet]. [cité 13 sept 2025]. Disponible sur:
<https://himalayanwildfoodplants.com/2021/08/podophyllum-hexandrum-royle-bankakri-बनककरी/>
100. Singh N, Agrawal P. Une revue complète du profil pharmacognostique et toxicologique de *Podophyllum peltatum* (Bajiaolian). *Pharmacological Research - Modern Chinese Medicine*. 1 mars 2024;10:100353.
101. Sohn JJ, Policansky D. The Costs of Reproduction in the Mayapple *Podophyllum Peltatum* (Berberidaceae). *Ecology*. nov 1977;58(6):1366-74.
102. Meijer W. *Podophyllum peltatum* —may apple a potential new cash-crop plant of eastern North America. *Econ Bot*. janv 1974;28(1):68-72.
103. Guerram M, Jiang ZZ, Zhang LY. Podophyllotoxin, a medicinal agent of plant origin: past, present and future. *Chinese Journal of Natural Medicines*. 1 mai 2012;10(3):161-9.
104. Un Nisa M, Sofi PA, Peerzada I, Masoodi K, Pala N, Bhat G, et al. Phytochemical Profiling and Ethnobotanical Study of *Podophyllum hexandrum* Royle.: Insights from Langate Forest Division, Jammu and Kashmir. *International Journal of Environment and Climate Change*. 4 avr 2025;15:91-103.
105. National Museum of American History [Internet]. [cité 13 sept 2025]. Carter's Little Liver Pills. Disponible sur:
https://americanhistory.si.edu/collections/object/nmah_737830
106. Imbert TF. Discovery of podophyllotoxins. *Biochimie*. 1 mars 1998;80(3):207-22.
107. Schrecker A, Hartwell J. Communications - Components of Podophyllin. XX. The Absolute Configuration of Podophyllotoxin and Related Lignans. *J Org Chem*. 1 mars 1956;21(3):381-2.

108. Podwissotzki V. On the active constituents of podophyllin. *American Journal of Pharmacy*. Mars 1882;54(3):102–104.
109. Culp OS, Kaplan IW. Condylomata Acuminata: Two Hundred Cases Treated With Podophyllin. *Ann Surg*. août 1944;120(2):251-6.
110. Leiter J, Downing V, Hartwell JL, Shear MJ. Damage Induced in Sarcoma 37 with Podophyllin, Podophyllotoxin Alpha-Peltatin, Beta-Peltatin, and Quercetin². *J Natl Cancer Inst*. 1 juin 1950;10(6):1273-93.
111. King ML, Sullivan MM. The Similarity of the Effect of Podophyllin and Colchicine and Their Use in the Treatment of Condylomata Acuminata. *Science*. 13 sept 1946;104(2698):244-5.
112. Hande KR. Etoposide: four decades of development of a topoisomerase II inhibitor. *European Journal of Cancer*. 1 sept 1998;34(10):1514-21.
113. Ross W, Rowe T, Glisson B, Yalowich J, Liu L. Role of Topoisomerase II in Mediating Epipodophyllotoxin-induced DNA Cleavage¹. *Cancer Res*. 1 déc 1984;44(12_Part_1):5857-60.
114. Cons. concurrence, 03-D-35 (BOCCRF 08 octobre 2003) [Internet]. [cité 9 sept 2025]. Disponible sur: https://www.economie.gouv.fr/files/files/directions_services/dgccrf/boccrf/03_12/a0120022.htm
115. Slevin ML, Clark PI, Joel SP, Malik S, Osborne RJ, Gregory WM, et al. A randomized trial to evaluate the effect of schedule on the activity of etoposide in small-cell lung cancer. *JCO*. sept 1989;7(9):1333-40.
116. Base de Données Publique des Médicaments [Internet]. [cité 9 sept 2025]. Disponible sur: <https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/medicament/65619363/extrait>
117. Base de Données Publique des Médicaments [Internet]. [cité 9 sept 2025]. Disponible sur: https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/medicament/67802057/extrait#4.1._Indications_therapeutiques
118. Pringle NR, Gilbar PJ, Grewal GD. Immediate severe hypersensitivity reaction to etoposide phosphate: Case report and review of the literature. *J Oncol Pharm Pract*. juin 2022;28(4):1019-23.
119. Haute Autorité de santé (HAS), Commission de la transparence. *Avis sur les médicaments : ETOPOSIDE HIKMA 20 mg/mL, solution à diluer pour perfusion* (primo-inscription). Saint-Denis La Plaine (France) : HAS; 17 juillet 2024.
120. Teniposide [Internet]. [cité 9 sept 2025]. Disponible sur: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00444>

121. Thouvenel C, Gény MS, Demirdjian S, Vassal G. Autorisation de mise sur le marché et information pédiatrique pour les médicaments de chimiothérapie des cancers : état des lieux et propositions. Archives de Pédiatrie. 1 juill 2002;9(7):685-93.
122. Shah Z, Gohar UF, Jamshed I, Mushtaq A, Mukhtar H, Zia-UI-Haq M, et al. Podophyllotoxin: History, Recent Advances and Future Prospects. Biomolecules. 19 avr 2021;11(4):603.
123. Phyton Biotech [Internet]. [cité 15 sept 2025]. Phyton Biotech. Disponible sur: <https://phytonbiotech.com/>
124. Shi M, Gong H, Cui L, Wang Q, Wang C, Wang Y, et al. Targeted metabolic engineering of committed steps improves anti-cancer drug camptothecin production in *Ophiorrhiza pumila* hairy roots. Industrial Crops and Products. 1 juin 2020;148:112277.
125. Zhu Y, Zhu X, Wen Y, Wang L, Wang Y, Liao C, et al. Plant hairy roots: Induction, applications, limitations and prospects. Industrial Crops and Products. 1 nov 2024;219:119104.
126. Tekinex | Agence européenne des médicaments (EMA) [Internet]. 2011 [cité 15 sept 2025]. Disponible sur: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/tekinex>
127. Omacetaxine mepesuccinate [Internet]. [cité 15 sept 2025]. Disponible sur: <https://go.drugbank.com/drugs/DB04865>

ENGAGEMENT DE NON PLAGIAT

Je, soussigné (e) Marseau Justine

Déclare être pleinement conscient(e) que le plagiat de documents ou d'une partie d'un document publiés constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée. (*Décret n°92-657 du 13 juillet 1992*)

En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées pour écrire ce mémoire.

Signature :



SIGNATURES DU DIRECTEUR DE THESE ET DU DOYEN

N° Étudiant : 21901283

N° Thèse : 115

Nom et Prénom : MARSEAU JUSTINE

Sujet : L'Histoire des découvertes de molécules aux propriétés anticancéreuses à travers
quatre plantes : Catharanthus roseus, Taxus sp., Podophyllum peltatum et
Camptotheca acuminata.

Tours, le : 09/01/2026

Caroline Birser Williams

Le(s) Directeur(s) de Thèse :
Nom(s) et signature(s)

[Signature]

**Vu et Transmis :
Le Doyen**

Le directeur de la Faculté
des Sciences Pharmaceutiques

Pr Denys BRAND

[Signature]

TITRE DE LA THÈSE

L'Histoire des découvertes de molécules aux propriétés anticancéreuses à travers quatre plantes:
Catharanthus roseus, *Taxus sp.*, *Podophyllum peltatum* et *Camptotheca acuminata*.

RÉSUMÉ DE LA THÈSE

Au cours du XXème siècle et jusqu'à aujourd'hui, le cancer est au centre de la recherche médicale et pharmaceutique. La nature quant à elle a toujours été une source de matières premières et d'inspiration pour le traitement de diverses pathologies. Dans le domaine de l'oncologie, quatre plantes se sont particulièrement démarquées : *Catharanthus roseus*, *Taxus baccata* / *Taxus brevifolia*, *Camptotheca acuminata* et *Podophyllum peltatum* / *Podophyllum hexandrum*.

Les études ethnobotaniques à travers le monde ont servi de terreau fertile aux recherches en cancérologie. Différents chercheurs ont travaillé à l'identification des molécules actives et des différents mécanismes d'action, à l'amélioration de leur efficacité et de leur production à l'échelle industrielle.

Les différents traitements développés grâce à ces plantes font maintenant partie intégrante des protocoles en oncologie. La problématique d'approvisionnement en matières premières végétales constitue le principal facteur limitant pour préserver les espèces naturelles exploitées.

MOTS-CLÉS SIGNIFICATIFS DE SON CONTENU, ATTRIBUÉS PAR LE CANDIDAT EN LIAISON AVEC LA BIBLIOTHÈQUE UNIVERSITAIRE ET LES MEMBRES DU JURY

Ethnobotanique – anticancéreux - *Catharanthus roseus* - *Taxus baccata* - *Taxus brevifolia* - *Camptotheca acuminata* - *Podophyllum peltatum* - *Podophyllum hexandrum* – histoire des sciences

JURY**PRÉSIDENT:**

Monsieur Clastre Marc, Professeur de la faculté de pharmacie de Tours-HDR, UFR Pharmacie-Tours

MEMBRES:

Madame Birer-Williams Caroline, Maître de Conférences, UFR Pharmacie-Tours

Monsieur Vitale Adrien, Docteur en pharmacie, Pharmacie des Pijolins - Bourges

Soutenue le 15/12/2025 A l'UFR des sciences pharmaceutiques Philippe Maupas de Tours