



« Nouvelles stratégies de recherche dans le domaine des substances naturelles »



Séance thématique

Mercredi 14 octobre 2020

14 h 00 à 17 h 00

Par visioconférence

Projet de programme

Une science aussi traditionnelle que la chimie des substances naturelles a beaucoup évolué au cours de ces cinq dernières années notamment grâce aux progrès accomplis sur la connaissance du vivant et à sa rencontre avec les nouvelles technologies d'analyse et d'intelligence artificielle. L'objectif de cette séance est de présenter certains aspects de ces développements récents. Les substances naturelles représentent une source majeure de diversité chimique. Elles sont utilisées pour des applications dans des domaines aussi différents que la pharmacie, la cosmétique, l'agroalimentaire et l'agrochimie.

Ces multiples applications sont directement liées à la capacité d'adaptation du vivant, fruit de millions d'années de co-évolution des espèces, ce qui permet la sélection de molécules chimiques originales douées de propriétés biologiques d'intérêt pour l'Homme et sa santé. Le développement d'approches multidisciplinaires conduit ainsi à réunir, autour des substances naturelles, des chimistes, des biologistes et des spécialistes de médecine traditionnelle.

Récemment, de nouveaux champs disciplinaires ont émergé ainsi que de nouvelles exigences éthiques et réglementaires qui modifient profondément la recherche dans ce domaine.

La reconnaissance de l'intérêt des médecines traditionnelles pour la découverte de nouvelles substances actives et la nécessaire protection de la biodiversité sont maintenant encadrées par le protocole de Nagoya. Ce dernier établit un ensemble de principes et de procédures régissant l'accès aux ressources génétiques, un partage juste et équitable des avantages découlant de leur utilisation et il impose des règles strictes en expérimentation.

Pour la recherche de substances bioactives, l'évaluation biologique de chimiothèques et d'extractothèques permet de mettre en évidence de nouvelles interactions avec des cibles biologiques.

La connaissance de la composition d'extraits complexes, provenant par fois de groupes phylogénétiques peu explorés, est indispensable avant toute application. La métabolomique permet une analyse rapide et approfondie de mélanges complexes grâce à des analyses performantes (HPLC-masse, RMN) combinées à des bases de données puissantes. La déconvolution de l'activité des extraits, aidée par la métabolomique, est en train de révolutionner le domaine.

La production de métabolites naturels en vue de leur utilisation reste un défi que la synthèse ne peut pas toujours résoudre. elle peut alors s'envisager par une approche biosynthétique, aidée par l'intelligence artificielle, à partir de bactéries ou de levures, biologiquement modifiées. Enfin, les substances naturelles jouent un rôle pivot dans des domaines de recherche tels que le microbiome et l'immunopharmacologie.

14 h 00 **Ouverture de la séance** par Patrick COUVREUR, *Président de l'Académie nationale de Pharmacie*

14 h 05 **Introduction** par Sylvie MICHEL, Frédéric BONTÉ, Michaël SPEDDING, *membres de l'Académie nationale de Pharmacie*



Marc LITAUDON, Directeur adjoint de l'Institut de Chimie des Substances Naturelles - ICSN-CNRS, UPR 2301, Université Paris-Saclay

"When you have no idea where to begin in a drug discovery program,
Nature is a good starting point"

Ce précepte de la biologiste L.H. Caporale¹ nous enseigne que la nature, et par extension les produits naturels qu'elle a façonnés, a toujours représenté une source d'inspiration pour l'Homme dans sa quête de découverte de nouveaux agents thérapeutiques. Les structures tridimensionnelles complexes des substances naturelles de plantes ou de micro-organismes, aujourd'hui rebaptisées « métabolites spécialisés » (MS), confèrent à ces molécules des propriétés biologiques exceptionnelles, expliquant l'intérêt majeur qu'elles suscitent dans les programmes de découverte et de développement de nouveaux médicaments. Pourtant, malgré l'emploi de technologies plus performantes et les progrès remarquables de la science, il semble que les « petites molécules naturelles » aient perdu de leur attractivité face aux nouvelles stratégies de développement mises en place au début des années 2000s par les grands laboratoires pharmaceutiques. Une des raisons pour lesquelles ils s'en sont détournés tient à la complexité chimique des matrices biologiques dans lesquelles elles se trouvent. Leur détection et leur purification à partir de ces matrices exigent une quantité de travail importante ne pouvant s'accomplir dans des délais compatibles avec le rythme des campagnes de criblage haut débit. À cela s'ajoute l'écueil de la duplication conduisant fréquemment au réisolement de molécules connues, ce qui constitue un handicap important dans la perspective de prise de brevets. Pour répondre aux exigences de rentabilité et d'efficacité, ces travaux ne se conçoivent, aujourd'hui, que si des molécules nouvelles et à fort potentiel biologique sont découvertes.

Depuis un peu moins de 10 ans, les méthodes d'étude des MS sont devenues extrêmement sophistiquées : elles ont recours à des techniques d'analyse qui ont évolué de façon radicale ces dernières années, y intégrant notamment des outils biologiques et bio-informatiques puissants. Parmi ceux-ci, la méthodologie des réseaux moléculaires, développée par le groupe de Pieter Dorrestein² (Université de Californie, San Diego), est basée sur l'utilisation d'un algorithme qui organise les données de spectrométrie de masse tandem (MS/MS) sur la base de la similarité structurale des molécules. Cette approche permet *in fine* de visualiser les métabolomes d'organismes vivants sur une carte spectrale globale et de naviguer au sein de l'espace chimique ainsi créé. En intégrant des couches d'informations supplémentaires à celle-ci, telles que des résultats de criblages biologiques et/ou des données taxonomiques, il devient possible de sélectionner efficacement les espèces d'intérêt et de cibler l'isolement de nouvelles molécules bioactives, ceci dans des temps relativement courts.^{3,4}

S'appuyant sur une collection de plus de 6000 plantes tropicales assemblée au travers de coopérations internationales, l'ICSN a intégré ces nouveaux outils dans une nouvelle approche de « Drug discovery ». Les principaux éléments de cette dernière seront présentés et illustrés d'exemples concrets.

Références

¹ L.H. Caporale, in "Darwin in the Genome: molecular strategies in biological evolution" (McGraw-Hill, 2003)

² M. Wang, et al. *Nature Biotech.* **2016**, 34, (8), 828-837

³ F. Olivon, et al. *ACS Chem. Bio.* **2017**, 12, 2644-2651

⁴ F. Olivon, et al. *J. Nat. Prod.* **2019**, 82, 330-340

Natural products represent an inexhaustible source of novel therapeutic agents. Their complex and constrained three-dimensional structures endow these molecules with exceptional biological properties, thereby giving them a major role in drug discovery programs. However, the search for new bioactive metabolites is hampered by the chemical complexity of the biological matrices in which they are found. The purification of single constituents from such matrices requires such a significant amount of work that should ideally be performed only on molecules of high potential value (chemically novel and biologically active). Recent bioinformatics approaches are beginning to address the complex task of chemical identification of individual metabolites within complex mixtures but methods providing information on the bioactivity potential of natural products prior to their isolation are still lacking and are of key interest to target the isolation of valuable natural products only. To address this issue, we developed an integrated analysis strategy for bioactive natural products prioritization. The approach is based on "molecular networking", a concept recently developed by Pieter Dorrestein¹ (University of California, San Diego), which is based on the organization and visualization of tandem mass spectrometry data through a spectral similarity map. This methodology enables complex metabolomes of unknown organisms from the chemical point of view, to be characterized in an untargeted way by an easy visualization of various spectral groups. Our approach allowed chemotaxonomic information and bioassay screening results to be combined on a multi-informative molecular map^{2,3} offering a radically novel strategy to efficiently select extracts with high structural diversity and to target novel bioactive scaffolds.

References

¹ M. Wang, et al. *Nature Biotechnology* **2016**, 34, (8), 828-837

² F. Olivon, et al. *ACS Chem. Bio.* **2017**, 12, 2644-2651

14 h 45 «**Apport de la métabolomique pour déchiffrer la communication chimique au sein des communautés de microorganismes et la découverte nouveaux composés antibactériens**» (20 min +10 Q/R)



Jean-Luc Wolfender, Institut des Sciences Pharmaceutiques de Suisse Occidentale, Faculté des Sciences, Université de Genève, CH-1211 Genève, membre de l'Académie nationale de Pharmacie

Les micro-organismes jouent un rôle important dans les interactions hôtes-pathogènes. Ceci est vrai dans les écosystèmes naturels, par exemple pour les plantes qui abritent des communautés d'endophytes ou chez les mammifères avec leur un microbiote très variés. L'industrie pharmaceutique s'intéresse également beaucoup aux micro-organismes qui sont la source de médicaments importants produit par fermentation.

Dans ce contexte, nous développons des stratégies analytiques qui visent à caractériser le plus efficacement possible le métabolome des micro-organismes et de mettre en évidence les variations chimiques qui sont liées à leurs interactions.

Nous avons notamment étudié comment les micro-organismes interagissent au travers d'expérience de co-culture et l'étude de l'induction les produits naturels antifongique produits lors de confrontation. Pour ce faire nous avons mis au point des méthodes de profilage chimique basé sur la spectrométrie de masse et sur l'analyse de donnée métabolomique pour la mise en évidence de biomarqueurs. Nous sommes aussi intéressés à tenter de déchiffrer comment les métabolites secondaires pouvaient agir au sein de communautés d'endophytes dans les plantes en analysant le métabolome de la plante hôte et de l'ensemble souches mise en culture. Dans un autre contexte, les approches métabolomiques mises au point ont également permis de comprendre comment des souches microbienne d'intérêt clinique interagissent.

Afin de réussir à identifier les molécules antimicrobiennes responsables de ces interactions une stratégie innovante a été développée. Elle intègre un profilage des extraits par spectrométrie de masse et permet de guider l'isolement rapide à petit échelle des métabolite d'intérêt pour un caractérisation structurale complète par résonance magnétique nucléaire.

Références :

Wolfender, J. L., et al. *Anal. Chem.* **2019**, *91*, 704-742. ; Bertrand, S., et al. *Biotechnol Adv* **2014**, *32*, 1180-1204.

15 h 15 «**Intelligence artificielle et biosynthèse**» (20 min +10 Q/R)



Jean-Loup FAULON, MICALIS Institute, INRAE, Jouy-en-Josas, France, and SynBioChem Center, School of Chemistry, University of Manchester, UK

Nous avons constaté ces dernières années un intérêt croissant pour l'utilisation de l'apprentissage machine en chimie et biologie et la biologie de synthèse ne fait pas exception à cette tendance. Les principales méthodes d'apprentissage développées en biologie de synthèse sont l'apprentissage non-supervisé et supervisé, l'apprentissage actif et par renforcement, et l'apprentissage *in vivo* ou *in vitro*.

L'apprentissage machine supervisé est exploité pour prédire les activités des séquences, concevoir des séquences, associer des signaux biologiques aux phénotypes et optimiser les conditions de culture. Un exemple de prédiction d'activité enzymatique avec des Processus Gaussiens sera exemplifié dans le contexte du métabolisme issue de la promiscuité enzymatique et de la complétude des métabolomes.

L'apprentissage actif et par renforcement utilisent des données d'apprentissage acquises par un processus itératif entre conception et expérimentation. Ces méthodes sont particulièrement adaptées au cycle « Design-Build-Test-Learn (DBTL) » de la biologie de synthèse. L'apprentissage par renforcement sera illustré sur des problèmes de bio-rétrosynthèse pour la production de molécules bioactives, alors que l'apprentissage actif sera exemplifié pour l'optimisation de la productivité des systèmes acellulaires dans la biosynthèse de protéines.

L'ingénierie des dispositifs de traitement de l'information dans les systèmes vivants est l'un des buts de la biologie de synthèse. Pourtant, l'ingénierie de dispositifs qui effectuent des opérations de base d'apprentissage reste largement inexplorée. Un perceptron métabolique sera présenté comme première étape vers l'ingénierie de dispositifs d'apprentissage biologique. Les performances du perceptron seront illustrées par la classification d'échantillons biologiques en fonction de leur composition métabolique.

We have seen the past few years a growing interest in using machine learning in biology and synthetic biology make no exception to this trend. The three main learning methods found in the synthetic biology literature are supervised learning, reinforcement and active learning, and in vivo/in vitro learning.

Supervised machine learning is being exploited to predict sequence activities, engineer sequences, associate biological signals with phenotypes, and optimize culture conditions. An example of promiscuous enzyme activity prediction with Gaussian processes will be shown in the context of underground metabolism and metabolome completion.

Reinforcement and active learning are using training sets acquired through an iterative process. These methods are particularly emendable to the Design-Build-Test-Learn synthetic biology cycle. Reinforcement learning will be exemplified for retrosynthesis and active learning to maximize the productivity of TXTL cell-free systems.

Engineering information processing devices in living systems is a long-standing venture of synthetic biology. Yet, the problem of engineering devices that perform basic operations found in machine learning remains largely unexplored. As a first step toward engineering biological learning devices, a metabolic perceptron will be presented. The performances of the perceptron will be exemplified with biological sample classification based on metabolic composition.

15 h 45 « **Récentes réglementations d'accès aux ressources génétiques, implications pour les chercheurs industriels et académiques** » (20 min + 10 Q/R)



Bruno DAVID, Ex Directeur Phytochimie et Biodiversité à l'Institut de Recherche Pierre Fabre / Expert Biodiversité / Président du groupe de travail Biodiversité du LEEM, membre de l'Académie nationale de Pharmacie

Lors du sommet de la Terre, à Rio de Janeiro (Brésil) en juin 1992, la communauté internationale prend la décision importante de préserver la biodiversité grâce à un cercle vertueux : l'utilisation durable de la biodiversité (ressources génétiques) générera des moyens qui permettront sa préservation. Avant ce sommet international, la biodiversité (plantes, animaux, champignons et micro-organismes) était considérée comme une ressource librement accessible à tous (nationaux ou non) pour des usages

académiques ou industriels. La mise en application de la Convention de Rio sur la Diversité Biologique (CDB) accorde à chaque nation la souveraineté sur ses ressources génétiques ainsi que sur ses connaissances traditionnelles. Les principes généraux de cette convention sont l'utilisation durable de la biodiversité, l'accès à tous en contrepartie d'une contribution juste et équitable, l'application des lois du pays source.

Ensuite la mise en place pratique étant un peu chaotique, le Protocole de Nagoya adopté en 2010 précise la mise en œuvre concrète du dispositif d'accès et de partage des avantages. Le champ d'application est alors clarifié et étendu à la recherche sur le contenu génétique mais aussi biochimique de la biodiversité. Les utilisateurs de ces ressources, universitaires ou industriels, doivent respecter ces réglementations, du ressort de chaque pays source, qui se déclinent à ce jour de manière précise dans plus d'une cinquantaine de pays aux niveaux national, supranational et parfois infranational.

La présentation abordera les enjeux et les implications de ses nouvelles réglementations d'accès aux ressources naturelles pour l'Industrie du Médicament et les chercheurs académiques.

Références :

David B (2018) New regulations for accessing plant biodiversity samples, what is ABS? *Phytochem. Rev.*, 17: 1211–1223

David B (2019) L'Accès et le Partage des Avantages (APA). *La Phytothérapie Européenne*, 112: 5-12

16 h 15 **Conclusion générale par Michaël SPEDDING**, *membre de l'Académie nationale de Pharmacie*

Clôture par Patrick COUVREUR, *Président de l'Académie nationale de Pharmacie*