

**LA DÉCOUVERTE D'UN PRODUIT PHARMACEUTIQUE**  
**Exposé général et travaux sur un nouvel antihistaminique à RP**  
Par M. P. VIAUD – 12-11-1957

et

**RECHERCHE D'UN NOUVEL ANTIBIOTIQUE**  
**AU CENTRE Nicolas GRILLET**  
Auteur inconnu – 16-06-1958

JOURNÉE D'INFORMATION DES JEUNES  
CADRES

---

LA DÉCOUVERTE D'UN PRODUIT PHARMACEUTIQUE

par Mr P. VIAUD

J'aime le sujet dont j'ai à vous entretenir, parce qu'il est passionnant et que je le vis depuis bientôt trente ans. Je souhaiterais vous le faire aimer.

Mais avant de l'aborder, il me vient des appréhensions.

Car vous avez le privilège de la jeunesse et lorsqu'on est jeune, on croit aux vertus d'un certain "ordre" dans toutes les opérations où l'esprit intervient; on imagine volontiers qu'une recherche prend d'emblée la voie toute droite que lui imposent le raisonnement et les premières expériences; on pense à une série d'opérations logiques qui, par cascades régulières, vont jusqu'à la vérité, c'est à dire jusqu'à la découverte que l'on s'était proposé de faire.

Aussi, quand je vous montrerai comment nous opérons, dans quelles voies parfois assez tortueuses et incertaines nous avons coutume de nous engager, j'ai peur que vous n'ayez une mauvaise opinion de nos méthodes et que des critiques vous viennent tout de suite à l'esprit.

Or, ces critiques, vous pensez bien que nous les connaissons. Nous savons ce que nos manières de faire ont d'apparemment irrationnel. Il faut donc que je vous parle d'abord de cette question, pour

vous montrer ensuite sur des exemples que nous ne pouvons pas sans doute procéder autrement.

Il y a, vous le savez, plusieurs types de découvertes, ou, si vous le voulez, plusieurs façons de "découvrir" quelque chose.

Il y a la façon de Leverrier, qui découvre la planète Neptune par le raisonnement et le calcul, de sorte que l'expérience n'a plus qu'à vérifier ce qui a été préalablement conçu. Il y a celle de Christophe Colomb qui, cherchant les Indes, trouve l'Amérique. Et il y a les manières intermédiaires.

Eh bien, les découvertes pharmaceutiques se rapprochent souvent du type de Christophe Colomb. On part d'une hypothèse qui, ensuite, peut se révéler erronée, et quand on parvient à un résultat exploitable, c'est fréquemment celui qu'on ne soupçonnait pas quand on a commencé la recherche.

C'est cela que vous ne comprendrez bien que sur des exemples. Avant d'y arriver, je crois encore utile que nous jetions ensemble quelques regards sur le passé.

#### REGARDS SUR LE PASSE

D'où sortent ces produits qui, importants encore dans nos pharmacopées modernes, y ont été introduits il y a très longtemps ?

La Quinine a sans doute été isolée au début du 19ème siècle, mais là n'était pas la vraie découverte. L'écorce de quinquina avait été apportée du Pérou par les Espagnols et les Portugais, au 17ème siècle, et dut sans doute son premier succès en France à ce qu'elle servit à traiter le Dauphin et que Louis XIV s'intéressa personnellement à ce remède qui nous venait de très loin.

La Morphine, isolée en 1806 de l'Opium, lui-même extrait du Pavot, est parvenue en Europe sous la forme de drogues très impures grâce aux Arabes qui n'avaient fait que recueillir une très ancienne

tradition chinoise concernant les extraits du papaver somniferum album.

Et on pourrait encore citer les cas de la digitaline, de la caféine, etc...

En somme, ces produits sont comme l'héritage d'une sorte de thérapeutique séculaire qui nous est venue en Europe toute formée et quasi prête à l'utilisation. Les chimistes ont mis au point les extractions et obtenu des produits de plus en plus purs. Mais ils n'ont pas découverts ces médicaments.

#### PERIODE DE TRANSITION

Puis au 19ème siècle, quand la chimie s'est développée, on a introduit dans la thérapeutique de nouveaux corps, mais toujours sans une expérimentation préliminaire systématique. L'origine de cette sorte mineure de découvertes était alors, soit une observation fortuite, soit une idée plus ou moins théorique mais, au départ, assez vague.

Ainsi Hoffmann, jeune chimiste de chez Bayer, avait un père rhumatisant, traité par l'acide salicylique qu'il supportait fort mal. Il eut l'idée de chercher des dérivés de cet acide qui seraient mieux acceptés par le système digestif, en prépara quelques-uns, et eut des succès avec l'un d'eux, l'acide acétylsalicylique (A-Spürsäure), produit qui devait être spécialisé quelques années plus tard sous le nom d'Aspirin.

Ainsi encore Livingstone, au cours de ses explorations, parvint à remonter ses chevaux, piqués par la mouche tsé-tsé, en leur donnant de l'arsenic. Le métalloïde et certains de ses dérivés simples furent d'abord considérés comme toniques. C'est au cours de leur emploi que l'on s'aperçut de leurs vertus curatives.

Mais ces résultats n'étaient obtenus que par des essais directs et empiriques sur l'homme.

#### PERIODE MODERNE

La période moderne est caractérisée par l'expérimentation systématique préliminaire sur des animaux. On ne veut plus introduire



de nouveaux corps dans l'organisme humain sans s'être assuré au préalable qu'ils ont les plus grandes chances d'être actifs et non nocifs.

Mais alors, il faut disposer de ce que nous appelons des "tests", c'est à dire savoir reproduire chez l'animal le trouble physiologique que l'on veut guérir chez l'homme, afin d'éprouver l'activité du produit.

Il existe actuellement un nombre considérable de tests bien au point. Je ne peux vous en donner que des exemples.

Ainsi, pour les maladies dues à des parasites (trypanosomiase, amibiases, malaria, maladies à microbes, trichonomiases, helminthiases .....), on introduira dans l'organisme d'animaux convenablement choisis (souris, rats, calfats ....) des quantités dosées de ces parasites, afin de provoquer la maladie que l'on veut guérir et on procédera, sur des groupes d'animaux, à ce que nous appelons généralement des "essais chimiothérapeutiques".

On leur fera absorber, par des voies diverses, des doses de produit évaluées en milligrammes par kilog d'animal et échelonnées d'un groupe à l'autre et on déterminera notamment la dose active minima et la dose léthale 50 %.

On conçoit que plus la différence entre ces deux doses sera grande, ou leur rapport petit, plus le médicament sera intéressant.

Mais il y a aussi les maladies qui sont des disjonctions d'un mécanisme physiologique .

Ainsi les spasmes sont des manifestations extrêmement douloureuses, contractions involontaires de certaines fibres musculaires, par exemple les coliques intestinales ou hépatiques, qu'il importe de faire cesser avant de s'attaquer à la cause, parfois longue ou difficile à diagnostiquer. On cherchera donc des spasmolytiques.

Et on cherchera de même des hypotenseurs, des tonicardiaques, des

hypoglycémiant, et aussi des béchiques, des purgatifs, etc....

Dans ce cas, les tests ou essais pharmacologiques sont plus particuliers. Nous verrons sur des exemples qu'on étudie l'action du médicament, tantôt sur un organe de l'animal vivant, tantôt sur un organe isolé, etc...

Enfin, on est amené à instituer des tests pharmacologiques pour la recherche d'agents qui ne sont pas à proprement parler des agents thérapeutiques : anesthésiques locaux, anesthésiques généraux, produits de contraste pour radiographie, etc...

Il y a donc, dans un Centre de recherches pharmaceutiques comme celui que vous allez visiter, tout un groupe de spécialistes qui sont chargés des multiples essais chimiothérapeutiques et pharmacologiques. Ce sont les biologistes, dont vous verrez les laboratoires dans le bâtiment 1.

Et il faut leur fournir des produits pour leurs essais; c'est alors qu'interviennent les chimistes qui vous recevront dans le bâtiment 2.

### LES RECHERCHES CHIMIQUES

Mais quels produits ces chimistes vont-ils préparer pour les soumettre à leurs collègues biologistes ?

Autrement dit, comment choisir un programme de travaux ?

Pour répondre convenablement à cette question je ne puis que prendre des exemples. C'est eux qui vous montreront combien il y a loin, généralement, entre l'hypothèse de départ et le résultat.

Ils vous montreront aussi combien les idées directrices peuvent être variées.

Tantôt on se réfère à des connaissances classiques concernant une certaine fonction ou une certaine famille de corps, tantôt à des analogies de formules ou de structures moléculaires, tantôt à des

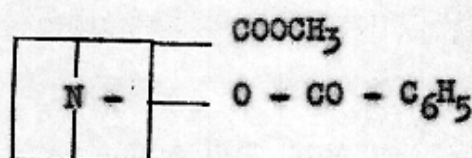


observations fortuites, au laboratoire ou en clinique. On part même souvent d'hypothèses plus ou moins gratuites, et ce ne sont pas les origines les moins fécondes, en particulier quand l'hypothèse s'avère totalement erronée.

### EXEMPLES

#### ANESTHESIQUES LOCAUX

Au début du siècle, on venait de trouver la structure de la Cocaine

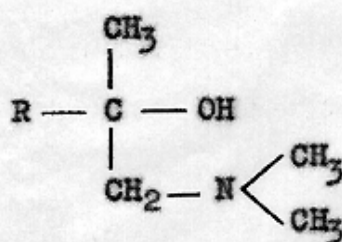


Merling d'une part, Fourneau de l'autre, cherchèrent s'il ne serait pas possible de préparer des corps qui, tout en conservant une analogie structurale et fonctionnelle avec la cocaine, n'en présenteraient pas la toxicité.

Mais la présence du cycle pipéridinique, si elle était responsable, comme on le pensait, de la toxicité, n'était-elle pas néanmoins indispensable à la conservation des propriétés anesthésiques locales ?

L'idée de Fourneau fut d'essayer, malgré cette hypothèse non vérifiée, de simplifier la structure en remarquant que la cocaine est un ester d'amino-alcool.

Partant d'amines du type

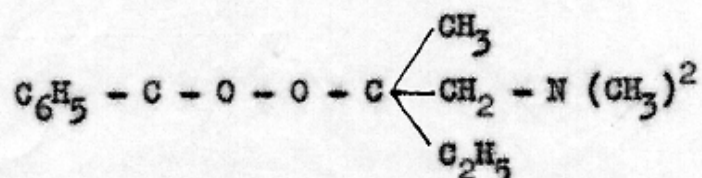


il prépara une série d'esters benzoïques dont les chlorhydrates solubles dans l'eau se montrèrent effectivement nettement analgési-

ques et peu toxiques.

L'essai pharmacologique consiste à injecter le produit au voisinage immédiat de l'oeil du lapin et à provoquer des clins d'yeux ou nystagmus qui cessent quand les muscles sont anesthésiés.

Fourneau retint l'un des produits expérimentés :



dont le chlorhydrate a été lancé en 1904 par les Etablissements Poulenc Frères sous le nom de Stovaine.

#### SPASMOLYTIQUES

La découverte d'un spasmolytique de synthèse "maison", exploité par Spécia sous le nom de Propivane, s'est faite de façon assez analogue.

Pour calmer les spasmes on employait, et on emploie encore, l'atropine et ses sels, mais on reproche à ces produits leur toxicité et un certain nombre d'effets secondaires tels que la sécheresse de la bouche et les battements du coeur.

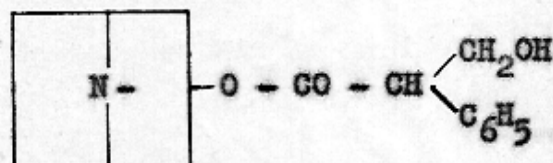
L'idée de départ fut de s'inspirer de la formule de l'atropine, qui est aussi un ester d'amino-alcool, et, en partant d'un ester beaucoup plus simple, d'en compliquer progressivement la formule.

L'activité spasmolytique était déterminée par un essai très caractéristique qu'on vous montrera tout à l'heure. On maintient sous faible tension un morceau d'intestin de lapin dans un liquide spécial qui le garde en "survie". Dès qu'on ajoute certains produits spasmant comme l'histamine, le morceau d'intestin se contracte. Mais le phénomène n'a pas lieu ou se manifeste moins intensément quand on apporte une petite quantité de spasmolytique. Bien entendu, les contractions sont transcrites sous forme de courbes.



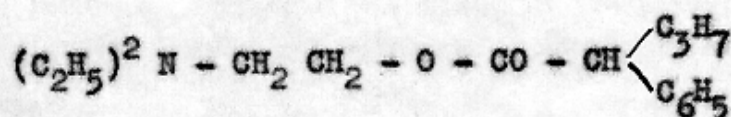
On a donc fait ainsi les essais de chaque ester préparé, et on en a déterminé le rapport activité/toxicité.

L'atropine a pour formule :



On pouvait se demander si l'activité spasmolytique n'était pas liée, soit à la présence de l'amino-alcool cyclique, soit à celle de l'acide tropique.

Or, on est arrivé, par substitutions successives, à un excellent spasmolytique qui ne présente pas les inconvénients signalés pour l'atropine et où les deux éléments en question ne figurent pas. La formule du Propivane est en effet :



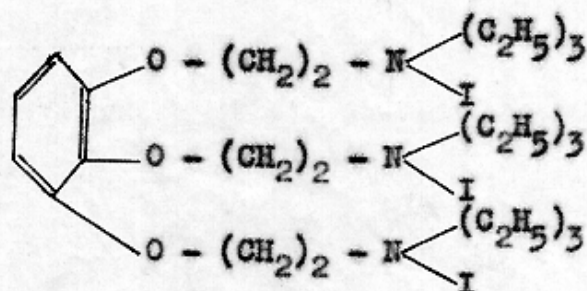
### CURARISANTS

Vous connaissez le curare, ce produit dans lequel les Indiens de l'Amérique du Sud trempaient leurs flèches pour les empoisonner.

Les produits rapportés de Haute-Amazone ou du Pérou sont en réalité des mélanges très divers et très complexes (les curares de Calbas contiennent 35 alcaloïdes différents).

Leur action physiologique était connue depuis longtemps et on savait depuis longtemps aussi qu'elle est due à la présence de la fonction ammonium quaternaire, lorsque King, en 1935, isola le principe essentiel, la d-turbocurarine, qui est un corps à grosse molécule complexe (le poids moléculaire est de 697) qui possède deux ammoniums quaternaires séparés par 10 chaînons.

Bovet, au laboratoire de Fourneau, essaya d'abord d'engager l'ammonium quaternaire dans une molécule de quinoléine. Puis, en 1947, il parvint à un corps qui est, en somme, un pyrogallol sur lequel on a fixé un ammonium quaternaire sur chaque OH :



c'est le Flaxédil de Spécia, curarisant de synthèse.

Ultérieurement, on obtint d'excellents curarisants de formules encore plus simples, en particulier dans la famille des méthoniums, produits à groupes ammonium quaternaire constitués d'une chaîne aliphatique possédant à ses extrémités des triméthyl ammonium bromures.

Mais, il y a longtemps déjà, on avait constaté que lorsque les ammoniums quaternaires se rapprochent, l'action curarisante disparaît, tandis qu'elle semble s'accroître quand ils s'écartent.

Ici, la constatation est plus complète, tandis que le décame-  
thonium (méthonium en  $\text{C}_{10}$ ) montre une forte action curarisante, supérieure à celle du Flaxédil, le pentaméthonium et l'hexaméthonium, non seulement ne sont plus curarisants, mais permettent de corriger en l'atténuant l'action d'un curarisant.

Cette activité particulière les fait utiliser comme hypotenseurs.

Il s'agit là d'une sorte de "don gratuit" qui a été fait aux chercheurs qui, explorant une famille de corps pour trouver de nouveaux curarisants, ont obtenu en outre des produits présentant des propriétés inattendues.

Les curarisants sont essayés sur le lapin. Sous l'effet d'un curarisant vrai, les muscles de la nuque se relâchent et la tête tombe.



On détermine la dose minimum qui provoque ce phénomène ou dose "head drop".

### TRYPANOCIDES

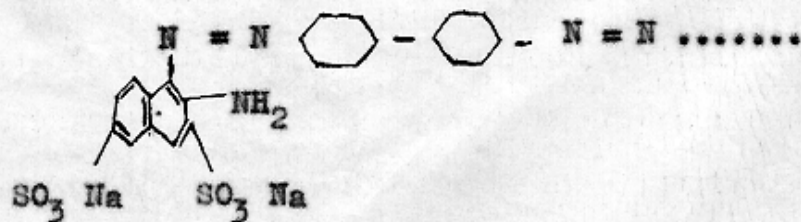
Avec le groupe des dérivés des diamidines, nous arrivons à un exemple de recherche dans laquelle le résultat, bien que répondant exactement au but que l'on s'était fixé, n'a cependant aucun lien avec l'hypothèse de départ.

On avait déjà remarqué que le trypanosome a besoin de sucre pour assurer sa vie normale. On espérait donc trouver des trypanocides parmi les substances hypoglycémiantes. On connaissait déjà de telles substances, notamment la Synthéline, guanidine à longue chaîne, mais qui ne montrait pas l'activité cherchée. Il parut logique d'étudier des dérivés de cette famille des guanidines.

Or, le produit auquel les recherches ont abouti, la Lomidine Spécia ou diamidine M, est un excellent trypanocide très bien toléré par l'organisme, mais qui ne possède aucune activité hypoglycémiante.

L'histoire du Moranyl (germanine 205 Bayer) autre excellent trypanocide, est également très caractéristique.

Ehrlich et son école voulaient utiliser le fait que certains colorants azoïques se fixent in vitro sur les protozoaires. Ils expérimentèrent différents corps substitués du groupe des diazos et c'est ainsi que naquit notamment le rouge trypan, un des premiers trypanocides, de formule :





Puis, d'autres diazoïques furent expérimentés, notamment l'Afridol violet de Nicolle, qui est une urée bis diazo.

C'est en partant de cette idée d'urée symétrique que les chimistes de Bayer parvinrent un jour à un produit, le 205 B, qui se montra trypanocide énergique mais qui n'était plus un diazoïque.

Ils se trouvaient en outre devant un cas surprenant de spécificité. Les moindres modifications apportées à la molécule du produit changeaient entièrement son activité. Il suffisait, par exemple, de déplacer un groupe méthyle, de le faire passer d'un noyau à l'autre, pour supprimer tout effet trypanocide. Le déplacement d'une ou plusieurs fonctions sulfonées dans le noyau naphthalène sulfonique apportait les mêmes perturbations, ainsi que le remplacement de l'acide aminobenzoïque par des acides aminosalicyliques ou aminophénylacétiques, par exemple.

En présence de cette découverte inattendue et remarquable, Bayer décida de ne pas publier la formule du nouveau corps et de procéder à son expérimentation clinique avec une très grande discrétion. Mais quand on entendit parler pour la première fois du produit, fin 1920, début 1921, Fournieu put s'en procurer des échantillons et parvint à reconstituer la formule. Telle fut la naissance du Moranyl.

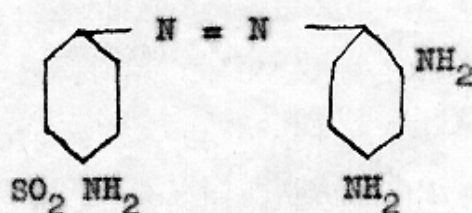
#### SULFAMIDES

Malgré cette déviation assez sensationnelle dans la voie de leurs recherches, les allemands continuèrent à expérimenter les colorants azoïques.

Ils pensèrent que puisque certains de ces colorants se révélaient microbicides in vitro, ils pourraient, en faisant varier convenablement les constituants du groupe azoïque, obtenir un corps capable de faire parvenir in vivo, dans l'organisme microbien, un facteur microbicide.

Après de longues années de tâtonnements, les chimistes de l'I. G. eurent l'idée d'introduire, à tout hasard, une fonction sulfamide dans leurs azoïques et ils obtinrent un corps actif sous l'espèce d'un azoïque dérivé du parasulfamido benzène, le fameux Protonsil, dont la découverte sensationnelle fut annoncée en Février 1935.

La formule de ce premier des microbicides synthétiques est :



Selon les inventeurs et expérimentateurs, l'activité du Protonsil était due à la présence de la fonction azoïque dans la molécule, et la fonction sulfamidée n'intervenait que pour aiguiller l'activité microbicide de l'azoïque vers un point de moindre résistance de l'organisme microbien.

En réalité, le mécanisme de cette activité était tout autre et l'un des grands succès de l'Ecole de Fourneau est d'avoir trouvé et démontré promptement quelle est la partie réellement active de la molécule du nouveau corps.

Les chercheurs du laboratoire Fourneau remarquèrent d'abord que le Protonsil, très actif in vivo, ne manifeste aucune action antibactérienne in vitro. Ils pensèrent que le produit devenait actif dans l'organisme par suite d'une coupure, ce qui les conduisit à étudier l'activité des deux moitiés de la molécule d'azoïque. Et c'est ainsi qu'ils constatèrent l'activité antibactérienne remarquable, aussi bien in vitro que in vivo, du para aminobenzène-sulfamide.

Ainsi l'hypothèse de l'activité spécifique des diazoïques se montrait une fois de plus erronée, mais elle avait conduit à l'une des découvertes les plus importantes du siècle.

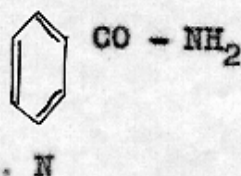


Depuis lors, on a préparé et étudié des milliers de "sulfamides" et vous connaissez sans doute parmi eux le Dagénan, obtenu par substitution du reste alpha-pyridyl à un hydrogène du groupe  $\text{SO}_2\text{NH}_2$ , le Thiazomide, qui résulte de l'introduction d'un reste thiazolyl, etc, etc...

#### ANTITUBERCULEUX

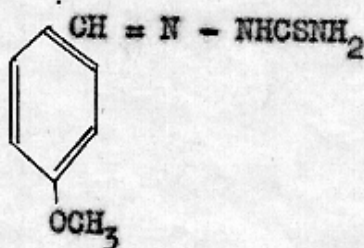
La découverte de l'Isoniazide, important médicament antituberculeux, semble être due à un pur hasard.

On avait pourtant constaté, dès 1945, que l'amide de l'acide nicotinique

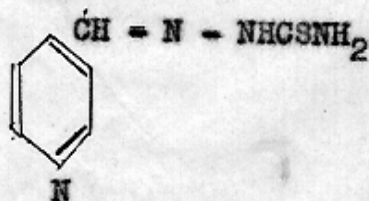


exerce, en plus de son activité vitaminique PP, une certaine action "tuberculostatique" à doses élevées, mais on n'avait pas pensé à son hydrazidé.

Des chercheurs partirent d'un produit soufré connu ( $\text{Tb}_1$ ) conformément aux idées du moment :

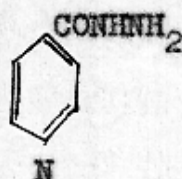


Ils voulurent le transformer en amide,





C'est ce qui donna l'occasion d'essayer l'intermédiaire :



Or, celui-ci révéla une activité contre le BK incomparablement supérieure à celle des autres produits expérimentés.

#### ANTIHISTAMINIQUES - PHÉNOTHIAZINES

Je n'ai plus le temps de vous expliquer par quelle voie on est arrivé aux premiers antihistaminiques, Antergan, puis Néo-antergan.

Mais il ne m'est pas possible de vous quitter avant de vous avoir parlé des dérivés de la phénothiazine, car cette famille de produits a joué et continue à jouer un rôle très important dans l'activité et dans la renommée de la Société.

L'étude de cette famille des phénothiazines (nous en avons préparé environ 1.500) a conduit au dépôt de 129 brevets ou demandes de brevets en France, correspondant à 705 brevets accordés dans le monde et à plus de 2.000 demandes. Elle s'est traduite, en pratique, par l'exploitation brillante de 18 spécialités.

Les nouveaux médicaments ont fait l'objet de près de 20.000 publications dans le monde, ce qui est vraiment tout à fait exceptionnel dans la littérature chimiothérapeutique.

Les phénothiazines sont à l'origine de techniques importantes en anesthésiologie : potentialisation des anesthésiques et hibernation médicamenteuse; et surtout, elles ont ouvert une ère nouvelle en psychiatrie, celle du traitement des troubles psychiques par les médicaments.

Or, leur origine est due pour une grande part au hasard.

Vous savez ce que sont les antihistaminiques. L'histamine est une substance qui doit être présente dans l'organisme pour assurer un

bon équilibre biologique, mais dès qu'elle s'y trouve en excès par suite d'actions extérieures d'origines très variées, des troubles très graves se produisent, réunis et décrits sous le nom de phénomènes allergiques.

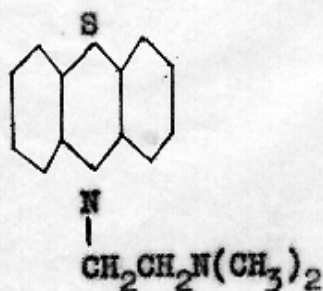
Les antihistaminiques sont destinés à supprimer ces phénomènes, consécutifs aux décharges d'histamine.

Pendant l'occupation allemande, les laboratoires de Vitry, reprenant sous une forme nouvelle des travaux de Bovet qui avaient abouti à des produits très toxiques, étaient parvenus à découvrir les deux premiers antihistaminiques de synthèse utilisables en clinique. Au cours de leurs études, les biologistes avaient mis au point des essais pharmacologiques très sûrs.

En 1944, et tout à fait indépendamment de ces recherches, on décida de s'intéresser aux dérivés de la phénothiazine pour la raison bien nette suivante. La phénothiazine était connue depuis longtemps comme antihelminthique. Ne serait-il pas possible d'obtenir des produits de substitution qui seraient plus efficaces et mieux tolérés ?

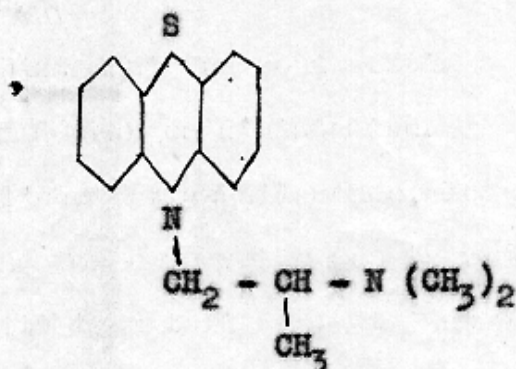
Les essais entrepris pour répondre à cette question se montrèrent rapidement négatifs, mais un jour l'un de nos biologistes, sans aucune idée préconçue, prit un des produits préparés au cours de cette étude et le soumit aux tests des antihistaminiques. Ce fut une révélation.

Il s'agissait du 3015 RP de formule :



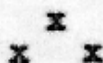


En poussant plus avant les essais sur ce groupe d'amines, on ne tardait pas à mettre en évidence la puissante activité antihistaminique et la faible toxicité d'un produit voisin, de formule :



C'est le 3277 RP ou Phénergan, que vous connaissez tous.

Ces phénothiazines nous réservaient encore bien d'autres surprises, puisque c'est parmi elles que furent découverts des antiparkinsoniens, cette fois par la voie détournée des essais cliniques, puis des anti-émétiques, des spasmolytiques et surtout le premier neuroleptique, le Largacbil.



J'aurais encore beaucoup de choses à vous dire : sur le rôle et l'importance de la documentation, qui nous parvient à la fois de nos services spécialisés et de l'extérieur, sur les notions particulières de spécificités de nos produits que je n'ai fait qu'évoquer à propos du Moranyl, sur la faible durée de vie d'un médicament, etc, etc ...

J'aurais aussi voulu montrer que nos recherches, dans lesquelles, après ce que je vous ai dit, le hasard et l'erreur peuvent vous paraître intervenir de manière essentielle et habituelle, exigent, en fait, beaucoup de travail, de connaissances, d'imagination, de persévérance, et surtout que nos résultats sont en réalité, le fruit de la collaboration étroite d'un grand nombre de personnes.



Mais de celà, j'espère que votre visite vous apportera la meilleure des preuves.

Et si une spécialité pharmaceutique originale sortie de nos laboratoires rencontre le succès dans le Corps Médical, je vous invite à penser à tous ceux qui en partagent le mérite : chimistes, biologistes, analystes, chercheurs du demi-grand, ingénieurs, fabricants, pharmaciens et techniciens chargés de la mise en formule, cliniciens qui nous ont apporté leurs "observations", sources fréquentes de nouvelles notions, et aussi aux responsables de la propagande et aux commerçants ....

L'existence d'une telle solidarité sera, je pense, l'une des leçons qui se dégageront de ces Journées d'Information, que je vous souhaite agréables et fructueuses.

---

## RECHERCHE D'UN NOUVEL ANTIBIOTIQUE

Le Centre Nicolas Grillet possède une intéressante et importante annexe constituée par l'ensemble des services de la Direction des Recherches Biochimiques.

Née pendant la guerre, pour l'étude de la fabrication de la pénicilline, au sein même des Services de Recherches Pharmaceutiques auxquels elle est toujours rattachée, elle occupe maintenant tous les locaux de l'ancienne D.S.Ph.

Au cours de la visite que nous lui faisons aujourd'hui, plutôt que de chercher à en saisir quelques aspects, nous nous proposons de suivre un groupe de recherches qui sont parmi ses activités essentielles : les multiples et longs travaux nécessaires pour tenter de trouver un nouvel antibiotique.

### QUELQUES NOTIONS ELEMENTAIRES

Les bactéries sont les plus simples des organismes vivants. Elles sont constituées d'une seule cellule, de forme variant de la sphère au filament plus ou moins courbé, de dimensions extrêmement petites, allant d'une fraction de micron (millième de millimètre) à quelques microns. A la différence des virus, beaucoup plus petits encore, elles peuvent se multiplier en dehors d'un organisme vivant. Placée dans un milieu et des conditions convenables, la cellule bactérienne s'étrangle et les 2 parties se séparent et s'accroissent aux dimensions de la cellule mère. Cette multiplication est rapide. Tou-



tes les 20 minutes, par exemple, une cellule se transforme en 2 semblables, ce qui en fait 8 au bout d'une heure et, au bout de 12 heures .... 281 milliards. Il leur faut évidemment pour cela une nourriture convenable.

Venant après les bactéries, il existe d'autres êtres microscopiques très simples (on les appelle des végétaux "inférieurs" en raison de leur structure et de leurs modes de reproduction), notamment ceux qui rentrent dans le groupe des "streptomyces" et les "champignons inférieurs", qui se multiplient également très vite, mais par des mécanismes un peu différents.

On appelle généralement "antibiotique" une substance secrétée par des bactéries, des streptomyces ou des champignons inférieurs, et qui détruit certains autres microorganismes inférieurs générateurs de maladies, ou qui s'oppose à leur développement.

La pénicilline est un antibiotique sécrété par des champignons inférieurs du type des moisissures, d'une variété convenable de "penicillium". Elle s'oppose, par exemple, au développement des bactéries ou microbes de maladies graves comme l'infection des plaies, la méningite, la pneumonie. La streptomycine est extraite du streptomyces griseus. Elle est active, notamment, sur la bactérie de la tuberculose, le fameux bacille de Koch.

Chaque variété de microorganisme, ou presque, sécrétant un antibiotique différent des autres, on a déjà, dans les laboratoires du monde entier, isolé et étudié des milliers d'antibiotiques, et pour cela, traité des centaines de milliers d'échantillons de ces microorganismes ou "souches", chacun paraissant original.

Pourtant, la médecine n'utilise actuellement qu'un très petit nombre d'antibiotiques dits "majeurs" (en raison de leur grande importance thérapeutique), une dizaine au plus, et une douzaine d'autres de



moindre valeur ou d'applications très limitées.

C'est que, pour devenir un médicament utile et sûr, un antibiotique doit remplir de nombreuses conditions, et que beaucoup sont éliminés au cours de l'expérimentation.

#### BUT ET SCHEMA DES RECHERCHES

Il faut en outre, quand on découvre un antibiotique, établir sa nouveauté, voir s'il n'en existe pas déjà possédant la même action thérapeutique et des qualités du même ordre.

Enfin, on doit pouvoir le fabriquer à un prix de revient convenable.

Le but poursuivi est en effet de trouver un nouveau produit apportant en toute sécurité des moyens d'action meilleurs dans le traitement de certaines maladies.

On va pour cela, en gros, rechercher une nouvelle variété d'organisme microscopique, développer cette "souche" sans la laisser contaminer par d'autres organismes (et il y en a normalement de toutes sortes dans l'air, dans l'eau, à la surface de tous les corps solides, ...) chercher à en extraire de la "culture" obtenue le ou les produits actifs, faire une étude extrêmement complète de ces produits et, dans le cas très rare où cette étude confirme l'originalité, l'intérêt thérapeutique et l'inocuité aux doses utiles de l'un d'eux, mettre au point sa fabrication industrielle avec un rendement convenable.

C'est là, on va le voir, un travail hérissé de difficultés, qui dure normalement plusieurs années malgré tous les moyens mis en oeuvre, et au bout duquel on n'est nullement assuré du succès.

#### SELECTION DES SOUCHES ET PREMIERES CULTURES

A Vitry, on recherche généralement les nouvelles souches dans des échantillons de terres. Il en arrive de tous les pays du monde, prélevés à une cinquantaine de centimètres de profondeur et

adressés en sachets hermétiquement clos par les agents de nos Maisons ou par nos Sociétés parentes.

Monsieur Gérard POULAIN (figure 1) vient d'en recevoir une centaine, qu'il examine et qu'il classe.

On dilue chacune des terres dans l'eau et une petite quantité de chaque liquide des suspensions de terre est déposée sur la couche nutritive d'une cinquantaine de boîtes de verre dites boîtes à culture de Pétri.

Une campagne de recherches préliminaires portant habituellement sur 100 à 200 terres, c'est donc 5 000 à 10 000 boîtes qui sont ainsi "ensemencées".

Munies de leur couvercle, les boîtes sont portées à l'étuve. Elles y séjournent 15 jours à température constante et pendant ce temps, il y apparaît toutes sortes de microorganismes qui, s'étant développés très vite, se présentent alors comme des taches de formes, de couleurs et de reliefs variés (figure 2).

Généralement, peu de ces "cultures" sont utilisables. Il faut que, comme sur la figure 3, une colonie (ou plusieurs) de streptomyces soit suffisamment isolée et bien formée pour que des prélèvements puissent être faits sans risque de contamination par les colonies voisines.

Le prélèvement est pratiqué sous la loupe binoculaire, ici (figure 4) par Madame Françoise DI MARINO, et chaque souche est repiquée sur gélose nutritive inclinée, dans plusieurs tubes à essais.

Après séjour d'une à deux semaines à l'étuve, on obtient dans ces tubes des "cultures" qui vont permettre les premières études (figure 5).



### SPECTRE ANTIBACTERIEN

Pour porter un premier jugement sur chacun des microorganismes ainsi isolés, on va déterminer ce qu'on appelle son "spectre antibactérien" ou du moins un aspect simplifié de ce spectre, c'est-à-dire les différentes activités de la substance secrétée vis-à-vis des principales bactéries nocives pour l'homme (pathogènes).

Pour cela, on ensemence le microorganisme simplement selon une étroite bande diamétrale, dans une boîte de Pétri; on laisse la culture se développer à l'étuve, et quand la bande est convenable, on ensemence des bandes perpendiculaires de bactéries pathogènes, ce qu'on voit faire ici (figure 6) par Mademoiselle Monique BOUARD, aidée de Madame Emilienne LARUE; puis on porte les boîtes dans une étuve à 37° (~~température du corps humain~~). Au bout d'un jour ou deux (figure 7) si la plupart des souches, comme dans la première boîte, n'ont pas empêché le développement normal des bactéries ou se sont montrées peu actives, un petit nombre, généralement 10 à 15 %, inhibent ce développement comme sur la seconde boîte, à des distances variables que l'on mesure, et qui donnent une idée de <sup>leur</sup> ~~sa~~ activité.

### PREMIERS ESSAIS DE CULTURES IMMERGEES

Mais les masses de microorganismes convenables dont on extrait industriellement un antibiotique ne sont plus produites depuis longtemps dans des boîtes de culture. A l'atelier, les microorganismes prolifèrent au sein d'un liquide nutritif fortement aéré par agitation.

Il faut voir si ceux qui viennent d'être sélectionnés se reproduiront, et de façon satisfaisante, dans des conditions analogues, ce qu'on appelle "en culture immergée ou profonde".

Pour cela, chacune des souches choisie est ensemencée (figure 8) ici par Mademoiselle Irène PELTRE aidée de Madame Louise



ROULAND, dans des liquides nutritifs variés, à l'intérieur de fioles coniques, qui seront portées à l'étuve en nombre considérable, sur de grands agitateurs à va-et-vient.

Périodiquement (figure 9) on prélèvera des échantillons, en retirant quelques fioles, comme on le voit faire par Madame Denise GARNON, et on déterminera leur richesse en antibiotique.

En possession d'une culture convenable, on recueillera le principe actif (le plus souvent par filtration) et on déterminera son activité vis-à-vis d'un certain nombre de bactéries.

Voici, par exemple, une méthode de mesure des activités antibactériennes utilisée par Mademoiselle Anne BERTRAND (figure 10) et dite méthode de diffusion. Après avoir ensemencé la gélose nutritive d'une boîte de Pétri avec une bactérie connue, on y insère des petits anneaux dans lesquels on verse, à la pipette, de très faibles quantités connues du liquide actif à l'essai. L'activité est évaluée dans des appareils d'observation à fond quadrillé (fig. 11) d'après le diamètre des zones claires d'inhibition qui entourent les anneaux.

Les résultats des multiples essais d'activité sont consignés dans des fiches complexes à nombreux voyants colorés, qui permettent notamment, comme on le voit faire par Madame Christiane ATTENOT (figure 12), de comparer rapidement les produits essayés et d'éliminer ceux qui ne présentent pas des propriétés originales?

#### PRODUCTION D'ECHANTILLONS

Il ne reste alors, de tout le travail effectué, que quelques souches qui paraissent intéressantes. Pour pousser plus loin l'étude, il faut disposer d'une certaine quantité de chaque antibiotique, donc étudier sa production, son extraction, sa purification, à une échelle autre que celle du laboratoire. Les fioles coniques vont être remplacées notamment par de nombreux "fermenteurs" d'une capacité de quel-

ques dizaines à quelques centaines de litres.

Monsieur Marc LECLERC aidé de Monsieur Marcel HAURIT ense-  
mence un de ces fermenteurs (figure 13), tandis que Monsieur Paul  
BRUSCHER (figure 14) effectue un prélèvement pour suivre l'opération.

Puis, il faut recueillir le liquide par filtration, et en  
extraire le principe actif par des opérations variées de dissolution,  
de centrifugation (fig. 15) comme en surveille Monsieur Roger BEZIAU,  
de concentration (figure 16) comme la conduit Monsieur Gilbert FUSCO,  
d'absorption sur colonnes, etc....

Et sur le produit obtenu vont commencer ou recommencer,  
dans les services de biochimie, toute une série d'essais physiques,  
chimiques, bactériologiques, afin de connaître toutes les propriétés  
utiles à l'expérimentation sur animaux et éventuellement aux essais  
chimiques qui vont suivre.

Nous avons pu voir, par exemple, Monsieur Maurice  
TATTELBAUM étudier un antibiotique sur ces appareils de distribution  
à contre-courant (figure 17) et Monsieur Michel BONIFAY vérifier  
l'identité d'un des produits à l'essai par chromatographie sur papier  
(figure 18).

#### ESSAIS PHYSIOLOGIQUES ET PHARMACOLOGIQUES

Il arrive qu'au bout de tout ce travail dont on ne peut  
qu'entrevoir la complexité et les difficultés, un, deux, trois pro-  
duits paraissent dignes, par leur activité et leur originalité, de  
faire de bons médicaments.

On se trouve alors quasi au même point que quand, au Centre  
Nicolas Grillet, de nouveaux produits viennent d'être préparés par  
un laboratoire de chimie.

De nombreux et longs essais sur animaux sont nécessaires,  
ainsi qu'une étude des formes sous lesquelles chaque antibiotique pour-  
ra être prescrit, avant qu'il ne puisse être question de penser qu'une



découverte intéressante a été faite et de soumettre le produit à l'expérimentation clinique qui seule peut confirmer cet intérêt.

Et quand le produit se sera révélé réellement actif, sûr et original, il faudra encore mettre au point sa fabrication en grand.

#### L'EXEMPLE DE LA SPIRAMYCINE

A ce jour, les services de Biochimie ont étudié plus de 20 000 souches de Streptomyces. La souche N° 3 486 les a conduits à une importante découverte, celle de la Spiramycine, antibiotique vendu par SPECIA sous le nom déposé de Rovamycine. L'isolement de cette souche a eu lieu en Novembre 1951 et ce n'est qu'après quatre années de recherches et d'essais que le produit a pu être lancé, au cours de l'automne 1955.

---



découverte intéressante a été faite et de soumettre le produit à l'expérimentation clinique qui seule peut confirmer cet intérêt.

Et quand le produit se sera révélé réellement actif, sûr et original, il faudra encore mettre au point sa fabrication en grand.

#### L'EXEMPLE DE LA SPIRAMYCINE

A ce jour, les services de Biochimie ont étudié plus de 20 000 souches de Streptomyces. La souche N° 3 486 les a conduits à une importante découverte, celle de la Spiramycine, antibiotique vendu par SPECIA sous le nom déposé de Rovamycine. L'isolement de cette souche a eu lieu en Novembre 1951 et ce n'est qu'après quatre années de recherches et d'essais que le produit a pu être lancé, au cours de l'automne 1955.

---