

La mer, source de molécules bioactives

par Jean-Yves Mèrou

Institut de chimie organique et analytique, UMR CNRS 6005, université d'Orléans

Introduction

La mer et les océans couvrent près de 75 % de notre globe ; à l'instar de la faune et de la flore terrestres qui sont insuffisamment connues, le monde vivant des océans en est au tout début de sa connaissance. Il est peuplé de plusieurs millions d'espèces animales, végétales, microbiennes qui nous sont parfois totalement inconnues par suite des difficultés d'accès. Si les espèces végétales terrestres ont donné naissance à de nombreux médicaments comme l'aspirine, la quinine, le Taxol® (antitumoral), qui possèdent souvent des structures chimiques originales, on peut raisonnablement penser qu'il existe un énorme potentiel en termes de diversité biomoléculaire dans les océans.

Le milieu marin est un réservoir alimentaire pour l'homme avec les poissons, les crustacés, les algues ; le renouvellement de la ressource halieutique, et plus particulièrement des espèces dites nobles, n'est pas sans poser quelques problèmes. Les algues, qu'on connaît traditionnellement comme source d'engrais dans l'ouest de la France, ont été utilisées comme source d'iode et de soude. Elles ont aussi été utilisées en médecine traditionnelle pour remédier à des désordres rhumatismaux ou thyroïdiens. Elles sont plus recherchées actuellement pour leurs constituants polysaccharidiques (alginates, carraghénanes...). Les carraghénanes et agar-agar sont des polysaccharides sulfatés extraits d'algues rouges. Les fucanes, polysaccharides extraits d'algues brunes, pourraient avoir une activité inhibitrice sur la thrombine, facteur de coagulation du sang. Ces recherches sont menées par différents laboratoires de l'Ifremer.

Les microalgues peuvent être également cultivées en masse ; il est d'ailleurs possible d'en modifier le métabolisme ; elles sont des sources très prometteuses de nombreux composés. Ces microalgues, composées de diatomées et de dinoflagelles, sont abondantes près de la bande côtière ; elles constituent d'une part la nourriture des animaux marins, mais elles sont aussi capables de générer des toxines qui régulent le développement de leurs prédateurs.

Acides oméga 3 insaturés

Il est admis que l'alimentation joue un rôle important dans l'apparition de certains cancers. Il a été montré

que les lipides d'origine marine, outre leurs rôles fondamentaux de réserve énergétique et de composant des membranes cellulaires, jouent un rôle dans la communication cellulaire. Les acides gras oméga 3 insaturés comme l'acide docosahexaénoïque (DHA) sont abondants dans la faune marine ; ingéré par alimentation, le DHA entraîne une protection contre le cancer du sein et ses récives, comme l'a montré l'équipe du Pr Bougnoux, de Tours. Il semblerait en outre qu'un taux élevé de DHA dans les tissus adipeux contribue à la sensibilisation des tumeurs à la radiothérapie ; ainsi la supplémentation en acides oméga 3 insaturés augmente, chez le rat, la sensibilité au traitement par radiothérapie des tumeurs mammaires ; il est observé une régression de 60 % de la taille des tumeurs 12 jours après le début de la radiothérapie contre 31 % de diminution dans le groupe témoin. L'ajout de ces acides modifie les signaux cellulaires gouvernant la croissance des cellules ou leur mort.

Au fond, la vie est difficile

L'écosystème hydrothermal sous-marin profond, du fait des conditions extrêmes qu'il subit, suscite des travaux dans des domaines très variés. Dans des atmosphères riches en sulfure d'hydrogène et sans oxygène, cet écosystème doit mettre en œuvre des systèmes enzymatiques particuliers. La flore bactérienne thermophile est l'objet de nombreuses études. Les peuplements bactériens hydrothermaux vivent fixés sur les téguments de certains invertébrés ou forment des tapis filamenteux dont la cohésion est assurée par des polymères de nature polysaccharidique sécrétés par les bactéries. Ces glycopolymères sont en cours d'analyse, et leurs propriétés biologiques sont étudiées par les équipes de l'Ifremer dans le cadre de pathologies cardiovasculaires et cancéreuses.

Des bactéries comme *Salinospora*, isolées par grande profondeur au large des Bahamas par l'équipe du Dr Fenical, ont conduit à l'extraction de la salinosporamide A, (figure 1), inhibiteur de la croissance cellulaire via le protéosome.

Industrie

Les industriels s'intéressent de près aux MAP (*Marine Adhesive Proteins*), substances qu'utilisent les coquillages et autres organismes marins pour s'accrocher sur

toutes les surfaces, et qui sont supérieures aux meilleures colles. Les protéines antigel (*AFP*, *antifreeze proteins*), développées par les morues et autres poissons des mers froides, sont également étudiées. Quant aux micro-organismes des abysses, qui vivent dans des conditions de températures, de pression ou d'acidité tout à fait extrêmes, ils offrent une résistance à la chaleur et une stabilité que les enzymes terrestres n'ont pas, et pourraient faciliter, par exemple, le blanchiment du papier, en évitant le recours au chlore, procédé beaucoup plus polluant. Ceci ne représente cependant qu'une faible part de l'intérêt manifesté par l'industrie, notamment par l'industrie pharmaceutique.

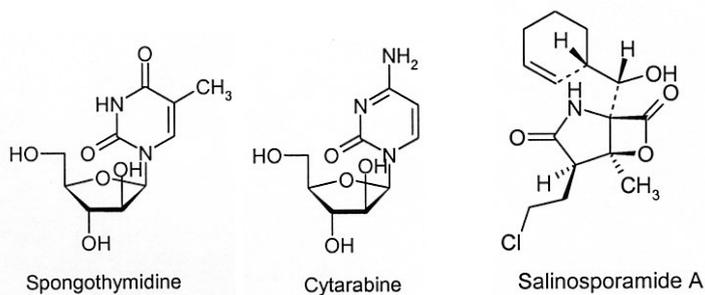


Figure 1

Premiers composés bioactifs

La première découverte d'un composé biologiquement actif date de 1951. Une éponge, *Cryptotethia crypta*, découverte dans les lagons du sud de la Floride, contient des nucléosides comme la spongothymidine, que les chimistes ont su copier pour donner entre autre l'Ara-A, qui est un antiviral, et la cytarabine ou Ara-C, efficace contre certaines formes de leucémies. La découverte dans une gorgone des Caraïbes, *Plexaura homomalla*, de prostaglandines, composés chimiques impliqués dans l'inflammation et la douleur, a été le point de départ d'une recherche active de composés dans les océans. De 1969 à 1999, plus de 300 brevets sur les composés marins bioactifs ont été déposés ; depuis 2000, plusieurs centaines de nouveaux produits sont découverts chaque année.

Les organismes marins susceptibles de fournir des composés aux structures chimiques originales sont essentiellement les invertébrés, les dinoflagelles et les bactéries. Parmi les invertébrés, nous pouvons mentionner les éponges, les tuniciers, les vers marins, les anémones, les gorgones, les mollusques, les coraux mous, les échinodermes et les bryozoaires.

Ces organismes vivent essentiellement dans les eaux tropicales mais pas uniquement. Les récifs coralliens, qui grouillent de vie, sont le centre d'une lutte féroce entre ces divers habitants ; seuls survivent ceux qui ont les armes adaptées pour résister à l'attaque des prédateurs. Tous ces êtres vivants ont une mobilité réduite et doivent utiliser, pour se nourrir, communiquer, se défendre, des métabolites secondaires doués de propriétés biologiques puissantes car subissant une dilution importante dans le milieu naturel. Les composés chimiques ainsi produits

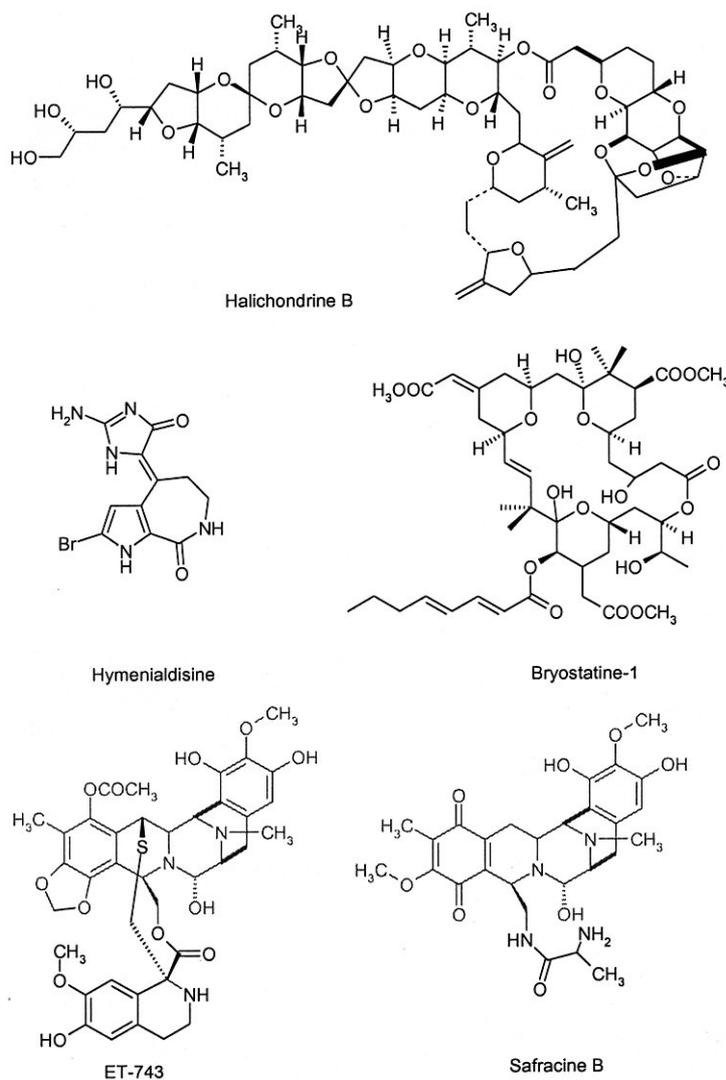


Figure 2

possèdent très souvent des propriétés anti-inflammatoires, analgésiques ou antitumorales.

Une des difficultés d'accès à ces composés provient du fait que les quantités produites par l'organisme marin sont faibles, et qu'il faut, en outre, bien identifier l'organisme producteur, qui n'est pas obligatoirement l'invertébré lui-même mais parfois un micro-organisme symbiotique.

Le problème d'approvisionnement est un problème majeur, comme avec tous les produits d'origine naturelle. Par exemple, l'halichondrine (figure 2), qui est un antitumoral potentiel, nécessiterait la récolte d'environ 10 000 tonnes d'éponges *Lissodendoryx* pour obtenir 5 kg de ce produit, ce qui entraînerait la disparition de l'espèce. Généralement, la synthèse totale par les chimistes n'est pas économiquement viable, sauf exception comme pour la conotoxine (SNX-111), isolée de *Conus magnus*, qui a une activité supérieure à celle de la morphine, sans phénomène d'accoutumance. Ce dérivé est un peptide composé de 25 aminoacides avec trois liaisons disulfures, qui agit en bloquant les canaux calciques du type N. Il est actuellement commercialisé sous le nom de Prialt® en tant qu'analgésique.

L'aquaculture, qui a été développée avec succès pour les crevettes ou pour les composés osidiques comme l'agar, vient juste de débuter expérimentalement pour le bryozoaire *Bugula neritina*, (source de bryostatines) et le tunicier *Ecteinascidia turbinata* (source de ET-743) (figure 2).

Les antitumoraux

Une grande majorité des produits marins présentent une activité dans le domaine antitumoral. Les molécules issues d'organismes marins possèdent des structures chimiques peu courantes et sont donc de bons candidats pour être évaluées sur différents tests biologiques. Elles peuvent avoir, par exemple, une action sur différents systèmes enzymatiques impliqués dans la réplication cellulaire.

Les inhibiteurs de kinases

Il existe de nombreuses kinases, dont les kinases cycliques dépendantes (CDK), qui interviennent dans la régulation du cycle cellulaire et peuvent ainsi contrôler la prolifération anarchique des cellules de la tumeur. L'hymenialdisine (figure 2) est extraite d'une éponge (*Hymeniacidon aldis*) et possède de telles activités inhibitrices, associées à une activité sur une glycogène synthase kinase (GSK3). Elle a servi de modèle pour la synthèse de composés analogues à structure indoliques. Les bryozoaires, animaux de 4 mm de longueur, vivent en colonies sur des zones calcaires dans le golfe de Californie et ont une vie similaire à celle des coraux. *Bugula neritina* est un bryozoaire dont a été isolée la bryostatine-1 (figure 2) dans les années quatre-vingt. Ce composé est un inhibiteur de pro-

téine kinases C (PKC) suivant un mécanisme particulier, et est actuellement en essais cliniques. Son action se traduit par une augmentation de la population des globules rouges, un renforcement des défenses immunitaires et une mort des cellules cancéreuses. Il est en cours d'évaluation dans le traitement du cancer de l'œsophage. Il a fallu deux ans au National Cancer Institute pour collecter 17 tonnes de *Bugula* sur la côte sud-californienne. La firme Calbio-marine semblerait capable de produire par aquaculture ce *Bugula*. La bryostatine-1 est vraisemblablement synthétisée non pas par l'éponge elle-même mais par une bactérie symbiotique *Candidatus endobugula sertula*. De ce fait, le problème d'approvisionnement pourrait aussi être résolu par fermentation directe de cette bactérie.

Des inhibiteurs de protéine tyrosine kinase ont été isolés de l'éponge *Verongia aerophoba* comme l'aéroplysinine, dérivé dibromé. Ce dernier inhibe le facteur de croissance EGF et présente une activité antiangiogénique (figure 3).

Les agents agissant sur les microtubules

Le développement des phénomènes de résistance par les tumeurs (MDRI), apparu, entre autres, avec les anticancéreux du type taxane, a incité à la recherche d'agents antitumoraux interférant avec les microtubules, dans le but de résoudre ce problème. Les composés marins ont permis d'isoler de nombreux produits, dont le discodermolide obtenu à partir d'une éponge, *Discodermia dissoluta*. Le discodermolide (figure 3) est un immunosuppresseur aussi actif que la cyclosporine A, qui est très efficace contre le rejet des greffes chez l'animal. Il a une action voisine du Taxol® car il stabilise les microtubules et favorise leur assemblage (plus court qu'avec le Taxol®) ; les deux énantiomères (images l'un de l'autre par rapport à un plan) sont tous les deux actifs sur la prolifération cellulaire mais à des stades différents du cycle : le produit naturel (+) agit au stade G2/M tandis que le composé de synthèse (-) agit sur la phase S.

Des petits peptides tels que la dolastatine (figure 3), isolée à partir du «lièvre de mer» *Dolabella auricularia*, et les laulimalides (figure 3), lactones macrocycliques isolées de *Cacospongia mycofijiensis* dans les îles Marshall, ont une activité similaire à celle du Taxol®.

Parmi les composés marins ayant un fort potentiel de développement, le péluroside A (figure 3), macrolide isolé en 2000 par Northcote à partir d'une éponge de Nouvelle-Zélande, *Mycale hentscheli*, inhibe la croissance de diverses lignées cellulaires cancéreuses à des concentrations nanomolaires ; il a été démontré qu'il stabilise les microtubules, induisant la mort de la cellule après arrêt du cycle cellulaire en G2/M.

Ce composé possède une grande analogie structurale avec les épothilones (figure 3), macrocycles d'origine bactérienne qui présentent une activité supérieure aux taxoïdes.

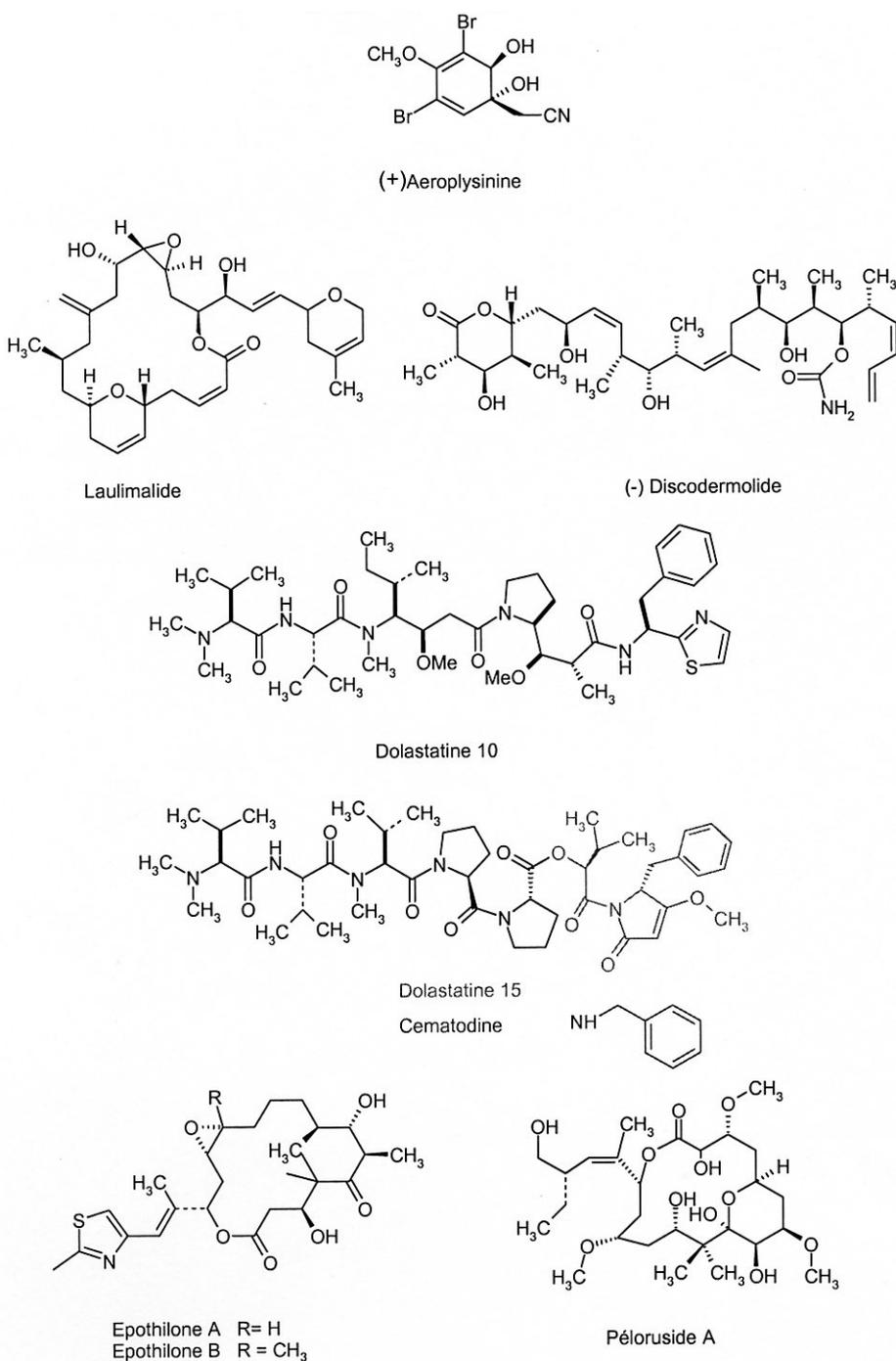


Figure 3

Les agents interagissant avec l'ADN

Ils possèdent souvent des propriétés anticancéreuses. Ainsi le Yondelis® (ET 743), obtenu à partir d'un tunicier, *Ecteinascidia turbinata*, est développé par Pharmamar. Ce produit a reçu le statut de médicament orphelin pour le traitement du cancer de l'ovaire par la Commission européenne en octobre 2003. L'ET 743 montre un cer-

tain nombre de similitudes chimiques avec la safranine B (figure 2), un antibiotique issu de la fermentation de *Pseudomonas fluorescens* ; ce dernier est utilisé pour réaliser une hémisynthèse de l'ET 743, dérivé qui peut augmenter l'activité d'autres agents anticancéreux en inhibant la résistance (MDRI).

Les grossularines 1,2 sont des composés indoliques qui sont actifs *in vitro* contre des tumeurs solides du colon et du sein. Ils sont issus d'un tunicier des côtes bretonnes, *Dendrodoa grossularia*. La synthèse chimique, en quelques étapes, de ces composés a pu être effectuée, ce qui peut permettre de résoudre le problème d'approvisionnement en cas de développement au stade industriel.

Autres cibles

Le tunicier *Trididemnum solidum*, récolté dans les Caraïbes fournit des depsipeptides comme les didemnines isolés à la fin des années quatre-vingt. Le didemnine B (figure 4) a montré des propriétés antitumorales liées à la synthèse de protéines ; malheureusement il présente une hépatotoxicité qui a fait stopper les études cliniques.

L'Aplidine® (déhydrodidemnine), qui est isolée d'un tunicier méditerranéen, *Aplidium albicans*, possède une structure peptidique quasi identique (figure 4) et semble moins toxique. Il est, de surcroît, plus actif, notamment sur le cancer colorectal, et présente des propriétés anti-angiogéniques. Il est actuellement développé par la firme Pharmamar.

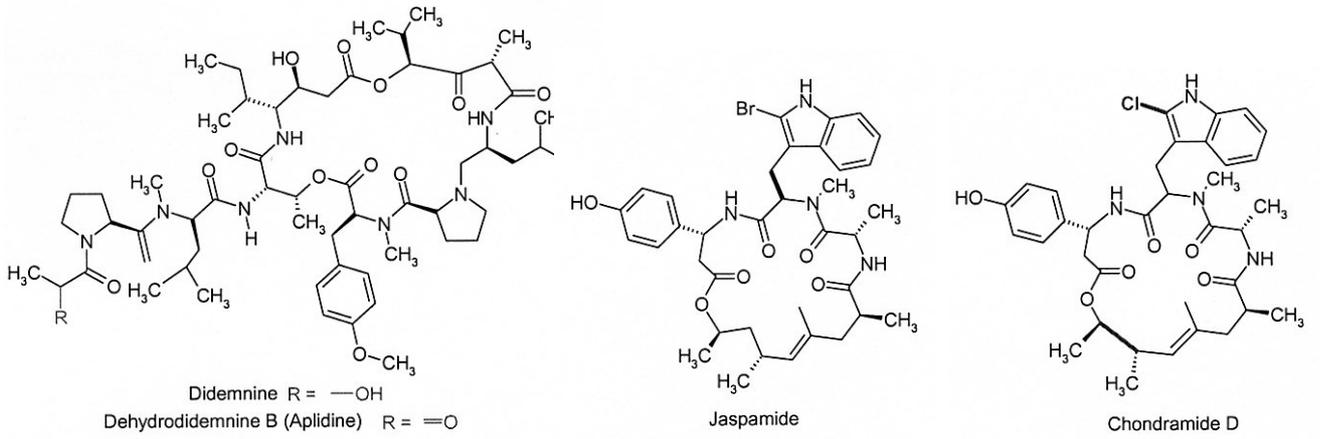


Figure 4

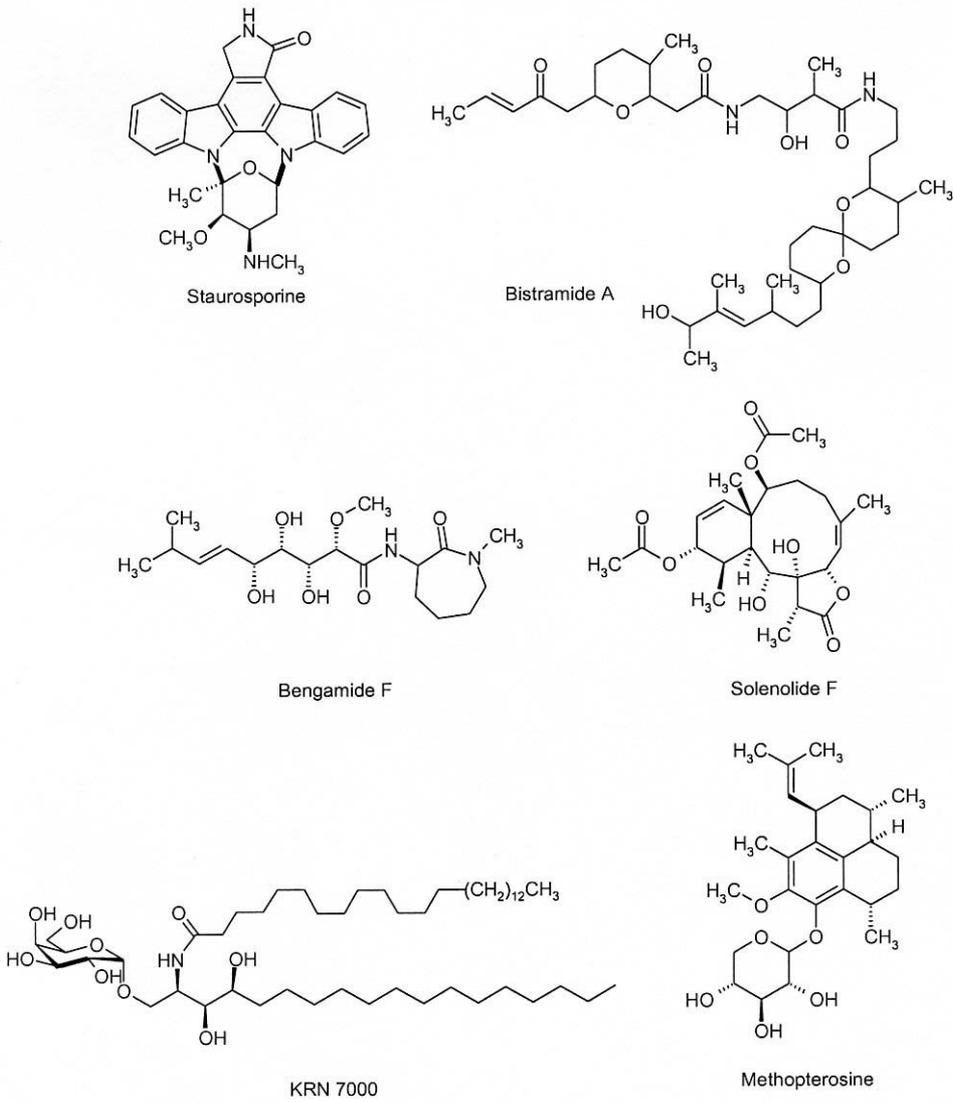


Figure 5

Origine des composés

L'examen des structures chimiques des produits naturels isolés d'éponges et autres invertébrés marins montre de surprenantes similarités avec des métabolites d'origine microbienne ; par exemple la jaspamide (figure 4), cyclo-depsipeptide isolé d'une éponge, *Jaspis*, montre une analogie évidente avec la chondramide D (figure 4) issue d'une myxobactérie, *Chondromyces crocatus*.

Parfois, les mêmes métabolites sont retrouvés dans les micro-organismes et dans les invertébrés marins ; par exemple la staurosporine (figure 5) isolée d'un tunicier marin originaire de Micronésie, *Eudistoma toeaensis*, est aussi un métabolite d'actinomycètes tels que *Saccharothrix aerocolonigenes*.

La symplostatine 1 se distingue uniquement de la dolastatine 10 (figure 3) par la présence d'un groupement éthyle à la place d'un groupement méthyle. Elle est isolée d'une cyanobactérie, *Symploca hydnoïdes*.

L'acide okadaïque, qui possède des propriétés inhibitrices de protéine phosphatase, a été isolé initialement d'une éponge, *Halichondria okadai*, qui vit près des côtes japonaises. Il est utilisé comme outil moléculaire pour étudier la transduction du signal intracellulaire. On a pu montrer qu'il est synthétisé à partir d'un dinoflagelle, *Prorocentrum*.

L'oligopeptide dolastatine 10, isolé du mollusque marin *Dolabella auricularia*, a été aussi récemment détecté dans une cyanobactérie, *Symploca sp* VP642, dont il se nourrit, ce qui laisse augurer de l'origine alimentaire du composé. Cette dolastatine se fixe sur la tubuline ; elle se trouve à très faible concentration, 1mg/100 kg de mollusque. On semble lui préférer un composé de synthèse apparenté, le LU-103793 (cématodine) (figure 3), plus hydrosoluble que la dolastatine D15, où la fonction ester a été remplacée par une fonction amide.

La véritable origine de ces composés bioactifs a été la source de nombreuses spéculations par le passé. Les organismes marins sont de véritables lieux de rassemblement, où des milliers d'hôtes minuscules vivent ensemble dans une véritable usine de filtration de l'eau de l'océan ; cette population bactérienne peut ainsi intervenir pour 50 % du poids d'une éponge. A l'IRD de Nouméa, les éponges récoltées sont soigneusement lavées pour récupérer les micro-organismes, qui sont ensuite mis en culture afin de leur faire produire la molécule active. En effet, si l'on veut produire par biotechnologie une quantité suffisante de produits bioactifs, il faut connaître, parmi toute la population bactérienne (qui fait un tout avec l'organisme marin et qui vit donc en symbiose), quelle est l'espèce qui fabrique le produit extrait de l'organisme marin récolté. Les invertébrés marins sont des filtres qui ingèrent des bactéries, qui font elles-mêmes partie de la chaîne alimentaire. *Sous réserve que la production de dérivés bioactifs ne soit pas due à un phénomène symbiotique*, ceci fait entrevoir la possibilité de produire ces dérivés par des techniques de biotechnologies de type fermentation ou autres.

Les inhibiteurs de phospholipases A2 sont impliqués dans les phénomènes d'inflammation via la cascade de l'acide arachidonique. Nous pouvons mentionner le monoalide, qui est un terpène lactonique isolé d'une éponge, *Luffariella variabilis*, originaire des îles Carolines. Il est en test pour le traitement du psoriasis.

Il existe aussi des composés comme la bengamide F (figure 5), possédant des propriétés antihelminthiques, isolée d'éponges originaires des îles Fidji. Les gorgones sont des polypes aux superbes couleurs, dont on peut isoler des composés antiviraux et anti-inflammatoires comme les solénolides (figure 5).

La dengue est une maladie virale répandue dans une centaine de pays tropicaux, qui est transmise à l'homme par le moustique *Aedes aegypti*. Il existe deux formes de dengue, dont l'une est mortelle dans 5 % des cas. Les chercheurs de l'IRD et de l'Institut Pasteur de Nouméa ont prélevé des crinoïdes (famille des étoiles de mer), *Gymnocrinus richeri*, dont les extraits sont capables d'inhiber, à une très faible concentration, la réplication du virus de la dengue. Cette activité antivirale est d'autant plus intéressante qu'*in vitro* ces substances ne sont pas apparues cytotoxiques.

Les bistramides produits par une ascidie de Nouvelle-Calédonie, *Lissoclinum bistratum*, sont des polyethers à fonction amide, qui possèdent des propriétés cytotoxiques ; certaines comme la bistramide D (figure 5) ont aussi un effet antipaludéen.

Produits commercialisés ou en développement

Les produits commercialisés actuellement, outre les polyholosides, utilisés en gastro-entérologie, et les céphalosporines issues d'un champignon marin, sont les nucléosides Ara-A (vidarabine) et Ara-C (cytarabine) ainsi que le ziconotide (SNX-111), lui-même proposé comme analgésique. L'immunocyanine (Immucothel®), préparée à partir de glycoprotéines issues du mollusque *Megathura crenulata*, originaire de Californie, est utilisée dans le traitement de carcinomes vésicaux.

En développement clinique nous pouvons citer la squalamine, aminostérol maintenant obtenu par synthèse, testée dans le cancer du poumon ; l'AE-941 (Néovastat®), issu de cartilages de requins, pourrait être utilisé dans le traitement du cancer du rein ; ces deux composés auraient aussi une action antiangiogénique.

Le KRN-7000 (figure 5) est un glycolipide de synthèse mimant un composé isolé du spongiaire *Agelas mauritanus*, qui a une faible toxicité et agit sur les métastases hépatiques ; il est en phase I. La méthoptérosine (figure 5), issue d'une gorgone, est en test de phase I comme anti-inflammatoire ; ce composé est aussi employé en cosmétique.

Source	Composé	Pathologie	Phase clinique	Firme
<i>Ecteinascidia turbinata</i> (tunicier)	ectéinascidine 743 Yondelis®	cancer	II/III	Pharmamar
<i>Bugula neritina</i> (bryozoaire)	bryostatine 1	cancer	II	GPC biotech
<i>Dolabella auricularia</i>	dolastatine 10	cancer	II	NCI
<i>Conus magnus</i> (cône)	ziconotide	douleur	III	Neurex
<i>Dolabella auricularia</i>	LU103793 (analogue synthétique de Dolastatine 15)	cancer	II	
<i>Nostoc sp</i> (cyanobactérie)	cryptophycine	cancer	II	
<i>Squalus acanthias</i> (requin)	squalamine	cancer	II/III	Genaera
<i>Agelas mauritianus</i> (éponge)	KRN 700	cancer	I	Kirin Pharm
<i>Aplidium albicans</i> (tunicier)	Aplidine®	cancer	I/II	Pharmamar
<i>Pseudopterogorgia elisabethae</i> (corail mou)	méthoptérosine	inflammation	I	
<i>Luffariella variabilis</i> (éponge)	manoalide	inflammation	I	

Produits marins en développement clinique

Conclusion

L'exploration des produits marins se fait en aveugle, comparée à celle des plantes, où les traditions populaires permettent une approche plus fructueuse. L'utilisation récente de robots pour le tri et les tests sur les échantillons (HTS, *High Throughput Screening*) va accélérer la découverte de composés actifs. Malgré la richesse et la biodiversité du milieu marin, peu de composés ont atteint le stade de médicament, mais les potentialités sont très prometteuses (il n'est qu'à examiner l'ensemble des différentes structures chimiques reportées dans cet article, qui ne représentent qu'une faible partie des composés bioactifs identifiés). De nombreux organismes de recherche, privés et publics, se préoccupent de trouver de nouvelles molécules actives d'origine marine. L'aquaculture devrait permettre dans un avenir proche de résoudre les problèmes d'approvisionnement et de collecte. Il est en effet primordial de préserver les espèces, qui vivent parfois dans

un écosystème très fragile (coraux). Il est très vraisemblable que de nouveaux médicaments innovants d'origine marine (soit directement issus des océans, soit obtenus par synthèse d'analogues) vont voir le jour dans les prochaines années.

La mer actuellement nous nourrit, elle commence à nous soigner, aussi respectons-la.

Bibliographie

- 1 HAEFNER B., www.drugdiscoverytoday.com 2003, 8, 536-544.
- 2 MAYER S.M., GUSTAFSON K.R., *Int. J. Cancer*, 2003, 105, 291-299.
- 3 PROKSCH P., EDREDA-EBEL R., EBEL R., *Marine Drugs*, 2003, 1, 5-17.
- 4 HE L., ORR G.A., HORWITZ S.B., www.drugdiscoverytoday.com 2001, 6, 1153-1164.

- 5 PROKSCH P., EDREDA-EBEL R., EBEL R., *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2002, 59, 125-134.
- 6 PROKSCH P., EDREDA-EBEL R., EBEL R., *Bioforum Europe*, 2004, 2, 44-46.
- 7 FENICAL W.H., *Appl. Environ. Microbiol.*, 2002, 68, 5005.
- 8 www.ifremer.fr
- 9 www.pharmamar.com
- 10 www.ird.fr
- 11 YASUMOTO T., SATAKE M., *Chimia*, 1998, 52, 63-68.
- 12 BIARD J.F., *Allergie et immunologie*, 2002, 34, 293-296.
- 13 BIARD J.F., *Pathologie Biologie*, 2004, 52, 1-3.
- 14 MULZER J., OHLER E., *Chem. Rev.*, 2003, 103, 3753-3786.
- 15 BLUNDEN G., *Phytother. Res.*, 2001, 15, 89-94.

Jean-Yves Mérour

jean-yves.merour@univ-orleans.fr