



Activités biologiques des premiers extraits d'organismes marins récoltés en Méditerranée dans le cadre du programme ECIMAR

137 extraits bruts provenant des missions Marseille, Corse, Ceuta (Espagne) et Liban ont été sélectionnés et préparés par les différents partenaires pour évaluation de leurs activités antimalarique, anti-farnésyl transférase et cytotoxique.

20 extraits provenaient du partenaire UPVD, 29 du partenaire USTV, 19 du partenaire MNHN, 36 du partenaire ICSN et 33 du partenaire UNSA. Ces extraits ont été testés en plaques de 96 puits.

L'ICSN a pris en charge l'évaluation de leur activité cytotoxique vis-à-vis des cellules tumorales humaines KB (carcinome humain nasopharyngé) aux deux concentrations finales de 10 µg/mL et 1 µg/mL (1) ainsi que de l'évaluation de leur activité anti-farnésyl transférase vis-à-vis de l'enzyme de la levure *Saccharomyces cerevisiae* à la concentration de 20 µg/mL (2, 3). Le MNHN s'est chargé des tests antimalariques, qui ont été réalisés en duplicate à deux concentrations finales (10 µg/mL et 1 µg/mL). L'activité antimalarique a été appréciée vis-à-vis de la croissance *in vitro* de deux souches distinctes de *P. falciparum*. Les deux souches testées sont FcB1 (sensibilité moyenne à la chloroquine, CI_{50} ~30 nM) et K1 (résistante à la chloroquine). La méthode utilisée est celle de Desjardins (4) qui utilise un test sur 48h avec mesure d'hypoxanthine incorporée entre 24h et 48h. Des contrôles positifs (3 concentrations de chloroquine) et négatifs (croissance en présence de quantités équivalentes de DMSO) ont été inclus dans chaque plaque testée.

1- Zampella A, Sepe V, Bellotta F, Luciano P, D'Auria MV, Cresteil T, Debitus C, Petek S, Poupat C, Ahond A. 2009, *Org. Biomol. Chem.*, **7**, 4037.

2. Pompliano, D. L.; Gomez, R. P.; Anthony, N. J. 1992. *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 7945.

3. Cassidy, P. B.; Dolence, J. M.; Poulter, C. D. 1995. *Meth. Enzymol.* **50**, 30.

4. Desjardins, R. E., C. J. Canfield, J. D. Haynes, and J. D. Chulay. 1979, *Antimicrob Agents Chemother.*, **16**, 710.

- Résultats des tests antimalariques :

8 extraits ont présenté des inhibitions de croissance importantes aux deux concentrations testées (inhibition > 98 % à 10µg/mL, > 87 % à 1µg/mL) et ce sur les 2 souches, à l'exception de l'espèce *Phorbas* sp. Corse (080616-Co2-23).

Ils correspondent aux espèces :

Acanthella acuta : 070716 Ma2-13 (ICSN)

Corticium candelabrum: 070717 Ma4-02 (UNSA)

Corticium candelabrum : 080612 Co1-19 (UNSA)

Dysidea pallescens : 070630Ce2-08 (UNSA)

Crambe crambe: 070717 Ma4-34 (UNSA)

Phorbas tenacior : 080612 Co1-04 (MNHN)

Phorbas tenacior : 080612 Co1-40 (MNHN)

Phorbas sp. Corse : 080616 Co2-23 (MNHN)

Parmi les espèces prometteuses pour leur activité antiplasmodiale, 27 extraits ont présenté des inhibitions de croissance importantes à la première concentration testée mais pas à la seconde (inhibition de 70 à 100% à 10µg/mL, < 50% à 1µg/mL).

Une différence notable d'activité a été remarquée entre les deux souches de *P. falciparum* testées pour l'espèce *Aplidium* sp. L'extrait 070719 Ma7-01 s'est révélé actif à 1µg/mL sur K1 alors que l'extrait 070719 Ma6-04 ne l'était pas sur FcB1.

Tous les autres produits ne sont pas actifs à 1µg/mL et le sont modérément (inhibition < 70%) à 10µg/mL. Seuls 8 produits sur les 27 précédemment mentionnés ne sont pas toxiques sur la souche KB.

- Résultats des tests anti-PFTase :

1 seul extrait a révélé une activité anti-PFTase significative vis-à-vis de la FTase de levure *S. cerevisiae*. Il concerne l'espèce *Petrosia ficiformis* : 070717Ma4-01 (UNSA).

15 extraits ont révélé une inhibition d'activité supérieure ou égale à 85 % mais la réponse aux 2 longueurs d'onde du test en fluorescence est différente. Des contrôles complémentaires devront être effectués pour vérifier que l'activité observée sur ces extraits n'est pas un artéfact de fluorescence.

Les autres extraits sont considérés comme inactifs.

- **Résultats des tests cytotoxiques sur cellules KB :**

Deux extraits ont montré une forte activité cytotoxique sur cellules humaines à la concentration de 1µg/mL. Ils correspondent aux espèces *Symplegma brakenhielmi* : 070829Lb11-03 (UPVD) et *Haliclona sp** 070630Ce2-04 (UNSA).

L'espèce *Symplegma brakenhielmi* ne montre pas d'activité significative antiplasmodiale à cette concentration. L'espèce *Haliclona sp** a une cytotoxicité supérieure à la concentration de 1µg/mL et est également active sur les souches plasmodiales FcB1 et K1. Cette forte activité cytotoxique pourrait empêcher une utilisation en parasitologie mais être utilisable en chimiothérapie.

Quatre autres extraits ont une activité cytotoxique avérée et ont également une activité antimalariale considérable. Il s'agit des espèces :

Crambe crambe: 070717 Ma4-34 (UNSA)

Phorbas tenacior : 080612 Co1-04 (MNHN)

Phorbas tenacior : 080612 Co1-40 (MNHN)

Phorbas sp. Corse : 080616 Co2-23 (MNHN)

Dans ces cas aussi, l'effet cytotoxique peut empêcher l'utilisation en parasitologie mais pas en chimiothérapie.

Bilan des résultats des tests biologiques des extraits bruts

Les chiffres indiquent des inhibitions d'activité.

- Espèces intéressantes pour leur activité antiplasmodiale et non toxiques sur cellules KB

| <i>Nom de l'espèce</i> | Référence | KB 10 µg/mL | KB 1 µg/mL | PFTase 20 µg/mL | FcB1 10 µg/mL | FcB1 1 µg/mL | K1 10 µg/mL | K1 1 µg/mL | Partenaire |
|-------------------------|--------------|----------------|---------------|--------------------|------------------|-----------------|----------------|---------------|------------|
| <i>Acanthella acuta</i> | 070716Ma2-13 | 36 | 0 | 0 | 98 | 96 | 98 | 89 | ICSN |

- Espèces intéressantes pour leur activité antiplasmodiale mais toxiques sur cellules KB

| <i>Nom de l'espèce</i> | Référence | KB 10 µg/mL | KB 1 µg/mL | PFTase 20 µg/mL | FcB1 10 µg/mL | FcB1 1 µg/mL | K1 10 µg/mL | K1 1 µg/mL | Partenaire |
|------------------------------|--------------|----------------|---------------|--------------------|------------------|-----------------|----------------|---------------|------------|
| <i>Corticium candelabrum</i> | 070717Ma4-02 | 100 | 0 | 56 | 99 | 89 | 99 | 92 | UNSA |
| <i>Corticium candelabrum</i> | 080612Co1-19 | 100 | 0 | 44 | 99 | 92 | 99 | 89 | UNSA |
| <i>Dysidea pallescens</i> | 070630Ce2-08 | 79 | 0 | 92 | 98 | 99 | 98 | 96 | UNSA |

- Espèces intéressantes pour leur activité antiplasmodiale et très toxiques sur cellules KB

| <i>Nom de l'espèce</i> | Référence | KB 10 µg/mL | KB 1 µg/mL | PFTase 20 µg/mL | FcB1 10 µg/mL | FcB1 1 µg/mL | K1 10 µg/mL | K1 1 µg/mL | Partenaire |
|--------------------------|---------------|----------------|---------------|--------------------|------------------|-----------------|----------------|---------------|------------|
| <i>Crambe crambe</i> | 070717Ma4-34 | 100 | 99 | 96 | 98 | 99 | 98 | 98 | UNSA |
| <i>Phorbas tenacior</i> | 080612-Co1-04 | 87 | 92 | 53 | 99 | 90 | 99 | 96 | MNHN |
| <i>Phorbas tenacior</i> | 080612-Co1-40 | 84 | 92 | 58 | 99 | 87 | 99 | 95 | MNHN |
| <i>Phorbas sp. Corse</i> | 080613-Co2-23 | 88 | 93 | 79 | 99 | 48 | 98 | 94 | MNHN |

- **Espèces prometteuses pour leur activité antiplasmodiale et non toxiques sur cellules KB**

| <i>Nom de l'espèce</i> | Référence | KB 10 µg/mL | KB 1 µg/mL | PFTase 20 µg/mL | FcB1 10 µg/mL | FcB1 1 µg/mL | K1 10 µg/mL | K1 1 µg/mL | Partenaire |
|----------------------------------|-------------------------------|----------------|---------------|--------------------|------------------|-----------------|----------------|---------------|------------|
| <i>Acanthella acuta</i> | 070718Ma2-02 | 34 | 0 | 0 | 98 | 11 | 97 | 12 | ICSN |
| <i>Aplidium sp.</i> | 070629Ce1-03 | 28 | 0 | 94 | 99 | 27 | 96 | 22 | UPVD |
| <i>Aplidium conicum</i> | 070630Ce2-02 | 15 | 1 | 94 | 96 | 14 | 88 | 26 | UPVD |
| <i>Axinella damicornis</i> | 070716Ma2-11 | 34 | 0 | 0 | 97 | 10 | 91 | 0 | ICSN |
| <i>Turbicellepora avicularis</i> | 070716Ma2-24 | 7 | 3 | 79 | 84 | 5 | 76 | 2 | 7-USTV |
| <i>Turbicellepora avicularis</i> | 070718Ma5-26 | 12 | 3 | 80 | 90 | 12 | 89 | 11 | 7-USTV |
| | 071219 3PP-02 | 59 | 0 | 64 | 94 | 1 | 97 | 15 | UNSA |
| <i>Aplysina cavernicola</i> | 070717Ma4-04 | 8 | 0 | 0 | 73 | 13 | 53 | 20 | UPVD |

[071219 3PP-02](#) : A quelle espèce correspond cet échantillon ?

- **Espèces prometteuses pour leur activité antiplasmodiale mais toxiques sur cellules KB**

| Nom de l'espèce | Référence | KB 10 µg/mL | KB 1 µg/mL | PFTase 20 µg/mL | FcB1 10 µg/mL | FcB1 1 µg/mL | K1 10 µg/mL | K1 1 µg/mL | Partenaire |
|-----------------------------------|--------------|----------------|---------------|--------------------|------------------|-----------------|----------------|---------------|------------|
| <i>Aplidium conicum</i> | 070630Ce1-10 | 100 | 0 | 0 | 98 | 31 | 98 | 34 | UPVD |
| <i>Aplidium pallidum</i> | 070702Ce5-05 | 100 | 7 | 52 | 98 | 38 | 97 | 43 | UPVD |
| <i>Aplidium sp.</i> | 070719Ma6-04 | 100 | 0 | 54 | 95 | 0 | 87 | 9 | UPVD |
| <i>Aplidium sp.</i> *** | 070719Ma7-01 | 100 | 15 | 48 | 100 | 0 | 95 | 98 | UPVD |
| <i>Aplidium sp.</i> | 070719Ma6-04 | 100 | 0 | 54 | 95 | 0 | 87 | 8 | UPVD |
| <i>Axinella damicornis</i> | 070703Ce6-01 | 90 | 2 | 0 | 95 | 11 | 93 | 16 | ICSN |
| <i>Axinella damicornis</i> | 070705Ce1-07 | 86 | 15 | 80 | 97 | 23 | 94 | 17 | ICSN |
| <i>Axinella verrucosa</i> | 070703Ce6-02 | 52 | 4 | 0 | 83 | 0 | 74 | 6 | ICSN |
| <i>Axinella polypoides</i> | 070815Lb1-02 | 85 | 0 | 96 | 90 | 11 | 85 | 34 | ICSN |
| <i>Axinella polypoides</i> | 070815Lb2-01 | 87 | 2 | 95 | 83 | 2 | 79 | 33 | ICSN |
| <i>Axinella polypoides</i> | 070928Lb3-05 | 81 | 0 | 96 | 81 | 7 | 81 | 32 | ICSN |
| <i>Pseudodistoma obscurum</i> | 070702Ce5-03 | 100 | 0 | 23 | 99 | 59 | 95 | 47 | UPVD |
| <i>Pseudodistoma obscurum</i> | 070704Ce7-01 | 100 | 0 | 50 | 96 | 17 | 90 | 23 | UPVD |
| <i>Reniera mucosa</i> | 070718Ma5-05 | 77 | 0 | 78 | 98 | 7 | 98 | 13 | UNSA |
| <i>Spongia agaricina</i> | 070719Ma6-01 | 94 | 0 | 60 | 99 | 6 | 93 | 14 | UPVD |
| <i>Eponge orange crible ceuta</i> | 070630Ce1-08 | 88 | 5 | 71 | 78 | 53 | 95 | 53 | UNSA |
| | 080922GàR-01 | 99 | 0 | 0 | 99 | 18 | 99 | 6 | UNSA |
| | 080515FrT-02 | 94 | 0 | 0 | 98 | 0 | 99 | 6 | UNSA |

*** extrait brut très actif sur K1 à 1µg/ml alors qu'il ne l'était pas sur FcB1, cf rapport juin 2009

080922GàR-01, 080515FrT-02 : A quelles espèces correspondent ces échantillons ?

- **Espèces prometteuses pour leur activité antiplasmodiale mais très toxiques sur cellules KB**

| Nom de l'espèce | Référence | KB 10 µg/mL | KB 1 µg/mL | PFTase 20 µg/mL | FcB1 10 µg/mL | FcB1 1 µg/mL | K1 10 µg/mL | K1 1 µg/mL | Partenaire |
|-----------------------|--------------|----------------|---------------|--------------------|------------------|-----------------|----------------|---------------|------------|
| <i>Haliclona sp</i> * | 070630Ce2-04 | 100 | 100 | 73 | 91 | 43 | 85 | 45 | UNSA |
| <i>Haliclona sp</i> * | 070630Ce2-04 | 96 | 0 | 0 | 29 | 0 | 45 | 0 | UNSA |

*Deux extraits distincts portent le même code, 070630Ce2-04 (puits B7 et E4 de la plaque mère n°3). Ils ont fourni des résultats biologiques distincts : L'un est prometteur pour l'activité antimalarique, l'autre est inactif. De plus, sur le plan de plaque était indiqué pour l'extrait E4 « problèmes de dissolution » ce qui n'était pas le cas pour l'extrait B7. S'agit-il du même extrait? Il faudra le re-tester pour confirmer l'évaluation biologique.

- Espèces à **activité antiPFTase intéressante** et mais pas d'activité antiplasmodiale et non toxiques sur cellules KB

| Nom de l'espèce | Référence | KB 10 µg/mL | KB 1 µg/mL | PFTase 20 µg/mL | FcB1 10 µg/mL | FcB1 1 µg/mL | K1 10 µg/mL | K1 1 µg/mL | Partenaire |
|----------------------------|--------------|----------------|---------------|--------------------|------------------|-----------------|----------------|---------------|------------|
| <i>Petrosia ficiformis</i> | 070717Ma4-01 | 12 | 0 | 88 | 0 | 0 | 0 | 0 | UNSA |

- Espèces à **activité antiPFTase à confirmer (inhibition > 85 % mais inégalité de réponse aux 2 longueurs d'onde)** mais pas d'activité antiplasmodiale et non toxiques sur cellules KB

| Nom de l'espèce | Référence | KB 10 µg/mL | KB 1 µg/mL | PFTase 20 µg/mL | FcB1 10 µg/mL | FcB1 1 µg/mL | K1 10 µg/mL | K1 1 µg/mL | Partenaire |
|----------------------------------|--------------|----------------|---------------|--------------------|------------------|-----------------|----------------|---------------|------------|
| <i>Agelas oroides</i> | 070716Ma2-20 | 3 | 0 | 85 | 12 | 0 | 11 | 0 | ICSN |
| <i>Agelas oroides</i> | 070718Ma5-01 | 8 | 0 | 95 | 40 | 0 | 32 | 41 | ICSN |
| <i>Axinella damicornis</i> | 070718Ma5-17 | 42 | 0 | 88 | 51 | 0 | 49 | 18 | ICSN |
| <i>Axinella polypoides</i> | 070719Ma6-03 | 2 | 2 | 87 | 0 | 0 | 0 | 0 | ICSN |
| <i>Axinella damicornis</i> | 070717Ma4-18 | 25 | 0 | 88 | 55 | 0 | 35 | 0 | ICSN |
| <i>Leptopsammia pruvoti</i> | 070716Ma2-23 | 4 | 5 | 85 | 14 | 9 | 24 | 2 | 7-USTV |
| <i>Paramuricea clavata</i> | 070630Ce1-04 | 2 | 0 | 92 | 20 | 0 | 11 | 0 | 7-USTV |
| <i>Paramuricea clavata</i> | 070716Ma2-21 | 0 | 0 | 92 | 36 | 17 | 21 | 9 | 7-USTV |
| <i>Paramuricea clavata</i> | 070718Ma5-31 | 0 | 0 | 87 | 7 | 0 | 27 | 4 | 7-USTV |
| <i>Pentapora sp.</i> | 070630Ce1-06 | 35 | 11 | 93 | 24 | 0 | 22 | 0 | 7-USTV |
| <i>Reniera mucosa</i> | 070716Ma2-04 | 0 | 0 | 91 | 63 | 5 | 48 | 0 | UNSA |
| <i>Eponge orange boule ceuta</i> | 070629Ce1-01 | 5 | 0 | 90 | 10 | 0 | 13 | 0 | ICSN |
| | 070715Ce1-06 | 0 | 0 | 91 | 0 | 0 | 8 | 0 | ICSN |

- **Espèces à activité antiPFTase à confirmer (inhibition > 85 % mais inégalité de réponse aux 2 longueurs d'onde) mais pas d'activité antiplasmodiale et une faible toxicité sur cellules KB**

| Nom de l'espèce | Référence | KB 10 µg/mL | KB 1 µg/mL | PFTase 20 µg/mL | FcB1 10 µg/mL | FcB1 1 µg/mL | K1 10 µg/mL | K1 1 µg/mL | Partenaire |
|-------------------------------|------------------------------|----------------|---------------|--------------------|------------------|-----------------|----------------|---------------|------------|
| <i>Pseudodistoma obscurum</i> | 070630Ce2-05 | 73 | 4 | 93 | 38 | 3 | 42 | 8 | UPVD |
| | 070828Lb3-03 | 65 | 10 | 92 | 47 | 9 | 12 | 20 | UPVD |

[070828Lb3-03](#) A quelle espèce correspond cet échantillon ?

- Espèces à **activité cytotoxique sur cellules KB intéressante** et pas d'activité antiplasmodiale et anti-PFTase significatives

| Nom de l'espèce | Référence | KB 10 µg/mL | KB 1 µg/mL | PFTase 20 µg/mL | FcB1 10 µg/mL | FcB1 1 µg/mL | K1 10 µg/mL | K1 1 µg/mL | Partenaire |
|-------------------------------|---------------|----------------|---------------|--------------------|------------------|-----------------|----------------|---------------|------------|
| <i>Symplegma brakenhielmi</i> | 070829Lb11-03 | 100 | 82 | 75 | 69 | 10 | 67 | 10 | UPVD |

- Espèces à **activité cytotoxique sur cellules KB prometteuse** et pas d'activité antiplasmodiale et anti-PFTase

| Nom de l'espèce | Référence | KB 10 µg/mL | KB 1 µg/mL | PFTase 20 µg/mL | FcB1 10 µg/mL | FcB1 1 µg/mL | K1 10 µg/mL | K1 1 µg/mL | Partenaire |
|-----------------------------------|--------------|----------------|---------------|--------------------|------------------|-----------------|----------------|---------------|------------|
| <i>Eponge orange crible ceuta</i> | 070629Ce1-05 | 88 | 0 | 70 | 0 | 0 | 0 | 0 | ICSN |
| <i>Oscarella tuberculata</i> | 070716Ma2-15 | 98 | 0 | 0 | 61 | 0 | 64 | 8 | UNSA |
| <i>Oscarella tuberculata</i> | 080615Co3-28 | 97 | 0 | 0 | 49 | 0 | 56 | 0 | UNSA |

- Espèces à **activité cytotoxique sur cellules KB prometteuse** et activités antiPFTase à confirmer (inhibition > 85 % mais inégalité de réponse aux 2 longueurs d'onde) et pas d'activité antiplasmodiale

| Nom de l'espèce | Référence | KB 10 µg/mL | KB 1 µg/mL | PFTase 20 µg/mL | FcB1 10 µg/mL | FcB1 1 µg/mL | K1 10 µg/mL | K1 1 µg/mL | Partenaire |
|----------------------|--------------|----------------|---------------|--------------------|------------------|-----------------|----------------|---------------|------------|
| <i>Pentapora sp.</i> | 070630Ce2-03 | 100 | 8 | 89 | 17 | 0 | 9 | 0 | 7-USTV |

- Espèces à **activité cytotoxique sur cellules KB prometteuse** et activités antiPFTase à confirmer (inhibition > 85 % mais inégalité de réponse aux 2 longueurs d'onde) et activité antiplasmodiale moyenne

| Nom de l'espèce | Référence | KB 10 µg/mL | KB 1 µg/mL | PFTase 20 µg/mL | FcB1 10 µg/mL | FcB1 1 µg/mL | K1 10 µg/mL | K1 1 µg/mL | Partenaire |
|-----------------------------------|--------------|----------------|---------------|--------------------|------------------|-----------------|----------------|---------------|------------|
| <i>Eponge orange crible ceuta</i> | 070704Ce7-02 | 93 | 8 | 90 | 81 | 0 | 90 | 9 | ICSN |