

THESE  
pour le  
  
DIPLOME D'ETAT  
DE DOCTEUR EN PHARMACIE

par

**Claire HAUVILLE**

-----  
*Présentée et soutenue publiquement le 20 octobre 2008*

**Produits marins et cancers :  
les substances en cours d'essais cliniques.**

Présidente : **Mme Nicole GRIMAUD**  
Maître de Conférences de Pharmacologie

Membres du Jury : **M. Jean-François BIARD**  
Professeur de Pharmacognosie  
**Mme Martine FOREAU-COUDERT**  
Pharmacien à Sautron

# Sommaire .

Introduction. ....	7
Partie 1 : Les molécules en essais cliniques de phase II et III. ....	10
I. Les molécules en phase II. ....	10
I.1 Dehydrodidemnine B (Aplidine®) (DDB). ....	10
1.1.1 Origine et date de découverte. ....	11
1.1.2 Structure. ....	12
1.1.3 Métabolisme <i>in vitro</i> . ....	12
1.1.4 Mode de production actuel. ....	13
1.1.5 Activité et mécanisme d'action. ....	13
A. Activité. ....	13
B. Mécanisme d'action. ....	14
1.1.6 Toxicité et effets indésirables. ....	15
A. Les toxicités musculaires. ....	15
B. Les effets indésirables. ....	15
1.1.7 Les études <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> . ....	15
B. Les études <i>in vitro</i> . ....	15
A. Les études <i>in vivo</i> . ....	16
1.1.8 Les essais cliniques. ....	16
A. Le cancer de la prostate. ....	16
B. Les tumeurs solides. ....	16
1.1.9 Etat actuel et perspectives. ....	17
I.2 La dolastatine 10 : D10. ....	18
1.2.1 Origine et date de découverte. ....	18
1.2.2 Structure. ....	19
1.2.3 Essais de toxicité. ....	19
A. Essais de toxicité pré clinique. ....	19
B. Essais de toxicité de phase I. ....	20
C. Essais de toxicité de phase II. ....	21
1.2.4 Mode de production actuel. ....	21
1.2.5 Activité et mécanisme d'action. ....	22
1.2.6 Les essais cliniques. ....	22
A. Cancer de la prostate. ....	22
B. Cancer colorectal. ....	23
C. Mélanome. ....	23
D. Cancer respiratoire. ....	24
E. Cancer hépatobiliaire. ....	24
1.2.7 Etat actuel et perspectives. ....	25
I.3 La cématodine (LU 103793), analogue de D15. ....	26
1.3.1 Origine et découverte. ....	26

1.3.2	Structure, formule et mode de production.....	27
1.3.3	Activité et mécanisme d'action.....	27
1.3.4	Etude de la toxicité.....	27
1.3.5	Etudes de phase I sur la pharmacocinétique, la toxicité et les modalités d'administration de la molécule.....	28
1.3.6	Les essais cliniques.....	30
	A. Cancer respiratoire.....	30
	B. Mélanome.....	30
	C. Cancer du poumon non à petites cellules.....	31
1.3.7	Etat actuel et perspectives.....	31
I.4	La synthadotine (ILX 651, tasidotine), analogue de D15.....	32
1.4.1	Origine et structure.....	32
1.4.2	Propriétés pharmacocinétiques, métabolisation et toxicité.....	32
1.4.3	Mode de production.....	35
1.4.4	Activité et mécanisme d'action.....	35
1.4.5	Les essais cliniques.....	36
1.4.6	Etat actuel et perspectives.....	36
I.5	La bryostatine 1.....	37
1.5.1	Origine et date de découverte.....	38
1.5.2	Mode de production.....	38
1.5.3	Mécanisme d'action.....	41
1.5.4	Toxicité de la molécule.....	41
1.5.5	Les essais cliniques.....	42
	A. Mélanome métastatique.....	42
	B. Lymphome non Hodgkinien.....	43
	C. Cancers colorectaux.....	43
	D. Carcinome rénal.....	44
1.5.6	La bryostatine 1 en association.....	45
1.5.7	Etat actuel et perspectives.....	48
I.6	Le kahalalide F : KF.....	49
1.6.1	La découverte de KF.....	49
1.6.2	Structure et formule.....	50
1.6.3	Stabilité chimique et mode de production.....	50
1.6.4	Firme propriétaire.....	51
1.6.5	Activité et mécanisme d'action.....	51
1.6.6	La toxicité et les effets indésirables.....	52
1.6.7	Les essais cliniques.....	53
	A. Pré clinique.....	53
	B. Phase I.....	54
	C. Phase II.....	55
1.6.8	Etat actuel et perspectives.....	56
I.7	E 7389 (eribulin, dérivé d'halichondrine B).....	57
1.7.1	Origine et découverte.....	57
1.7.2	Mode de production actuel.....	58
1.7.3	Activité et mécanisme d'action.....	58
1.7.4	Les essais cliniques.....	59

1.7.5 Les effets indésirables. ....	59
1.7.6 Etat actuel et perspectives. ....	60
I.8 HTI 286 (dérivé d'hémiasterline). ....	61
1.8.1 Origine.....	61
1.8.2 Relation structure activité et résistance. ....	62
A. Relation structure activité.....	62
B. Résistance. ....	62
1.8.3 Mécanisme d'action. ....	62
1.8.4 Etudes cliniques.....	63
1.8.5 Sécurité, stabilité et pharmacocinétique.....	64
1.8.6 Etat actuel et perspectives. ....	64
I.9 La squalamine. ....	65
1.9.1 Origine et date de découverte.....	65
1.9.2 Structure, formule et mode d'obtention. ....	66
1.9.3 Mécanisme d'action, activité et efficacité.....	66
A. Mécanisme d'action. ....	66
B. Activité et efficacité.....	66
1.9.4 Les essais cliniques. ....	67
A. Cancer des ovaires.....	67
B. Cancer du poumon non à petites cellules. ....	67
1.9.5 Toxicité et pharmacocinétique. ....	68
A. Cancers avancés. ....	68
B. Tumeurs malignes.....	69
1.9.6 Etat actuel et perspectives. ....	71
II. Les molécules en phase III. ....	73
II.1 Yondelis® ou ET 743, ecteinascidin, trabectedin. ....	73
2.1.1 Origine et date de découverte.....	74
2.1.2 Firme propriétaire, développement et commercialisation.....	74
2.1.3 Structure et formule.....	75
2.1.4 Mode de production actuel. ....	75
A. L'aquaculture.....	75
B. Hémi synthèse.....	76
2.1.5 Mécanisme d'action. ....	76
2.1.6 Efficacité et toxicité de la molécule. ....	78
2.1.7 Les essais cliniques. ....	82
A. Sarcome avancé des tissus mous. ....	82
B. Tumeur gastro-intestinale. ....	85
C. Tumeurs solides chez des enfants.....	86
D. Cancers ovariens.....	87
E. Cancers respiratoires.....	88
F. Cancer colorectal.....	88
G. Ostéosarcomes récurrents.....	89
2.1.8 Etat actuel et perspectives. ....	89
2.1.9 Comment Yondelis® est il utilisé ? ....	90
II.2 Néovastat® ou AE 941.....	91
2.2.1 Origine et date de découverte.....	91

2.2.2 Mode d'obtention. ....	92
2.2.3 Activité et mécanisme d'action. ....	92
2.2.4 Les essais cliniques. ....	93
2.2.5 Sécurité et efficacité. ....	94
A. Cancer de la prostate. ....	94
B. Tumeurs solides ....	95
2.2.6 Aeterna et l'AE 941 ....	95
2.2.7 Etat actuel et perspectives. ....	96
 Récapitulatif. ....	 98
 Partie 2 : Le cartilage de requin en thérapeutique anticancéreuse .....	 103
I. Le requin et le cancer. ....	103
II. Le requin et le cartilage. ....	103
II.1 Quelle spécificité possèdent les requins ? .....	103
II.2 Le cartilage. ....	104
II.3 Cartilage de veau et cartilage de requin : début de l'efficacité.....	104
II.4 Lien entre cancer et cartilage. ....	105
A. Sur les animaux. ....	105
B. Sur les humains. ....	107
III. Essais du cartilage sur les tumeurs. ....	108
III.1 Tumeurs abdominales. ....	108
III.2 Cancer du sein. ....	108
III.3 Cancer du poumon. ....	109
III.4 Cancer du foie. ....	110
III.5 Cancer du col de l'utérus.....	110
III.6 Adénocarcinome du rectum. ....	111
III.7 L'expérience de La Havane.....	111
III.8 Etude de phase I-II. ....	115
IV. Quel mécanisme d'action ? .....	116
IV.1 Rappel sur le rôle des vaisseaux sanguins dans le développement des tumeurs....	116
IV.2 Rappel sur l'angiogénèse. ....	116
IV.3 Pourquoi le cartilage est il anti angiogénique ? .....	117
IV.4 Comment le cartilage induit il l'apoptose ? .....	117
V. Les utilisations thérapeutiques. ....	118
V.1 Effet anti-inflammatoire. ....	118
V.2 Psoriasis.....	119
VI. Conclusion sur le cartilage de requin. ....	120
 Partie 3 : Les organismes producteurs.....	 122
I. Les tuniciers. ....	122
I.1 <i>Aplidium albicans</i> : DDB.....	122
I.2 <i>Ecteinascidia turbinata</i> : ET 743.....	122

A. Présentation générale.....	122
B. La reproduction.....	123
C. L'appareil digestif.....	124
II. Les mollusques.....	124
II.1 <i>Dolabella auricularia</i> : dolastatine 10, cématodine, synthadotine.....	124
A. Présentation générale.....	124
B. Evolution.....	125
C. Description.....	125
D. Alimentation.....	126
E. Caractères généraux de l'ordre des <i>anaspidea</i> .....	126
II.2 <i>Elysia rufescens</i> : Kahalalide F.....	127
A. Présentation générale.....	127
III. Les bryozoaires, <i>bugula neritina</i> : bryostatine 1.....	128
A. Présentation générale.....	128
B. Morphologie.....	129
C. La nutrition.....	130
D. La reproduction.....	130
IV. Les éponges, les démosponges.....	131
IV.1 <i>Halichondria okadai</i> : E 7389.....	131
IV.2 <i>Cymbastela</i> : HTI 286.....	131
A. Les éponges : morphologie.....	131
B. Anatomie des éponges.....	132
C. Structure histologique des éponges.....	133
D. Alimentation des éponges.....	134
E. Observation physique concernant les démosponges.....	135
F. Reproduction des démosponges.....	135
V. Le requin, <i>sphyrna lewini</i> , <i>squalus acanthias</i> : La squalamine, le Néovastat®.....	136
A. Présentation générale.....	136
B. Distribution.....	137
C. Description.....	137
D. Biologie.....	137
E. Pêche et alimentation.....	138
Conclusion.....	139
Bibliographie.....	141
Références internet.....	161

# Introduction

## **Introduction.**

J'ai décidé d'entreprendre ce travail pour deux raisons principales : la première, qui me concerne, est ma fascination pour le monde marin, sa faune, sa flore.

La seconde, qui touche de près à ma profession, est d'actualiser les connaissances dans le domaine des anticancéreux d'origine marine. J'ai donc choisi un sujet alliant intérêt personnel et intérêt professionnel. En effet, il devenait important pour moi de faire le point sur les nombreuses molécules issues des organismes marins. Il s'agissait ici de classer les molécules en fonction de leur avancée dans les essais cliniques. Ce travail va permettre d'obtenir des informations rapides et fiables concernant l'actualité des anticancéreux d'origine marine en essais cliniques de phase II et III.

Après avoir obtenu une liste des molécules existantes, il a fallu, molécule par molécule, obtenir une information pertinente concernant leur classement dans les essais cliniques. Finalement, neuf molécules en phase II et seulement deux molécules en essai de phase III ont été retenues. Ces onze molécules m'ont servi de base pour mon travail et, à partir de celles-ci il me restait à rassembler le maximum d'informations les concernant : leur date de découverte, leur mode d'obtention, leur mécanisme d'action ainsi que leur essai clinique. Toutes ces données ont été rassemblées dans une première partie.

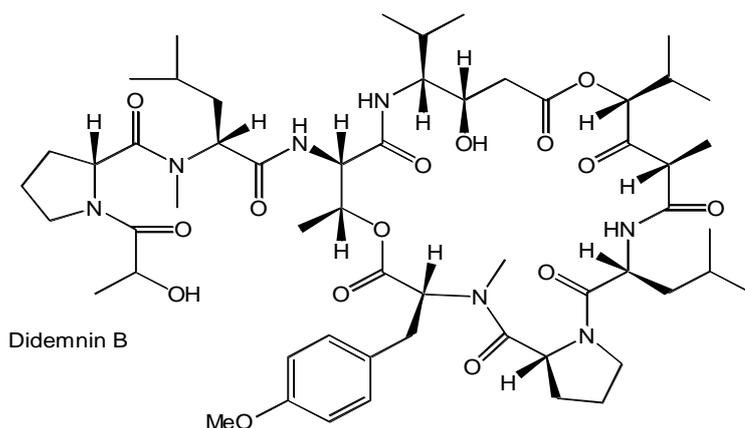
Puis, dans une seconde partie, je me suis intéressée de plus près au cartilage de requin. J'ai voulu faire le point sur son origine, son mécanisme d'action, ses applications en thérapeutique anticancéreuse et mettre ainsi en évidence ses effets bénéfiques sur certains cancers.

Enfin, ma passion pour la faune marine m'a permis d'écrire une troisième partie concernant les organismes producteurs de ces anticancéreux. Pour chaque organisme marin, j'ai décidé de détailler les caractères généraux les concernant : description des organismes, leur alimentation ainsi que leur mode de vie.

## Partie 1

Les molécules en  
essais cliniques de  
phase II et III





**Organisme source :** *Aplidium albicans*, embranchement des tuniciers.

**Classe :** *Ascidacea*

**Sous classe :** Enterogones

**Ordre :** *Aplousobranchia*

**Famille :** *Polyclinidae*

**Genre :** *Aplidium*

### 1.1.1 Origine et date de découverte.

La famille des didemnines a été une des références dans la découverte des molécules marines anticancéreuses. En effet, la didemnine B de *Trididemnum solidum* a été la première molécule anticancéreuse à entrer dans des essais cliniques au début des années 1980. La phase I des essais cliniques a montré l'apparition d'une toxicité neuromusculaire, cependant, la molécule est passée en phase II mais les recherches ont été rapidement stoppées du fait de l'émergence d'une cardiotoxicité importante. Cependant, l'intérêt pour cette catégorie de molécule ne s'est pas arrêté là, en effet, la didemnine B (DB) a servi de base pour une deuxième génération de composés pouvant avoir un meilleur profil thérapeutique. On entend ici par « meilleur profil thérapeutique », une molécule aussi efficace de part son action mais provoquant moins d'effets indésirables (Amador *et al.*, 2003).

Un dérivé déhydro de la molécule « mère » didemnine a donc émergé comme une alternative thérapeutique basée sur une activité supérieure en modèle expérimental, il s'agit de la dehydrodidemnine B (DDB) ou Aplidine® (Amador *et al.*, 2003).

De ce fait, la recherche systématique de didemnines dans les ascidies a permis à la firme PharmaMar d'identifier en 1988 DDB chez *A. albicans* du fait de sa cytotoxicité sur les cellules cancéreuses (cette cytotoxicité sera mise à profit pour son mécanisme d'action) dix fois supérieure à celle de la DB (Voir le site internet de bioaqua)

Par la suite, DDB s'est montrée supérieure à DB, étant moins toxique et plus active, avec un spectre d'activité *in vitro* et *in vivo* contre des tumeurs variées (Schwartzmann *et al.*, 2003).

Les propriétés antitumorales de DDB ont été rapportées en 1996 par Pharmamar (Rawat et Divan, 2006).

La synthèse totale de ce composé a été achevée récemment (Rawat et Divan, 2006), et la firme PharmaMar en a assuré actuellement le développement (Yao, 2003).

### **1.1.2 Structure.**

Les structures de DB et DDB sont basées sur un cycle hexadepsipeptidique commun à toutes les didemnines naturelles (Simmons et Andrianosolo, 2005).

Le cycle contient deux unités inhabituelles (isostatines et acide hydroxy-valeryl-isopropionique) et une méthyl leucine latérale, de ce fait, la molécule est peu soluble dans l'eau (Biard, 2001) (Schéma).

La seule différence entre DB et DDB est la présence d'un acide lactique chez DB alors que chez DDB on trouve un groupe pyruvyl.

### **1.1.3 Métabolisme *in vitro*.**

Le métabolisme *in vitro* de DDB a été caractérisé en utilisant des tests basés sur l'incubation de plasma, des préparations de foie, du cytochrome P450, de l'uridine diphosphoglucuronosyl transférase (UGT), en combinaison avec une analyse par HPLC afin de déterminer les métabolites.

DDB est métabolisée par des carboxyl estérases dans le plasma humain, la molécule est métabolisée principalement par le CYP (cytochrome) 3A4 mais également par le CYP 2A6, 2E1 et 4A11.

Quatre métabolites ont été observés après incubation avec des microsomes de foie humain : un formé par le CYP 2A6 (C-déméthylation), et trois formés par le CYP 3A4 (hydroxylation et ou C-déalkylation). Cependant, les métabolites de la DDB formés par le CYP sont conjugués par des enzymes de Phase II : UGT, GST et SULT.

En conclusion, les résultats ont montré que le CYP 3A4 possède un rôle majeur dans le métabolisme *in vitro* de DDB en association avec le CYP 2A6, 2E1, et 4A11. Ainsi, ces recherches pourraient peut être aider l'interprétation de l'activité pharmacocinétique *in vivo* de DDB (Brandon *et al.*, 2007).

#### **1.1.4 Mode de production actuel.**

La teneur assez élevée dans l'organisme d'origine a permis de commencer les études pré cliniques sans attendre la mise au point d'un procédé de synthèse, lequel s'est d'ailleurs révélé difficile à réaliser (Biard, 2001).

Après une période d'hémisynthèse, la synthèse totale a pris le relais (Voir le site internet de Pharmamar).

#### **1.1.5 Activité et mécanisme d'action.**

##### A. Activité.

DDB a montré une sélectivité d'action en éliminant préférentiellement les cellules leucémiques humaines circulant dans le sang chez les adultes et les enfants. Dans ces études, il a été observé que DDB était plus sélective sur des cellules leucémiques et les lymphomes que sur les cellules normales. D'autre part, DDB fonctionne indépendamment des autres molécules anticancéreuses (Taraboletti *et al.*, 2004).

Les études toxicologiques avec DDB ont montré d'importants effets toxiques lors d'expositions prolongées. Cet agent produit une réduction marquée de l'activité de l'ornithine décarboxylase, une enzyme jouant un rôle dans l'angiogenèse ainsi que dans la formation et la croissance des tumeurs dans les cellules tumorales.

L'effet de DDB sur des cellules du colon cultivées a été testé utilisant de multiples approches : l'étude de la prolifération cellulaire, le temps de survie après trois heures d'exposition à DDB, la diminution du proto-oncogène ainsi que l'activité de l'ornithine décarboxylase. Une concentration de DDB de  $10^{-8}$  M inhibe totalement la croissance des cellules. Les résultats obtenus indiquent que les lignées cellulaires les plus prolifératives étaient celles qui étaient les plus sensibles à la molécule. Les lignées cellulaires HT 29 ont montré un temps minimal de survie après trois heures de traitement par DDB. Une diminution dose dépendante de l'activité de l'ornithine décarboxylase a également été observée. Les résultats ont bien montré que DDB est un agent potentiellement cytotoxique sur les cellules du colon (Lobo *et al.*, 1997).

### B. Mécanisme d'action.

DDB provoque l'induction de l'apoptose (Ebra *et al.*, 2002). Elle provoque également un blocage du cycle cellulaire des cellules cancéreuses en phase G1 et G2 et possède une action anti-angiogénèse par inhibition du facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGF) : une protéine intervenant dans la vascularisation des tumeurs (Consuelo *et al.*, 2003).

Les lignées cellulaires concernées par l'action de DDB sont caractérisées non seulement par la possibilité de sécréter le VEGF mais aussi par la présence à leur surface du récepteur au VEGF (VEGF receptor-1, VEGFR-1). DDB diminue ainsi l'expression de VEGFR-1 et bloque donc la sécrétion de VEGF, il s'en suit une diminution de la production à la fois de VEGF et de VEGFR-1. (Broggini *et al.*, 2003). L'inhibition entraîne un blocage de la production de la matrice métalloprotéique (MMP-2 et MMP-9) par les cellules endothéliales (Taraboletti *et al.*, 2004).

De plus, DDB interfère avec la synthèse des protéines par une augmentation des taux cellulaires de spermine et spermidine due à une inhibition de leur dégradation (Cuadrado *et al.*, 2003).

DDB interagit également avec la palmitoyl thioesterase (Faircloth *et al.*, 2002), et surtout provoque l'inhibition de la translocation lors de la phase d'élongation des polypeptides au niveau des ribosomes, cette inhibition est due à une interaction didemnine-facteur d'élongation EF-1-GTP (Crews *et al.*, 1994).

### **1.1.6 Toxicité et effets indésirables.**

#### **A. Les toxicités musculaires.**

Aux doses limites de toxicité (DLT) des douleurs musculaires sont apparues avec une augmentation des créatinines kinases.

Sur la base d'observations en microscopie optique, il a été montré que la L-carnitine pouvait prévenir ces toxicités musculaires. En conséquence, la co-thérapie avec L-carnitine a été autorisée et a permis d'augmenter les doses administrées dans les études de phase I. Ceci a notamment abouti à vérifier la corrélation dose-effet dans les études de phase II (Ady-Vago *et al.*, 2001).

#### **B. Les effets indésirables.**

Les effets indésirables les plus fréquemment observés au cours de ces essais étaient des asthénies, des nausées et vomissements, des diarrhées, des douleurs musculaires ainsi qu'une augmentation des transaminases.

Des effets indésirables plus gênants tels que des problèmes rénaux, des réactions d'hypersensibilités, des ischémies cardiaques, il a été observé un grade 4 de l'élévation des créatinines kinases, ainsi qu'un grade 3 d'asthénie ayant notamment provoqué le décès d'un patient. Mais par ailleurs, aucun effet sur la toxicité hématologique, aucune mycose ou aucune alopecie n'ont été observées (Rawat et Divan, 2006).

### **1.1.7 Les études *in vitro* et *in vivo*.**

#### **B. Les études *in vitro*.**

*In vitro*, les études ont démontré que DDB était active contre un nombre important de tumeurs solides tels que le mélanome malin, le carcinome ovarien, rénal, les cancers de la prostate ainsi que les carcinomes respiratoires (Depe *et al.*, 1998).

### A. Les études *in vivo*.

DDB a été testée sur des souris en vue d'évaluer la diminution de la croissance des agents toxiques. Les animaux, des souris Balb, ont reçu une fois par jour des injections en intra péritonéale de DDB suivant deux dosages :

- une faible dose correspondant à 0,5 mg/kg/jour.
- une forte dose correspondant à 1,0 mg/kg/jour.

Dans la méthode utilisée, trente souris Balb ont reçu une injection d'agents toxiques qui agira durant trois semaines. A la suite de cette expérience, les animaux ont été autopsiés et les tumeurs examinées pesées et divisées pour l'analyse des protéines de l'ADN. Cette expérience démontre effectivement que DDB réduit la croissance des ATC :

- faible dose : 20% de réduction
- forte dose : 40% de réduction (Straight *et al.*, 2006).

### **1.1.8 Les essais cliniques.**

DDB est entrée en essai clinique de phase I en Espagne, au Canada, au Royaume Unis et en France pour le traitement des tumeurs solides et le lymphome non Hodgkinien à différents dosages (Rawat et Divan, 2006).

Ces essais de phase I se sont achevés en 1988 (Biard, 2001).

### A. Le cancer de la prostate.

DDB se montre plus efficace dans le traitement du cancer de la prostate que les vinca-alcaloïdes et le taxol (Geldof *et al.*, 1999).

### B. Les tumeurs solides.

Les tumeurs solides ainsi que le cancer du poumon non à petites cellules semblent être sensibles à de faibles concentrations de DDB.

Une étude de phase I a été menée sur DDB administrée pendant une heure en intraveineux quotidiennement pendant cinq jours toutes les trois semaines, chez des patients atteints de tumeurs solides réfractaires aux traitements conventionnels.

L'objectif de cette étude était de définir la dose limite de toxicité (DLT) ainsi que la dose maximale tolérée (DMT) et la dose recommandée pour les essais de phase II.

Trente sept patients ont bien voulu se soumettre à cette étude de phase I. Les doses allaient de 80 mug/m<sup>2</sup>/j à 1500 mug/m<sup>2</sup>/j. Onze patients ont été traités par plus de trois cycles de DDB. Les DLT apparaissaient à 1500 mug/m<sup>2</sup>/j et à 1350 mug/m<sup>2</sup>/j et engendraient des effets indésirables tels que des nausées, des vomissements, des myalgies, de la fatigue, des rashes cutanés et des diarrhées. Il n'a pas été observé de myélotoxicité au cours de cette étude. Il a été conclu que la dose recommandée pour la phase II était de 1200 mug/m<sup>2</sup>/j pendant cinq jours toutes les trois semaines.

Neuf patients ont vu leur maladie se stabiliser et deux patients ont eu une réponse mineure dont un patient dans le cancer du poumon non à petites cellules et un deuxième dans le cancer colorectal.

En conclusion, DDB administrée à la dose de 1200 mug/m<sup>2</sup>/j pendant cinq jours, toutes les trois semaines, est bien tolérée et ne présente que peu d'effets secondaires. Cette modalité d'administration est en cours d'évaluation dans les études de phase II dans le traitement des tumeurs hématologiques malignes (Maroun *et al.*, 2006).

### **1.1.9 Etat actuel et perspectives.**

DDB a montré une efficacité évidente chez des patients atteints de cancers du colon et du rein. Le peu de myélotoxicité pourrait permettre l'administration de plusieurs cycles chez les patients traités (Amador *et al.*, 2003).

DDB a également montré une activité contre les lymphomes, les tumeurs gastriques, prostatiques et les tumeurs de la vésicule biliaire (Depe *et al.*, 1998).

Cette molécule est également active sur les cancers rénaux, thyroïdiens et neuroendocriniens.

La phase II des essais cliniques continue en Europe et au Canada couvrant le cancer rénal, le cancer de la tête et du nez ainsi que le cancer thyroïdien (Rawat et Divan, 2006).

DDB a obtenu le statut de médicament orphelin depuis juin 2004, accordé par la FDA (Food Drug Administration), pour le traitement de la leucémie lymphoblastique aigüe (LLA) (Simmons et Andrianosolo, 2005).



D10 rentre en phase I en 1995 puis en phase II en 1999. Cependant, une toxicité de type myelosuppression associant des neutropénies et des granulopénies accompagnées de neuropathies périphériques ont été observées ce qui impose de limiter les doses utilisées (Pitot *et al.*, 1999).

### **1.2.2 Structure.**

D10 est un pentapeptide comprenant quatre résidus amino acide, dont trois sont uniques (dolavaline, dolaisoleucine et dolaproline) et reliés à une amine complexe, la dolaphénine. (cf schéma) (Lansiaux et Bailly, 1999).

La distance entre les extrémités de la chaîne (groupe phenyl éthylamide modifié et groupe di méthylamine) est capitale pour l'interaction avec la tubuline. Il a été remarqué que le raccourcissement de la chaîne peptidique entraîne une baisse d'activité notable pour D10 (Proksch *et al.*, 2002).

### **1.2.3 Essais de toxicité.**

D10 débute les essais cliniques en 1990, réalisés le National Cancer Institute (NCI). Malheureusement, utilisée comme agent unique, il est apparu des neuropathies périphériques modérées chez 40% des patients ainsi qu'une activité insignifiante chez les patients présentant un adéno-carcinome réfractaire aux hormones ainsi qu'un cancer des ovaires sensible au platine (Simmons et Andrianosolo, 2005).

#### **A. Essais de toxicité pré clinique.**

D10 a prouvé une activité cytotoxique sur diverses tumeurs cellulaires.

Une étude dont le but était de mener des essais pré cliniques de toxicité, a été réalisée, afin d'évaluer l'organe ciblé dans la toxicité, d'évaluer la DLT (Dose Limite de Toxicité) et la DMT (Dose Maximale Tolérée) et ainsi d'utiliser ces informations afin d'arriver à une dose de départ ainsi qu'à des schémas de dose.

La méthode était la suivante: D10 était administrée seule en bolus, en intraveineux à des souris CD2 F1, des poissons 344, des rats et des chiens de race Beagle.

Les points à évaluer étaient les suivants :

- observation clinique des animaux (poids).
- contrôle hématologique.
- une observation microscopique des tissus.

Les résultats étaient les suivants : le MTD c'est à dire la plus forte dose n'entraînant pas la mort mais produisant une toxicité était approximativement de 1350 µg/m<sup>2</sup>.

Dans les trois espèces, l'organe touché en premier par la toxicité était la moelle épinière en provoquant une diminution du nombre de cellules érythrocytaires, de cellules myéloïdes et de mégacaryocytes et provoquant une diminution des lignées blanches et des réticulocytes dans le sang périphérique.

Des neutropénies sévères apparaissaient en moins d'une semaine, une anémie était évidente une semaine après l'administration du produit aux rats et chiens, cependant, l'effet hématologique était transitoire et réversible.

D'autres lésions à la dose maximale tolérée sont apparues et se manifestaient par une déplétion cellulaire et une nécrose des organes lymphoïdes (chats et chiens).

En conclusion : la myelotoxicité était un effet indésirable imposant une dose limite chez ces trois espèces (la souris était cependant moins sensible)

Cependant, la dose maximale de toxicité de D10 pour les rats et les chiens est comparable à celle des humains. D'autre part, les résultats des études de toxicologie pré-clinique ont correctement permis d'établir une dose de départ, une dose limite de toxicité et une dose maximale tolérée chez les humains (Mirsalis *et al.*, 1999).

## B. Essais de toxicité de phase I.

Les études de phase I ont été menées chez des patients atteints de tumeurs solides avancées, il en a résulté l'apparition de myélosuppressions (neutropénies) ainsi que des phlébites. Les principaux effets non hématologiques étaient la fatigue, les nausées, et les vomissements lesquels étaient bien contrôlés par une médication standard.

Des neuropathies périphériques ont été rapportées chez 40% des patients. D10 était administrée en bolus intraveineux chaque vingt et un jours. La pharmacocinétique a montré une clairance de 80-92 ml/min/m<sup>2</sup> avec une demie vie d'élimination de 5 à 7h et un volume de distribution de 22-29 L/m<sup>2</sup> (Madden *et al.*, 2000).

### C. Essais de toxicité de phase II.

En phase II des essais cliniques, D10 a été administrée en intraveineux à la dose de 400  $\mu\text{g}/\text{m}^2$  répétée chaque vingt et un jours. Les toxicités ont été déterminées en utilisant le Common Toxicity Criteria.

Les études radiologiques et la mesure des tumeurs étaient répétées tous les deux cycles. Il a été observé que D10 provoquait des toxicités hématologiques ainsi que des toxicités vasculaires mais aucune toxicité gastro-intestinale, hépatique ou rénale n'a été observée. Un décès par arrêt cardiaque a été rapporté durant l'étude. De plus, durant l'étude, douze patients traités par D10 n'ont pas montré de réponse objective. Basé sur ces études de Phase II, de nombreuses études suivantes de D10 n'ont pas été recommandées dans des sarcomes avancés des tissus mous (Rawat et Divan, 2006).

Les doses recommandées dans les études de phase II ont été fixes : de 300 à 400  $\mu\text{g}/\text{m}^2$ . Malheureusement, les études de phase II de D10, administrée comme seul agent chez des patients atteints de tumeurs solides avancées, ont échoué dans la démonstration d'une activité antitumorale significative (Madden *et al*, 2000).

#### **1.2.4 Mode de production actuel.**

La complexité de synthèse des dolastatines et leur faible solubilité en milieu aqueux représentent des obstacles importants à leur développement (Lansiaux et Bailly, 1999).

L'obtention de D10 se fait par synthèse chimique. (Voir le site internet de Bioaqua).

Les premiers procédés ont été rapidement mis au point et sont sans cesse améliorés. (Biard, 2001).

Actuellement, le produit est développé par le National Cancer Institute aux USA (Biard, 2001).

### **1.2.5 Activité et mécanisme d'action.**

D10 interagit avec la tubuline mais sur un site différent de celui des vinca-alcaloïdes, en effet, c'est en perturbant l'équilibre dynamique des microtubules du fuseau que D10 exerce son activité (Wilson et Jordan, 1995).

La mort cellulaire résulte d'un mécanisme initié par l'oncoprotéine bcl-2, inhibitrice de la mort cellulaire par apoptose, dont l'inactivation par phosphorylation serait une conséquence des dommages provoqués aux microtubules : l'expression de bcl-2 dans des cellules de lymphomes non hodgkiniens est abolie par D10 et D15 et l'induction de l'apoptose est associée à la phosphorylation de bcl-2 dans les cellules de cancers pulmonaires (Biard, 2001).

De plus, D10 est un inhibiteur non compétitif au site de liaison des vinca-alcaloïdes à la tubuline ( $K_i = 1,4 \text{ umol/l}$ ) et affecte fortement l'assemblage des microtubules. De nombreux travaux ont révélé que D10 se lie au site de liaison rhizoxin/maytansine, site adjacent au site des vinca-alcaloïdes, et empêche la guanosine-triphosphate de se fixer à la tubuline provoquant l'arrêt de la cellule en métaphase.

Enfin, D10 provoque l'accumulation des cellules tumorales en phase S et en phase G2 M du cycle cellulaire. Elle exerce son activité cytotoxique en interagissant avec la tubuline et l'association des microtubules (Schwartzmann *et al.*, 2003).

### **1.2.6 Les essais cliniques.**

#### **A. Cancer de la prostate.**

Une étude de phase II a été effectuée chez des patients atteints d'un cancer de la prostate réfractaire aux hormones. D10 était administrée à la dose de  $400 \text{ mug/m}^2$  en intraveineux toutes les trois semaines, les doses administrées pouvaient aller jusqu'à  $450 \text{ mug/m}^2$ .

L'évaluation de la toxicité a été réalisée toutes les deux semaines et l'efficacité du traitement a été dévoilée à la fin de chacun des deux cycles.

Seize patients ont été inclus entre octobre 1998 et décembre 1999, l'âge moyen était de soixante et onze ans. Le PSA moyen était de  $108 \text{ ng/ml}$  (moyenne :  $15,3\text{-}1672 \text{ ng/ml}$ ).

Sur les quinze patients choisis, sept étaient de race caucasienne et huit africains américains. Un total de cinquante six cycles a été administré, seulement deux patients ont vu leur dose être ajustée du fait de la toxicité et chez cinq patients la dose a été augmentée jusqu'à 450 µg/m<sup>2</sup>. Les toxicités majeures rapportées étaient des neutropénies d'un grade 3 et 4 chez huit patients et un grade 3 de neuropathie chez un patient.

Une réponse a été observée chez les quinze patients, trois patients ont montré une stabilité de leur maladie, deux des trois patients avaient une maladie osseuse et un patient souffrait de nodules métastatiques. Les autres patients ont, malheureusement, observé une progression de leur pathologie.

Cette étude a donc permis de montrer que D10 est une molécule bien tolérée dans ce type de population et pour cet âge mais possède une faible activité en monothérapie sur ce type de cancer (Vaishampayan *et al.*, 2000).

#### B. Cancer colorectal.

Des études de phase II ont été menées sur des patients souffrant d'un cancer colorectal avancé. Quatorze patients ont reçu des doses allant de 300 µg/m<sup>2</sup> à 450 µg/m<sup>2</sup> en intraveineux chaque vingt et un jours. Il n'y a pas eu de réponse objective, on en a conclu que D10 possède très peu d'activité sur ce type de cancer avancé lorsqu'elle est utilisée à ces doses (Saad *et al.*, 2002).

#### C. Mélanome.

Douze patients atteints d'un mélanome ont été traités par deux cycles de D10 et aucun patient n'a montré de réponse objective, D10 n'a donc pas d'activité dans le traitement du mélanome (Margolin *et al.*, 2001).

#### D. Cancer respiratoire.

Vingt et un patients atteints d'un cancer respiratoire, ont été traités par la D10 à la dose de 400 µg/m<sup>2</sup> en bolus intraveineux, une fois toutes les trois semaines. Dix huit patients ont reçu une cure de chimiothérapie par des anthracyclines, au préalable. Un des vingt et un patients a obtenu une rémission partielle pour une durée de cent treize jours. Quatre patients ont maintenu leur maladie pour quatre vingt sept jours.

Nous pouvons donc en conclure que la D10 possède une activité minimale dans le traitement des cancers respiratoires. Les essais cliniques n'ont pas été poursuivis avec cet agent dans le traitement des cancers respiratoires (Perez *et al.*, 2005).

#### E. Cancer hépatobiliaire.

Les cancers hépatobiliaires malins répondent peu aux chimiothérapies conventionnelles et il est ainsi urgent de trouver de nouveaux agents anticancéreux.

Deux études de phase II, menées en parallèle, furent conduites chez des patients atteints d'un cancer hépatobiliaire avancé ou récurrent du foie, ou bien de la vésicule biliaire ainsi que des adénocarcinomes pancréatiques confirmés par histologie. Ces patients n'avaient pas reçu de chimiothérapie pour traiter ces maladies. D10 a été administrée en bolus intraveineux à la dose de 400 µg/m<sup>2</sup> tous les vingt et un jours. Un scanner était effectué tous les deux cycles.

Vingt huit patients : seize atteints d'un cancer hépatobiliaire et douze d'un carcinome pancréatique ont été choisis. Vingt sept ont obtenus une réponse favorable. Un grade 3-4 de neutropénie est apparu chez 59 % des patients et une neutropénie associée à une fièvre dans 18% des cas.

La moyenne de survie sur une année était de cinq mois pour les personnes atteintes d'un carcinome pancréatique et de trois mois pour les patients atteints d'un cancer hépatobiliaire.

Au cours de cette étude, il a donc pu être démontré que D10 est inactive dans le traitement des carcinomes hépatiques et pancréatiques (Kindler *et al.*, 2005).

### **1.2.7 Etat actuel et perspectives.**

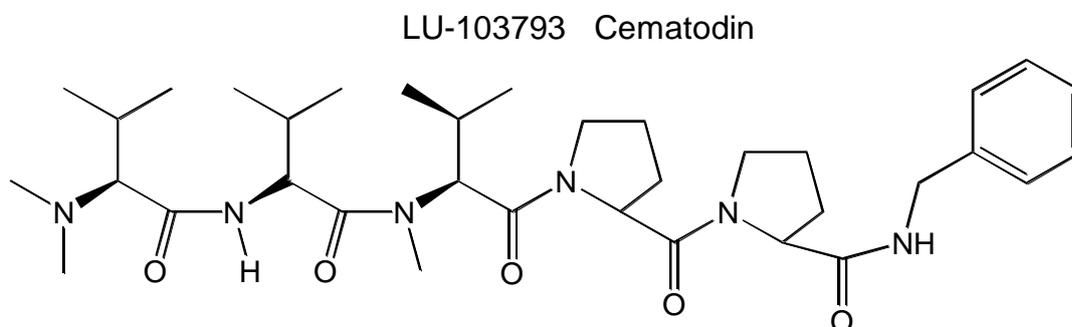
Actuellement, les résultats des études cliniques sont mitigés mais ont pu offrir une base pour étudier la relation structure-activité de D10, en effet ils ont permis la découverte du TZT 1027, un agent potentiellement anticancéreux qui devrait entrer dans les essais cliniques (Rawat et Divan, 2006).

D10 n'a pas montré d'activité évidente contre les différents cancers. De plus, de nombreux échecs dus à une myelosuppression avec des neutropénies et des granulopénies accompagnées de neuropathies périphériques, ont imposé de limiter les doses utilisées.

Actuellement, les essais portant sur plusieurs associations de D10 se poursuivent mais la durée de validité des brevets s'amenuise, de plus, la faible abondance de principe actif leur font préférer actuellement un dérivé de synthèse, le LU 103793 (cématodine), dérivé hydrosoluble de D15 (Biard, 2003).

D10 est par ailleurs en étude pour son effet antifongique spécifique à *Cryptococcus neoformans* et à plusieurs *Trichosporon* (Biard, 2001).

### I.3 La cématodine (LU 103793), analogue de D15.



La cématodine est issue du même organisme que D10 : *Dolabella auricularia*, embranchement des mollusques.

#### **1.3.1 Origine et découverte.**

D15 est un autre peptide anti-cancéreux isolé, à l'état de trace, de *Dolabella auricularia* (6,2 mg pour 1600 kg). Ce peptide est composé de sept résidus amino-hydroxyacide (Rawat et Divan, 2006).

L'évaluation clinique de D15 a été gênée par la difficulté de sa production (extraction ou synthèse) et par sa faible solubilité aqueuse. Cependant, des analogues de synthèse de D15 ont été découverts : la cématodine et la synthadotine.

La cématodine fut synthétisée en 1995 (Rawat et Divan, 2006). Cette molécule a été découverte par l'université d'Arizona State aux Etats Unis (Voir le site internet de Bioaqua).

La cématodine est développée par Abott GmbH et Co KG (Allemagne) (Voir le site internet de Bioaqua).

La phase II a commencé en Europe sous l'égide de la firme Knoll AG (Biard, 2003).

### **1.3.2 Structure, formule et mode de production.**

LU 103793 est une molécule possédant un résidu terminal benzylamine à la place de la dolapyrrolidone de la molécule de départ D15 (Simmons et Adrianosolo, 2005).

La production de la cématodine se fait par synthèse chimique (Schwartzmann et al., 2003).

### **1.3.3 Activité et mécanisme d'action.**

La cématodine exerce son activité cytotoxique via la désintégration de l'organisation des microtubules. Elle diminue aussi l'expression de bcl-2 et augmente l'expression du gène P53, induisant l'apoptose des cellules tumorales (Schwartzmann *et al.*, 2003).

La molécule bloque les cellules à la mitose. La cématodine n'inhibe pas le site de liaison de la vinblastine à la tubuline (Jordan *et al.*, 1998).

Afin de préciser le mécanisme d'action de LU 103793, des chercheurs ont mis au point une méthode biochimique et cellulaire.

Les essais de turbidité avec des microtubules de cerveaux de bovins ont démontré que LU 103793 inhibe la polymérisation des microtubules à une concentration correspondant à un IC 50 de 7  $\mu\text{mol}$ .

Le traitement de cellules cancéreuses avec ce composé induit également la dépolymérisation de l'assemblage des microtubules. L'analyse du cycle cellulaire des cellules tumorales traitées avec LU 103793 indique un blocage en phase G2-M de la cellule. A ce niveau, il se passe une dépolymérisation des microtubules en interphase et une distribution anormale des chromosomes dans la cellule mitotique. Ces effets sont très similaires à l'altération cellulaire que peut engendrer la vinblastine (Arruda *et al.*, 1995).

### **1.3.4 Etude de la toxicité.**

LU 103793 a été évalué dans cinq études de phase I des essais cliniques associant différents modes d'administration. La principale observation a été que la toxicité du LU 103793 est dose dépendante.

Une cardiotoxicité, une hypertension et un infarctus aigu du myocarde ont été observés pendant la période de traitement lorsque le produit est administré en intraveineux toutes les trois semaines à raison d'une administration par semaine.

Il faut savoir que les effets toxiques sont plus rares lorsque les modalités d'administration sont fractionnées (Schwartzmann *et al.*, 2003).

Cependant, la myelosuppression, et particulièrement la neutropénie étaient les effets indésirables pouvant limiter la dose d'administration (Biard, 2001).

A l'inverse des autres agents interagissant avec la tubuline, (par exemple la dolastatine 10 ou bien HTI 286 que nous verrons plus tard dans l'exposé), LU 103793 ne produit pas de neuropathies périphériques, cependant, de nombreux sujets exposés à cette molécule ont reçu un nombre limité de cycles (Biard, 2001).

D'autres effets indésirables peuvent apparaître tels que la fièvre, des douleurs, des phlébites locales, des mycoses, un oedème périphérique, des nausées ainsi que des vomissements mais tous ces effets restent bien tolérés (Smyth *et al.*, 2001).

### **1.3.5 Etudes de phase I sur la pharmacocinétique, la toxicité et les modalités d'administration de la molécule.**

Une étude de phase I a été menée afin d'évaluer l'administration de la cématodine chez des patients atteints d'un cancer. L'administration se fait pendant cinq jours en continu et en intraveineux. Tous les patients inclus s'étaient soumis, au préalable, à un prélèvement histologique.

La dose débutait à 2,5 mg/m<sup>2</sup>, un minimum de trois patients a été évalué à chaque augmentation de la dose jusqu'à l'obtention de la dose maximale tolérée (DMT). Le traitement a été répété tous les vingt et un jours jusqu'à ce que l'on observe chez le patient une évolution dans la maladie que ce soit une amélioration ou bien l'effet inverse.

La toxicité de la molécule a été évaluée et répertoriée par l'US National Cancer Institute Common Toxicity Criteria.

L'étude pharmacocinétique de la molécule a été détectée par radio-immuno-essai (RIA).

Vingt patients ont reçu quatre fois l'administration de la cématodine selon cinq niveaux de dose d'administration allant de 2,5 à 17,5 mg/m<sup>2</sup>.

La neutropénie était le principal effet indésirable mais réversible à l'arrêt du traitement et la dose limite de toxicité (DLT) a été établie à 12,5 mg/m<sup>2</sup>.

Aucun effet hématologique n'a été attribué à la molécule.

En ce qui concerne la pharmacocinétique, la concentration dans le sang de la molécule diminue de façon mono-exponentielle à partir de la fin de l'injection avec une demi-vie de 13,2 h chez tous les patients. La clairance était quant à elle de 0,52 l/h/m<sup>2</sup> et le volume de distribution de 9,9 l/m<sup>2</sup> (Supko *et al.*, 2000).

Une seconde étude de phase I a été menée chez des patients souffrant d'un cancer avancé, cette étude a été menée afin de déterminer la DMT (Dose Maximale Tolérée), la toxicité principale ainsi que la pharmacologie de la cémátodine.

La méthode utilisée était la suivante : la cémátodine est administrée en intraveineux pendant 24h en injection continue à des patients souffrant d'un cancer avancé. Les analyses pharmacocinétiques ont été évaluées durant les premiers cycles du traitement. Les résultats ont montré que l'hypertension artérielle était l'effet indésirable le plus commun. Ce type d'effet indésirable a été observé à tous les niveaux de doses mais un grade 3 était observé seulement à la dose 20,0, 25,0 et 27,5 mg/m<sup>2</sup>.

Cet effet était réversible mais associé chez trois patients à des signes d'ischémie cardiaque. D'autres effets toxiques ont été rapportés tels que des neutropénies, une asthénie ainsi qu'une élévation des enzymes hépatiques.

Une pharmacocinétique linéaire était observée et il a été montré que la demie-vie de la cémátodine au cours de cette étude était de 10h, qu'elle avait un volume de distribution (VD) de 9 l/m<sup>2</sup> et une clairance de 0,6l/h/m<sup>2</sup>.

Aucune réponse totale n'a été observée à l'exception d'une régression mineure d'une tumeur chez un patient atteint d'un carcinome et chez un autre patient atteint de métastases au foie à partir d'un cancer du colon.

Cette étude a donc permis de montrer que l'hypertension artérielle était la dose limite de toxicité de la cémátodine lorsque celle-ci est administrée pendant 24h en intraveineux. La dose recommandée pour ce type de schéma d'administration est de 15 mg/m<sup>2</sup> (Mross *et al.*, 1998).

Afin de déterminer la dose maximale tolérée et la pharmacocinétique de la cémátodine quand elle est administrée pendant cinq jours toutes les trois semaines, il a été effectué une étude de phase I chez des patients souffrant d'un stade avancé de tumeurs malignes solides.

Cinquante six doses de cématodine allant de 0,5 à 3,0 mg/m<sup>2</sup> ont été administrées à vingt six patients atteints de tumeurs malignes. Les études pharmacocinétiques ont montré un résultat à J1 et J5 de la première dose.

Une neutropénie, un œdème périphérique et une modification de la fonction hépatique étaient les effets indésirables les plus fréquents et limitant ainsi la dose à 2,5 mg/m<sup>2</sup>/j.

Quatre des six patients ont subi une toxicité à la dose de 3,0 mg/m<sup>2</sup>/j, et deux des douze patients traités à 2,5 mg/m<sup>2</sup>/j ont développé à cette dose une toxicité.

La pharmacocinétique était indépendante de la dose et similaire à J1 et J5. Le VD était de 7,6 plus ou moins 2,0 l/m<sup>2</sup>, la clairance de 0,49 plus ou moins 0,18 l/h/m<sup>2</sup> et la demie vie d'élimination 12,3 plus ou moins 3,8 h.

En conclusion, la dose recommandée pour la phase II des essais cliniques lorsque la cématodine est administrée pendant cinq jours toutes les trois semaines, est de 2,5 mg/m<sup>2</sup>/j.

Le peu d'effets cardiovasculaires et le profil de toxicité acceptable ont permis à la cématodine de poursuivre les essais cliniques (Villalona *et al.*, 1998).

### **1.3.6 Les essais cliniques.**

#### **A. Cancer respiratoire.**

Le but de cette étude de phase II était d'évaluer l'efficacité et la tolérance du LU 103793 chez des patients atteints d'un cancer respiratoire et qui avaient auparavant été traités par de la chimiothérapie à un stade avancé de leur maladie. Les patients ont reçu LU 103793 à la dose de 2,5 mg/m<sup>2</sup>/jour durant cinq minutes pendant cinq jours consécutifs, toutes les trois semaines. Trente quatre patients ont été choisis. La toxicité principale était l'hypertension artérielle qui est apparue chez sept des trente quatre patients, il n'y a pas eu de réponse objective. Les études de phase II n'ont donc été poursuivies (Kerbrat *et al.*, 2003).

#### **B. Mélanome.**

En étude de phase II, quatre vingt patients naïfs (c'est-à-dire n'ayant pas eu de chimiothérapie auparavant) ont reçu un total de deux cent dix huit cycles de traitement par la cématodine. Il a été recensé une réponse complète et trois réponses partielles sur une moyenne de six mois.

La toxicité fut modérée, il n'y a pas eu de problèmes graves concernant l'hypertension ou autres toxicités hématologiques. La cématodine n'a pas d'indication majeure dans le traitement des mélanomes (Smyth *et al.*, 2001).

### C. Cancer du poumon non à petites cellules.

Une étude de phase II du LU 103793 a été menée par le North Central Cancer Treatment Group chez des patients atteints d'un cancer du poumon non à petites cellules. Les patients inclus dans l'étude, ont reçu cet agent à la dose de 2,5 mg/m<sup>2</sup> en intraveineux pendant cinq minutes sur cinq jours consécutifs toutes les trois semaines. Quarante deux traitements ont été administrés, aucune réponse n'a été observée. Cet agent apparaît donc comme inactif dans le traitement du cancer du poumon non à petites cellules (Marks *et al.*, 2003).

#### **1.3.7 Etat actuel et perspectives.**

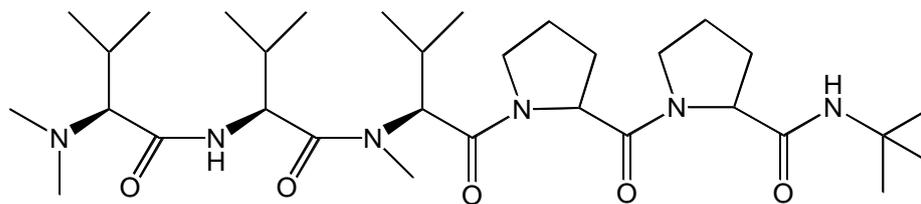
Les études de phase II évaluant l'activité chez des patients souffrant de mélanomes et de cancers respiratoires ont échoué, mais la phase II des essais continue pour les cancers du poumon, des ovaires de la prostate et du colon (Rawat et Divan, 2006).

Actuellement, il existe de nombreuses données différentes, en effet certaines sources considèrent que les travaux sur cette molécule sont stoppés, d'autres rapportent, en juin 2003, que la phase II continue toujours pour les cancers cités ci-dessus (Newman et Cragg, 2004).

De plus, basé sur la structure de la cématodine, une série d'analogues ont été développés. Ces analogues de synthèse ont été testés afin de procéder à un screening au NCI sur une variété de cancers humains. De nombreux analogues ont montré une activité sur la croissance des cellules leucémiques. Par exemple, l'analogue 18 est spécialement actif contre les lignées cellulaires HL 60 et K 562 alors que les analogues 14 et 17 sont actifs contre le cancer de la prostate et le cancer respiratoire.

Cependant, tous les analogues présentent une activité plus faible que la dolastatine 15 et que la cématodine. Il faudrait espérer que ces nouveaux analogues pourraient avoir leur place dans le développement de nouvelles molécules anticancéreuses (Hu et Huang, 1999).

## I.4 La synthadotine (ILX 651, tasidotine), analogue de D15.



Synthadotin Tasidotin ILX 651

### 1.4.1 Origine et structure.

L'organisme source est le même que pour la dolastatine 10 : *Dolabella auricularia*. C'est un peptide possédant un groupe terminal ter-butyl alors que l'on retrouve un groupe dolapyrrolidone dans la dolastatine 15 (Rawat et Divan, 2006).

La molécule a été découverte par Arizona State Univ aux Etats-Unis.

Le premier essai clinique a débuté en 1994 (Rawat et Divan, 2006).

### 1.4.2 Propriétés pharmacocinétiques, métabolisation et toxicité.

La pharmacocinétique de la tasidotine (ILX 651) utilisée dans le traitement des tumeurs solides et de la tasidotine C-carboxylate, son principal métabolite, a été mise en évidence chez des souris mâles chez lesquelles ont été implantées soit la tumeur LOX sensible à la tasidotine, soit la tumeur H460 résistante à la tasidotine.

La pharmacocinétique de la tasidotine et de ses métabolites a été caractérisée après administration unique de tasidotine (20 et 120 mg/kg), de tasidotine C-carboxylate (150 mg/kg) ou de tasidotine (53 mg/kg) avec ou sans Z propyl prolinal (5 mg/kg administré pendant une heure), un antagoniste compétitif de la prolyl-oligopeptidase, une enzyme responsable de la transformation de la tasidotine en tasidotine C-carboxylate.

Une deuxième étude a été effectuée comparant la croissance des tumeurs chez des souris traitées par la tasidotine et chez lesquelles a été implantée une tumeur LOX avec et sans Z prolyl prolinal. Après l'administration de la tasidotine, la pharmacocinétique de la tasidotine et de la tasidotine C-carboxylate était similaire dans le plasma et les tumeurs LOX et H460 implantées chez les souris. Les concentrations de carboxylate dans la tumeur étaient plus élevées que dans le plasma après administration de tasidotine.

Moins de 5% de la tasidotine administrée sont convertis en tasidotine C-carboxylate avec aucune différence apparente entre les tumeurs LOX et H460. La présence de Z prolyl prolinal diminue la conversion de la tasidotine en tasidotine C-carboxylate de 5,5 % à 0,9% soit une réduction de 80%.

Après administration de la tasidotine C-carboxylate, la demie vie est de l'ordre de la minute, alors qu'elle est d'une heure après l'administration de la tasidotine.

L'élimination de la tasidotine C-carboxylate n'est pas dépendante de la pharmacocinétique de la tasidotine.

La tasidotine C-carboxylate est également métabolisée en despropyl tasidotine C-carboxylate bien que le ratio soit inférieur à 10%.

Le prétraitement avec Z propyl prolinal abolit complètement l'activité antitumorale de la tasidotine. De plus, le métabolite est responsable de l'activité principale de la tasidotine, c'est pourquoi la tasidotine elle-même ayant une activité *in vitro* est principalement active comme prodrogue (Bonate *et al.*, 2007).

Une autre étude a recherché la Dose Maximale Tolérée (DMT) et la pharmacocinétique de ILX 651 quand elle est administrée à J1, J3, J5 toutes les trois semaines chez des patients atteints de tumeurs solides.

Trente deux patients ont été traités avec quatre vingt douze applications de la tasidotine à travers sept niveaux de dose. L'étude pharmacocinétique a été effectuée durant le premier traitement.

Seulement un patient a souffert d'un grade 3 de neutropénie compliqué d'un grade 3 de candidose oesophagienne et d'un grade 3 de déshydratation. Seulement un patient sur les onze traités à la dose de 34,4 mg/m<sup>2</sup> a souffert une neutropénie.

Les autres effets indésirables les plus communs étaient la fatigue, des anorexies, des vomissements, des alopecies et des diarrhées. La meilleure réponse antitumorale observée était une stabilité de la maladie et a été notée chez dix patients.

La durée moyenne des études pour ces patients ayant une stabilité de la maladie était de 99,5 jours à l'inverse de 37,5 jours pour les patients ayant une progression de leur maladie.

En ce qui concerne la pharmacocinétique, la tasidotine possède une demie vie inférieure ou égale à cinquante cinq minutes et 11% de la molécule est excrété par les urines, sous une forme inchangée.

En conclusion, la dose recommandée pour les études de phase II ainsi que la DMT quand la tasidotine est administrée à J1, J3, J5 toutes les trois semaines, est de 34,4 mg/m<sup>2</sup> (Cunningham *et al.*, 2005).

Des chercheurs ont voulu examiner la DMT, DLT et la pharmacocinétique de la tasidotine quand elle est administrée en intraveineux tous les jours pendant cinq jours toutes les trois semaines.

Trente six patients souffrant de tumeurs solides ont reçu un total de cent quatorze traitements à travers huit niveaux de dose allant de 2,3 à 36,3 mg/m<sup>2</sup>.

Les résultats ont montré une neutropénie comme principale dose limite de toxicité à 36,3 mg/m<sup>2</sup> avec une élévation des ALAT et ASAT (enzymes hépatiques).

Quatre des quatorze patients expérimentant cette dose limite ont souffert d'un grade 4 de neutropénie, les autres toxicités étaient des alopecies, fatigues, nausées. Un patient atteint d'un mélanome métastatique au foie et aux os a été traité à 15,4 mg/m<sup>2</sup> et a montré une réponse complète après vingt traitements par la tasidotine.

Deux autres patients souffrant d'un mélanome ont donné une réponse mitigée à 27,3 mg/m<sup>2</sup>.

De plus, neuf patients ont pu observer une stabilité de leur maladie.

Il n'y a pas d'accumulation de la tasidotine lors d'administrations répétées.

Il a été remarqué que la concentration de tasidotine diminue de façon biphasique avec une demie vie inférieure à 45 min.

En conclusion, la dose recommandée pour la phase II quand la tasidotine est administrée selon ce schéma d'administration est de 27,3 mg/m<sup>2</sup> (Ebbinghaus *et al.*, 2005).

Le but d'une autre étude de phase I concernant la tasidotine était de déterminer la pharmacocinétique, la sécurité et de mettre en évidence l'activité anticancéreuse de la tasidotine quand elle est administrée pendant trente minutes en intraveineux toutes les semaines pendant trois semaines et ceci chaque vingt huit jours.

Trente patients ont été traités avec quatre vingt deux administrations à six niveaux de dose allant de 7,8 à 62,2 mg/m<sup>2</sup>. Des échantillons d'urine et de sang étaient analysés afin de caractériser la pharmacocinétique de la tasidotine.

Les résultats ont montré une incidence élevée de neutropénie compliquée d'une fièvre (chez un patient) ; ce fut les deux principaux effets indésirables de la tasidotine à la dose de 46,8 mg/m<sup>2</sup>.

A tous les niveaux de dose, aucune toxicité hématologique n'était présente, un grade trois de toxicité incluant des diarrhées, et des vomissements a été remarqué. La molécule a induit des symptômes neurosensoriels mais aucune toxicité cardiovasculaire.

La pharmacocinétique de la tasidotine n'est pas linéaire à l'inverse de ses métabolites.

Un patient atteint d'un cancer du poumon non à petites cellules a obtenu une réponse mineure et un patient atteint d'un carcinome hépatocellulaire a obtenu une stabilité de la maladie sur onze mois.

La conclusion a été la suivante : la dose recommandée pour la phase II des études de la tasidotine administrée selon le schéma est de 46,8 mg/m<sup>2</sup>. La tasidotine est une molécule provoquant une faible myelosuppression et une toxicité hématologique contrôlable à la dose recommandée (Mita *et al.*, 2006).

### **1.4.3 Mode de production.**

La molécule est actuellement développée par BASF Pharma/ Ilex Oncology aux Etats-Unis.

L'obtention est faite par synthèse chimique, c'est la troisième génération des analogues de synthèse de la dolastatine 15 (Rawat et Divan, 2006).

### **1.4.4 Activité et mécanisme d'action.**

La synthadotine bloque la mitose et inhibe la polymérisation de la tubuline dans les microtubules. Cependant, la molécule supprime fortement la dynamique des microtubules jusqu'à cinq à dix fois supérieure à la normale. Son mécanisme d'action est de réduire fortement la croissance des microtubules.

A l'opposé des autres molécules ciblant les microtubules, la synthadotine n'inhibe pas le taux de croissance mais elle réduit à son plus faible niveau la dynamique des microtubules, la molécule réduit également la fréquence de réparation des microtubules (Ray *et al.*, 2007).

#### **1.4.5 Les essais cliniques.**

La tasidotine est actuellement intégrée dans trois études cliniques de phase II (annoncé par Ilex Oncology) pour le traitement de patients atteints d'un cancer du poumon non à petites cellules ou d'un cancer de la prostate réfractaire aux hormones mais traité au préalable par du docetaxel (Voir le site internet de thefreelibrary).

Les résultats d'une étude de phase I présentés par les investigateurs cliniques en 2004 au meeting annuel American Society of Clinical Oncology (ASCO) ont montré que la tasidotine apparaît comme étant biologiquement active et bien tolérée chez des patients souffrant de tumeurs solides réfractaires. Les études préliminaires de la phase II ont également été présentées à l'ASCO et ont montré que la tasidotine apparaît comme étant non toxique et bien tolérée (Voir le site internet thefreelibrary).

#### **1.4.6 Etat actuel et perspectives.**

La synthadotine a montré une activité antitumorale chez des modèles atteints de tumeurs solides incluant des cancers qui résistent aux autres drogues interagissant avec la tubuline (Voir le site internet Les bryozoaires).

Les essais cliniques de phase II sont toujours en cours pour le traitement du mélanome, du cancer du sein et du cancer du poumon non à petites cellules (Rawat et Divan, 2006)



### **1.5.1 Origine et date de découverte.**

La molécule, un macrolide cyclique, a été découverte par Arizona Sstate University aux Etats Unis.

L'activité de *Bugula neritina* a été révélée en 1968 lors de tests *in vivo* chez la Souris et l'isolement des bryostatines 1 et 2 a été révélé en 1982. Lors de ces essais, aucune toxicité n'avait été remarquée. Par la suite, plusieurs années d'étude sur de multiples échantillons ont montré que l'activité était fluctuante. Dix ans ont ensuite été nécessaires pour retrouver une source d'activité constante et pour s'apercevoir que la cytotoxicité était bien présente mais était très spécifique à certaines lignées cellulaires (Biard, 2001).

La molécule est actuellement développée par GPC biotech en Allemagne.

### **1.5.2 Mode de production.**

Depuis la publication de la première structure par Pettit en 1982, cette molécule a été la cible de nombreuses voies de synthèse. De nombreuses synthèses partielles ont été publiées, mais seule une partie active de la molécule a été obtenue.

Pour les autres bryostatines, actuellement connues seulement trois des vingt composés issus de *Bugula* ont été synthétisés. Le premier composé est la bryostatine 7 en 1990, le second, la bryostatine 2 en 1999 et la synthèse de la bryostatine 3 en 2000 (Rwat et Divan, 2006).

Les difficultés de la synthèse totale de la bryostatine 1 laissent penser que ce ne serait pas le procédé le plus favorable à sa production industrielle, d'autre voies ont été évaluées : l'aquaculture de l'organisme source dans un premier temps, puis une production biotechnologique basée sur l'existence de bactéries symbiontes dans un second temps.

La production par aquaculture de B1 a été mise en pratique par Calbiomarine Technologies Inc. (Californie). Une productivité de 2 à 4 kg/m<sup>2</sup> en poids frais de *Bugula neritina* a été atteinte (Biard, 2001).

La seule source connue de ce composé est le bryozoaire *Bugula neritina*. Cependant, seulement quelques populations de Californie et de la mer de Cortez étaient connues pour contenir un octa 2,4 dienoate ester à la position C20 de la molécule, lequel différencie la bryostatine 1 de ses dix sept congénères chimiques trouvés dans les autres populations de *Bugula*.

Le projet initial, sponsorisé par le NCI, a été mené dans un petit laboratoire localisé sur le lagon Aqua Hedionda à trente cinq miles au nord de San Diego en Californie. Pour la première expérience, vingt kilogrammes de parents gravides de *Bugula neritina* ont été collectés à partir de la population qui était connue pour contenir la bryostatine 1. L'ensemble a été transporté au laboratoire.

Le matin suivant, grâce à une lumière artificielle, mille larves de 100 mum étaient à la surface de l'eau, à la lumière. Les larves ont été transférées dans un aquarium contenant des plaques de différents types de plastique, céramique et autre matériel sur lesquelles les larves pouvaient se développer.

Quelques heures après, les larves se sont métamorphosées en début de bourgeons à partir desquels la prochaine génération de *Bugula* va également bourgeonner pour former une deuxième génération de colonies.

La première expérience a révélé que la majorité des larves se dispersent au lieu de rester à la surface de chaque plaque. Ce fut le premier problème technique rencontré, il fallait donc mettre au point une technique afin de maintenir les larves.

Des techniques de dispersion d'air ont été employées, en utilisant des plastiques en PVC perforés afin que les larves ne migrent plus.

En suite vint le problème de l'alimentation des larves, la nature a fait que chaque larve de *Bugula* possède une énergie juste suffisante pour survivre de une heure à vingt quatre heures avant qu'elle ne se fixe sur un substrat et ne se métamorphose. En ce qui concerne la nourriture, il faut une grande quantité de phytoplancton afin de garder en vie ces nouvelles larves.

Pour les essais d'aquaculture, de larges tubes cylindriques ont été employés pour la culture de huit espèces de phytoplancton, de la nourriture artificielle était mélangée afin de réduire la quantité de phytoplancton à produire.

Après six à huit mois d'essai, les colonies cultivées avaient le même aspect que les colonies naturelles.

La technique a ensuite été transposée en pleine mer : le calcul du potentiel de production a montré que 0,2 g de bryostatine produit correspond au traitement de cent patients leucémiques chaque année à la dose de 25 µg/m<sup>2</sup> de surface corporelle.

L'aquaculture en pleine mer de la bryostatine 1 a prouvé son efficacité commerciale, cependant le procédé possède des problèmes inhérents : premièrement, il n'est pas à l'abri des aléas climatiques notamment El Niño qui a ravagé les côtes de Californie du Sud durant la première moitié des années 1990, la pluie dévastant les « nids » de *Bugula*, durant 1994-1995 la température de l'eau était descendue à cinq degrés Celsius. Ce dérèglement a provoqué l'élimination du turn-over des nutriments dans la zone euphotique et toute la population de *Bugula* a péri.

D'autre part, de nombreux prédateurs nudibranches (*Polycera atra* et *Hermisenda crassicornis*) ont un appétit féroce pour les jeunes colonies de *Bugula*, il fallait donc séparer les larves de nudibranche de celle de *Bugula*.

Actuellement, une question se pose sur l'aquaculture : est ce qu'une compagnie pharmaceutique va vouloir investir dans l'aquaculture ? D'autant qu'il serait moins risqué d'utiliser la fermentation ou des systèmes transgéniques pour la production de la bryostatine 1.

L'aquaculture va donc devoir attendre encore un peu afin de vérifier si elle devient la technologie de choix (Fusetani, 2000).

En ce qui concerne la production à partir de bactéries symbiontes, le travail de Haygood, un chercheur, et de sa collaboratrice au Scripps Institution of Oceanography a permis de montrer que le bryozoaire héberge un micro organisme qui pourrait être le réel producteur des bryostatines : ils ont démontré à travers de nombreuses expériences la présence de fragments de gènes PKS (polyketide-synthase) dans la flore microbienne symbiotique qui produit la bryostatine. Il a été rapporté à la Society Industrial Microbiology (SIM) en 2002-2003 et démontré que Haygood et ses collaborateurs ont pu transférer ce fragment PKS à des bactéries adaptées à la production de la bryostatine par fermentation (Newman et Cragg, 2004).

### **1.5.3 Mécanisme d'action.**

Au début des études, le mode d'action a été interprété comme étant identique à celui des esters de phorbol qui interagissent avec la PKC, il s'en est suivi une période de doute : en effet ces esters de phorbol sont aussi des promoteurs de la carcinogénèse (Biard, 2001).

En réalité, on s'aperçut que l'interaction de la bryostatine avec la PKC n'a pas les mêmes conséquences que celle des esters de phorbols et qu'elle génère une activité antitumorale mais également immunomodulatrice. L'interaction induit une différenciation des cellules des lignées lymphoïdes et myéloïdes, une agrégation plaquettaire ainsi que la production des cellules hématopoïétiques (Amador *et al.*, 2003).

D'autre part, B1 inhibe la production des métalloprotéinases, exerce une « down-régulation » de l'expression des gènes des MDR 1 (Multi Drug Resistance), module bcl2 et la p53 et induit l'apoptose des cellules (Amador *et al.*, 2003).

Dès lors, les bases de l'emploi de B1 sont posées : associée aux antimoraux déjà en usage, B1 pourrait en accroître l'efficacité directement par son effet antitumoral propre et indirectement par le maintien d'une activité suffisante de la moelle osseuse (Biard, 2001).

### **1.5.4 Toxicité de la molécule.**

Les études de phase I ont montré l'apparition de myalgies qui se sont révélées indépendantes du mode d'administration. Certains patients ont souffert durant trois semaines après l'arrêt de l'administration. Les myalgies sont peut être dues à la réduction de la fonction mitochondriale et de l'efflux de protons provenant de la cellule provoquant une vasoconstriction musculaire. D'autres effets observés en faible quantité sont : une photophobie, une douleur oculaire, des maux de tête, une fatigue, des phlébites, des nausées, des vomissements, des anorexies ainsi que des anémies (Schwartzmann *et al.*, 2003).

### 1.5.5 Les essais cliniques.

#### A. Mélanome métastatique.

Une étude de phase II a été réalisée chez des patients « naïfs », souffrant d'un mélanome métastatique, traités par B1. L'essai comprenait deux schémas d'administration :

A- 25  $\mu\text{g}/\text{m}^2$  pendant vingt quatre heures par semaine

B- 120  $\mu\text{g}/\text{m}^2$  pendant soixante douze heures toutes les deux semaines.

Dix sept patients ont été inclus dans chaque étude.

Les résultats ont montré que les patients de l'étude A ont mieux toléré leur traitement que ceux de l'étude B. Le résultat de l'étude a montré que la bryostatine possède une efficacité dans le traitement des mélanomes métastatiques (Tozer *et al.*, 2002).

Une seconde étude de phase II a permis de tester l'efficacité de la bryostatine 1 dans les mélanomes métastatiques quand elle est administrée en intraveineux une fois par semaine à la dose de 25  $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{j}$  pendant vingt-quatre heures, pendant trois semaines.

Douze patients ont participé à l'étude, comme il n'y avait qu'une seule réponse sur les douze patients, vingt cinq patients supplémentaires ont intégré l'étude, aucun traitement prophylactique n'a été administré.

Un total de quarante neuf patients atteints de mélanomes métastatiques n'ayant pas de métastases cérébrales a été étudié, douze patients ont reçu une injection de bryostatine pendant vingt quatre heures alors que les trente sept autres patients l'ont reçu sur soixante douze heures. Un patient recevant l'administration pendant soixante douze heures a obtenu une réponse partielle sur sept mois.

Des douleurs musculaires sont apparues chez 90% des patients.

Un grade 3-4 de nausées et vomissements était commun aux deux groupes, il n'y a pas eu de thrombocytopenie.

La neutropénie était le principal effet indésirable du groupe traité pendant soixante douze heures.

En conclusion, B1 a montré une activité limitée contre le mélanome quand la molécule est administrée pendant soixante douze heures en intraveineux (Bedikian *et al.*, 2001).

## B. Lymphome non Hodgkinien.

Dans cette étude de phase II, dix sept patients atteints d'un lymphome non Hodgkinien type NHL, traités par chimiothérapie, ont reçu une moyenne de six injections intraveineuses de 25  $\mu\text{g}/\text{m}^2$  de B1, administrée une fois par semaine pendant vingt-quatre heures.

Chez quatorze patients aucune réponse n'a été remarquée, une stabilité de la maladie a été atteinte chez un patient pour neuf mois. La principale toxicité était la myalgie et le risque de phlébite. Le traitement a été suspendu du fait de la toxicité apparue chez deux patients (phlébite), cette toxicité s'est additionnée à une progression de la maladie chez trois patients. Le résultat a montré une inefficacité de la bryostatine dans le traitement des lymphomes non Hodgkinien (Blackhall *et al.*, 2001).

## C. Cancers colorectaux.

Les chimiothérapies destinées à des patients souffrant d'un cancer colorectal avancé sont souvent inefficaces.

Le but de cette étude était de montrer l'efficacité et la toxicité de la bryostatine 1, un nouvel agent pour les patients atteints d'un cancer colorectal qui ont été traités auparavant par du 5 fluorouracile (5 FU).

Vingt huit patients atteints d'un cancer colorectal sont entrés dans l'étude, l'âge moyen était de cinquante neuf ans (38-76) et comprenait seize garçons et douze femmes.

Les dix premiers patients ont reçu 25  $\mu\text{g}/\text{m}^2$  de bryostatine 1 une fois par semaine pendant vingt quatre heures pendant trois semaines, toutes les quatre semaines.

Pour le second cycle, les doses débutaient à 35  $\mu\text{g}/\text{m}^2$  et pouvaient aller jusqu'à 40  $\mu\text{g}/\text{m}^2$  si la toxicité était minimale. Vingt cinq patients ont obtenu une réponse objective, aucune réponse partielle ou complète n'a été observée.

En conclusion, la bryostatine 1 administrée pendant vingt quatre heures en continue à une activité anti-tumorale faible dans le traitement des cancers colorectaux (Zonder *et al.*, 2001).

## D. Carcinome rénal.

### Etude 1

Les patients atteints d'un carcinome rénal métastatique ont un pronostic pauvre et pas de thérapie standard valable. Les auteurs ont effectué une étude clinique de phase II.

Dans cette étude, les trente patients atteints d'un carcinome rénal métastatique ont été étudiés, les patients avaient de bonnes conditions physiques. La bryostatine 1 à la dose de 25 µg/m<sup>2</sup> a été donnée dans le PET, (polyéthylène glycol, éthanol et tween 80) pendant trente minutes en intraveineux à J1 J8 et J15 chaque vingt huit jours.

Les résultats ont montré que deux patients ont obtenu une réponse objective, le temps moyen de survie pour ces patients était de 2,1 mois. Le temps de survie maximal était de 13,1 mois.

Le traitement était bien toléré en général. Les myalgies étaient l'effet indésirable le plus commun. Un patient est décédé pendant l'étude, aucun effet hématologique n'a été mis en évidence dans plus des cent cinquante traitements administrés.

En conclusion ; il y a une réponse minimale de l'activité de la bryostatine 1 comme agent unique à cette dose et à ce schéma d'administration pour les patients atteints d'un carcinome rénal (Pagliaro *et al.*, 2000).

### Etude 2

Il a été mené avec la bryostatine 1 une étude de phase II afin de mesurer la toxicité, le pourcentage de réponse et l'induction des cytokines chez les patients atteints d'un carcinome rénal.

Un total de trente deux patients (vingt six hommes et six femmes) ont reçu la bryostatine 1 à 35-40 µg/m<sup>2</sup> en intraveineux pendant une heure, à J1, J8 et J15 toutes les quatre semaines.

L'IL 6, le TNF alpha et la protéine kinase C ont été mesurés une heure et vingt trois heures après l'administration de la bryostatine 1 à la semaine 1 et 5.

Cent deux cycles de B1 ont été administrés, les effets indésirables les plus importants étaient les myalgies (46,8%) la fatigue (59,3 %) et la dyspnée (18,8%).

Un grade 3-4 de toxicité incluant des myalgies (40,6%), des ataxies (9,3 %), et des dyspnées (15,6%) a été observé chez un patient. Quatre patients ont eu des problèmes cardiaques pendant l'étude : arythmie cardiaque et congestion cardiaque chez deux patients et deux autres patients ont fait un arrêt cardiaque.

Sur les trente deux patients, deux ont pu observer une réponse partielle pendant six mois, un total de quinze patients a observé une stabilité de leur maladie à court terme et six patients ont obtenu une stabilité de leur maladie pour une durée de six mois et plus.

L'IL 6 a augmenté de deux niveaux chez cinq des dix sept patients mais n'est pas en cause dans la toxicité.

En conclusion, les résultats de l'étude suggèrent que cet agent peut avoir un rôle dans le traitement du carcinome rénal en combinaison avec d'autres agents (Haas *et al.*, 2003).

### Etude 3

Il a été mené une étude de phase II chez les patients atteints d'un cancer rénal afin de déterminer le pourcentage de réponse, l'activité immunomodulatrice et la toxicité de la bryostatine 1 administrée en continue pendant vingt-quatre une fois par semaine pendant trois ou quatre semaines à la dose de 25 mug/m<sup>2</sup>. Seize patients ont été recrutés (onze hommes, cinq femmes). L'âge moyen était de cinquante neuf ans. Les patients avaient subi une néphrectomie et/ou une thérapie par interféron et/ou une hormonothérapie, et/ou une radiothérapie.

Cent quatre vingt une injections ont été administrées avec une moyenne douze injections par patient. Les réponses ont été évaluées chez treize patients, trois patients ont atteint une durée de 10,5, 8 et 5,5 mois respectivement. Aucune réponse partielle ou complète n'a été remarquée. L'activité biologique de la bryostatine 1 a été mise en évidence en utilisant la mesure des cytokines chez six patients, deux d'entre eux ont obtenu un taux élevé d'IL 6 vingt-quatre heures après l'administration de la bryostatine 1 en comparaison aux autres valeurs avant le traitement. Cependant, le niveau d'IL 6 a été remarqué comme étant relativement bas à J28 comparé aux autres valeurs des six patients avant le traitement (Madhusudan *et al.*, 2003).

### **1.5.6 La bryostatine 1 en association.**

Dans le traitement des leucémies, des lymphomes, et des cancers de la prostate. L'utilisation de cet agent seul n'est probablement pas l'indication optimale, en effet quand B1 est combinée avec d'autres agents cytotoxiques comme les alcaloïdes de la pervenche ou bien les nucléosides les réponses au traitement sont bien meilleures.

Par exemple, une combinaison de fortes doses d'Ara C associée à de faibles doses de B1 chez des patients leucémiques (dans une population qui a échoué à des fortes doses d'Ara C seule) : cinq des vingt trois patients ont présenté une réponse complète.

De même, des patients atteints de LLC et de lymphomes non Hodgkinien traités par la fludarabine et B1 ont présenté une réponse favorable dans 50% des cas.

Chez des patients atteints de cancers du poumon non à petites cellules traités par paclitaxel/B1 sept des onze patients traités ont montré une réponse positive au traitement (Newman et Cragg, 2004).

En janvier 2004, dans les études réalisées avec B1, dans chaque cas il y avait une combinaison de B1 avec au moins un agent cytotoxique, ces combinaisons ont été testées contre des leucémies, des cancers de la prostate et les lymphomes (Newman et Cragg, 2004).

#### Cancer de l'œsophage.

Une étude associant le paclitaxel et la bryostatine a été réalisée chez des patients non traités auparavant et atteints d'un cancer gastrique ou gastrooesophagial. Les patients ont reçu le paclitaxel à la dose de 80 mg/m<sup>2</sup> en deux heures en intraveineux le premier jour et bryostatine 1 à 40 mug/m<sup>2</sup> en une heure en intraveineux le deuxième jour, chaque semaine pendant trois semaines consécutives avec un arrêt d'une semaine. L'objectif principal était de vérifier l'efficacité de l'association du paclitaxel avec la bryostatine. Trente sept patients étaient engagés dans l'étude et trente cinq ont présenté une réponse acceptable. Une réponse partielle a été confirmée dans 29% des cas. La durée moyenne de survie était de huit mois. Les myalgies concernaient 55% des patients. Douze patients ont arrêté la thérapie à cause des myalgies.

La conclusion a été que l'association paclitaxel - bryostatine donne une réponse supérieure que l'utilisation du paclitaxel seul chez des patients atteints d'un cancer gastrique ou gastroduodéal. D'autres développements de cette combinaison pourraient améliorer ou prévenir les myalgies qui peuvent être établies (Ajani *et al.*, 2006).

### Lymphome non Hodgkinien de bas grade.

Vingt-cinq patients atteints d'un lymphome non Hodgkinien de bas grade ou d'une leucémie lymphoïde chronique ont reçu la bryostatine 1 pendant soixante-douze heures en continu en intraveineux toutes les deux semaines à la dose de 120 µg/m<sup>2</sup>.

Les patients qui recevaient la bryostatine seule ont pu participer à une étude supplémentaire dans laquelle les patients reçoivent en plus de la vincristine, administrée en bolus en intraveineux juste après l'administration de la bryostatine 1. La dose de vincristine a été étalée dans des groupes de trois patients :

- niveau 1 : 0,5 mg/m<sup>2</sup>
- niveau 2 : 1,0 mg/m<sup>2</sup>
- niveau 3 : 1,4 mg/m<sup>2</sup>

La bryostatine 1 seule, donne une rémission complète et deux remissions partielles, neuf patients ont reçu le traitement séquentiel avec la bryostatine 1 et la vincristine. L'addition de vincristine à la dose de deux milligrammes entraîne des neuropathies sensorielles.

L'analyse phénotypique par cytométrie de flux sur les lymphocytes périphériques sanguins traités en pré et post administration de B1 a révélé une up régulation dans la co expression de CD11c/ CD 22/ CD20+ des lymphocytes B chez deux des quatre patients atteints de leucémie lymphoïde chronique (Vartrasian *et al.*, 2000).

### Cancer du poumon non à petites cellules.

La bryostatine 1 a montré une activité antitumorale favorable en synergie d'action avec le paclitaxel.

Les patients concernés étaient atteints d'un stade IIIb d'un cancer du poumon non à petites cellules. Ils avaient reçu de la dexaméthasone en prémédication suivi de paclitaxel à la dose de 90 mg/m<sup>2</sup> à J1 J8 et J15 suivi de bryostatine à J2 J9 et J16 tous les vingt huit jours jusqu'à l'observation d'une évolution de la maladie.

Quinze patients ont été inclus dans l'étude.

Le résultat sur trente cycles de bryostatine et paclitaxel a montré que les myalgies étaient l'effet non hématologique prédominant et trois patients ont développé un grade 4 et un patient a développé un grade 3 de myalgies. Quatre patients ont été enlevés de l'étude durant le cycle, dont un patient pour cause de myalgies. Onze patients ont observé une réponse favorable.

Cinq patients ont observé une stabilité de leur maladie, deux ont obtenu eu une réponse mixte et quatre une progression de la maladie.

Dix patients ont reçu une deuxième ligne de chimiothérapie après avoir quitté l'étude. La moyenne de survie était de trente et une semaines.

En conclusion, la combinaison de ces deux molécules a permis de montrer une réponse clinique favorable (Winegarden *et al.*, 2003).

### **1.5.7 Etat actuel et perspectives.**

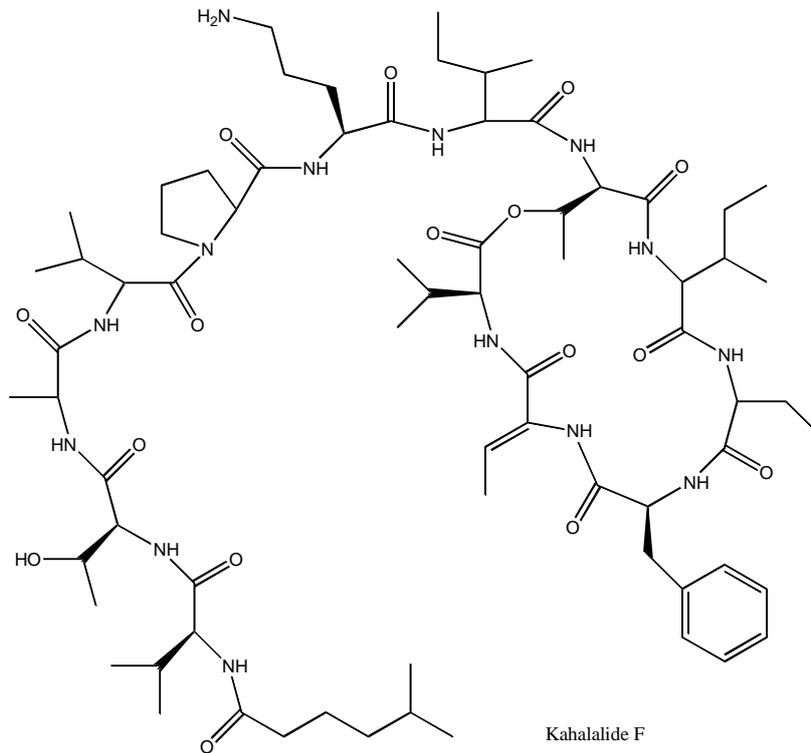
En ce qui concerne les myalgies, elles apparaissent dans pratiquement tous les essais cliniques de phase II et limitent l'efficacité de B1 employée seule sur diverses tumeurs : des mélanomes métastatiques, des tumeurs colorectales, des lymphomes non Hodgkinien, des tumeurs solides et des myélomes multiples.

La poursuite en parallèle des essais de phase I montre que B1 stimule la production de la plupart des lignées sanguines en augmentant la prolifération des cellules souches hématopoïétiques mais ces essais révèlent aussi que B1 sensibilise les cellules tumorales à l'action des agents cytotoxiques, pousse les cellules leucémiques vers la différenciation terminale et active les lymphocytes cytotoxiques. Ces nouvelles données incitent à des essais thérapeutiques de phase III qui s'orientent vers l'immunothérapie des tumeurs, l'induction de la différenciation et à nouveau l'usage de B1 en association avec des agents cytotoxiques conventionnels (Zonder et Philip, 1999).

Associée au taxol, B1 a reçu en 2001 l'approbation de la FDA et de l'EMA comme médicament orphelin pour le traitement du cancer de l'œsophage (Voir le site internet de la FDA).

Les années passent et la durée de validité du brevet s'amenuise : trouver un investisseur devient de plus en plus difficile. Un projet alternatif consisterait à concevoir des molécules dérivées de B1 (« bryologs »), moins complexes donc plus aisés à synthétiser tout en conservant le pharmacophore responsable de l'activité. Si l'activité était également démontrée *in vivo* ce serait là un nouvel espoir pour la série des bryostatines (Schwartsmann *et al.*, 2003).

## I.6 Le kahalalide F : KF.



**Organisme source :** *Elysia rufescens*, embranchement des mollusques.

**Classe :** gastéropodes

**Sous classe :** *orthogastropoda*

**Principaux ordres :** *sacoglossa*

**Genre :** *Elysia*

### 1.6.1 La découverte de KF.

Les sacoglosses sont un groupe de mollusques opisthobranches qui sont la source de nombreux métabolites secondaires.

De nombreux depsipeptides ont été isolés du mollusque sacoglosse *Elysia rufescens*. Plus tard, il a également été découvert qu'une algue, un *Bryosis* sur lequel le mollusque se nourrissait est aussi source de KF mais la concentration de ce peptide dans le mollusque est bien plus élevée (Goetz *et al.*, 1997).

De nombreux essais de fractionnement ont mené à l'isolation du Kahalalide F comme le seul composé responsable des propriétés du sacoglosse (Becerro *et al.*, 2001).

D'autres peptides tels que les kahalalides A à E, O et le peptide linéaire H et J ont été retrouvés dans la nourriture de l'animal (Goetz *et al.*, 1997).

C'est ainsi que pour deux cent seize kilogrammes d'*Elysia*, deux virgule un grammes de Kahalalide F sont présents alors que l'on collecte cinq milligrammes pour trois kilogrammes d'algue sur le même site (Newman et Cragg, 2004).

### **1.6.2 Structure et formule.**

KF possède un acide 2-dihydroaminobutyrique et contient également treize résidus amino acide ainsi que cinq acide méthyl hexanoïque à la partie N terminale. Ce composé a été synthétisé à l'université de Barcelone et est entré en phase I des essais cliniques en Europe en Décembre 2000 pour le traitement du cancer de la prostate non androgéno-dépendant (Newman et Cragg, 2004).

La stéréochimie a été définie par une série de réactions de dégradation (hydrolyse, ozonolyse, dégradation d'Edman) utilisant un petit fragment du produit naturel.

Le résultat de ces réactions est en concordance avec la structure proposée lors de sa découverte (Bonnard *et al.*, 2003).

### **1.6.3 Stabilité chimique et mode de production.**

La dégradation chimique de KF a été réalisée en présence d'acide, en milieu neutre et dans des conditions alcalines utilisant une chromatographie liquide haute performance avec une détection par UV. La demie vie à 80° était de 1,1, 20 et 8,6 heures à pH 0, 1 et 7.

A 26° et à pH 11 la demie vie était de 1,65h. A pH 7 et 11 seulement une réaction a été observée.

La conversion métabolique de KF a été testée *in vitro* utilisant trois enzymes différentes. L'incubation a été analysée utilisant la même technique chromatographique. Aucune biotransformation n'a été observée dans ces conditions et, de ce fait, il a été conclu que KF est stable d'un point de vue métabolique (Sparidan *et al.*, 2001).

L'obtention de KF se fait par synthèse chimique (Rawat et Divan, 2006).

#### **1.6.4 Firme propriétaire.**

Ce composé a été découvert et commercialisé par Pharmamar. C'est le troisième antitumoral développé par la firme Pharmamar avec la DDB (voir ci-dessus) et l'ET 743 (voir ci après).

Ce composé a été licencié par Pharmamar en collaboration avec l'université d'Hawai dans les années 1990 et les études pré-cliniques ont été conduites.

Au vu du succès des études pré-cliniques en décembre 2000, le composé est entré en phase I en Europe pour le traitement du cancer de la prostate non androgéno-dépendant.

#### **1.6.5 Activité et mécanisme d'action.**

KF a montré, *in vivo*, une activité cytotoxique contre de nombreuses lignées cellulaires telles que les cancers de la prostate, du poumon, du colon, ainsi que des neuroblastomes, chondrosarcomes et ostéosarcomes. Il est important de savoir que des cellules non tumorales humaines telles que MCF 10 A, HUVEC, HMEC-1 et IMR 90 ont montré qu'elles étaient cinq à dix fois moins sensibles à la molécule. Il a été confirmé par cytométrie de flux que KF ne provoque ni l'arrêt du cycle cellulaire ni l'apoptose.

Les analyses ont montré que KF altère profondément les cellules incluant des vacuolisations, des dilatations, et des vésiculations du réticulum endoplasmique, cette molécule provoque également des dommages de la mitochondrie et des ruptures de la membrane plasmique (Rawat et Divan, 2006).

KF a une activité spécifique sur les lysosomes et perturbe leur fonctionnement et récemment il a été démontré que le kahalalide F induit la mort cellulaire via l'oncose ce qui correspond à la nécrose de la cellule initiée par la dépolarisation de la membrane lysosomiale dans, à la fois, le cancer de la prostate et le cancer respiratoire (Newman et Cragg, 2004).

L'étude sur les lysosomes a permis de montrer que KF possède une sélectivité d'action pour les cellules tumorales ayant une forte activité lysosomiale, ce qui se passe dans les cancers de la prostate (Newman et Cragg, 2004).

Il semblerait que ce composé n'affecterait pas les cellules hématopoïétiques chez le modèle Murin jusqu'à des concentrations allant à 10 mM (Newman et Cragg, 2004).

La cytotoxicité induite par KF apparaît comme étant indépendante de l'expression du niveau des MDR 1 (Multi Drug Resistance) et de la tyrosine kinase HER2 /neu mais affecte seulement la protéine Bcl-2 (Suarez *et al.*, 2003).

L'étude menée a aussi détecté des pertes de la membrane mitochondriale et de l'intégrité des lysosomes après, l'exposition, *in vitro*, au KF (Amador *et al.*, 2003).

Le mécanisme d'action de KF a voulu être mis en évidence lors d'une expérience montrant ainsi la cytotoxicité de KF dans des cellules hépatiques Hep G2. Suivant l'exposition de KF, les cellules Hep G2 ont montré une déplétion en ATP, associé à un gonflement de la cellule, augmentant la perméabilité à l'annexine V (AV) et provoquant ainsi une libération de LDH (lactate déshydrogénase) (Sewell *et al.*, 2005).

KF provoque une cytotoxicité dans les cancers respiratoires, caractérisé par un gonflement cytoplasmique. De nombreux marqueurs de la caspase dépendante de l'apoptose tels que la phosphatidyl sérine, le cytochrome, la caspase 3 et la polymérase responsable du clivage se sont avérés négatifs après exposition au KF. La sensibilité à KF d'un panel de cellules tumorales humaines dérivées de cancers respiratoires, de cancers du poumon non à petites cellules, de cancers hépatiques est en corrélation avec le niveau de protéine ErbB3.

Une cellule résistante au KF montre une réduction du niveau de tous les récepteurs ErbB3 mais une exposition à court terme de KF à des cellules sensibles telles que SKBR3 induit une down régulation de ErbB3. Finalement, il a été trouvé que KF inhibe la phosphatidyl inositol 3 kinase (PI3K)-Akt et l'expression de Akt réduit la cytotoxicité de KF. En résumé, ErbB3 et PI3K-Akt sont des déterminants de l'activité cytotoxique de KF *in vitro* (Janmaat *et al.*, 2005).

### **1.6.6 La toxicité et les effets indésirables.**

Le but est de déterminer la DMT, les éventuels effets indésirables et la dose limite de toxicité de KF chez des patients atteints d'un cancer de la prostate réfractaire au traitement par des androgènes.

De ce fait, la pharmacocinétique après l'administration de KF et l'activité antitumorale ont été évaluées.

Des patients adultes atteints d'un cancer de la prostate ont reçu KF en intraveineux pendant une heure durant cinq jours consécutifs toutes les trois semaines.

La dose de départ était de 20  $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{j}$ . L'antigène prostatique est évalué comme étant un marqueur de l'activité.

Résultat : trente deux patients ont été traités à neuf niveaux de dose (20-930  $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{j}$ ). La DMT pour ce schéma était de 930  $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{j}$ . La DLT était réversible et asymptomatique. La dose recommandée pour les études de phase II a été de 560  $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{j}$ . L'élimination est rapide avec une demie vie de 0,47 H. Une patiente à la dose de 80  $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{j}$  a obtenu une réponse partielle avec une diminution de 50% de l'antigène prostatique pour une durée supérieure ou égale à quatre semaines. Cinq patients ont montré une stabilité de la maladie (Rademaker *et al.*, 2005).

Les études cliniques de phase I avec KF ont démontré que les toxicités limitant les dosages étaient aiguës, réversibles et provoquaient des augmentations asymptomatiques de catégorie 3-4 des transaminases du foie. Dans ces études, KF a démontré un profil sécuritaire très favorable sans myélotoxicité de catégorie 3-4 mentionné jusqu'à présent. De plus, on n'a pas documenté jusqu'à présent de vomissements, d'alopécies, d'inflammation de la muqueuse ou d'une toxicité rénale ou hématologique (Voir le site internet Newswire).

Une étude a eu pour but d'évaluer la toxicité de KF sur le système hématopoïétique. Lors de l'étude, les granulocytes, lymphocytes T et B ont été étudiés en même temps que les mégacaryocytes et les lignées myéloïdes. Les résultats ont montré que KF ne montre pas d'effets toxiques à long terme ou bien à court terme jusqu'à 10 $\mu\text{M}$  (Gomez *et al.*, 2003).

### **1.6.7 Les essais cliniques.**

#### **A. Pré clinique.**

Dans le développement pré clinique, le composé est administré en intraveineux à des mâles et femelles rates à des doses multiples (une fois par jour pendant cinq jours) et les toxicités doses dépendantes ont été déterminées. Des signes physiologiques tels que des modifications du poids et de la taille de l'animal ont été observés.

Les tissus ont donc été examinés au microscope. Il a été observé que KF induit le décès des animaux à 375 et 450 mg/kg chez les mâles et femelles et la dose maximale tolérée a été déterminée à 300 mg/kg (1800 mg/m<sup>2</sup>). Le système nerveux semble être la cible provoquant la mort. Les poumons semblent être l'objet d'une toxicité à la dose de 150 à 300 mg/kg. De fortes doses de KF (300 mg/kg) provoquent la nécrose et l'inflammation de la moelle épinière ainsi que des hyperplasies de la moelle épinière à J4.

Quand KF est administré une fois par jour pendant cinq jours à la dose de 80 mg/kg/j (400 mg/kg de la dose totale) on observe aucune incidence sur le poids de l'animal, c'est pourquoi, ce composé est considéré comme étant sans danger à la dose de 80 mg/kg/j. Ce résultat montre qu'administré pendant cinq jours tous les jours, on observe moins de toxicité (Rawat et Divan, 2004).

### B. Phase I.

Tumeurs solides.

Un récent rapport a relaté les études de phase I sur des tumeurs solides autres que la prostate (Newman et Cragg, 2004).

Une étude de phase I a été réalisée évaluant la sécurité, la pharmacocinétique et l'efficacité de l'administration de KF, lorsque celui-ci est administré une fois par semaine pendant une heure chez des adultes souffrant de tumeurs solides et pour lesquels aucun traitement n'était valable.

Les patients ont reçu KF pendant une heure en intraveineux une fois par semaine jusqu'à l'observation d'une progression.

La dose de départ de KF était de 266 mug/m<sup>2</sup>.

Trente-huit patients ont été inclus et ont reçu KF pendant une heure à la dose comprise entre 266 et 1200 mug/m<sup>2</sup>.

Les DLT consistaient en un grade  $\frac{3}{4}$  d'élévation des transaminases dans le sang. La dose maximale tolérée était de 800 mug/m<sup>2</sup> et la dose recommandée pour les études de phase II était de 650 mug/m<sup>2</sup>. Aucune toxicité n'a été trouvée, un patient atteint d'un mélanome malin a obtenu une réponse partielle. Un autre patient atteint un adénocarcinome au poumon a obtenu une réponse mineure, et six patients atteints de tumeurs solides métastasées ont obtenu une stabilité de leur maladie allant de 2,8 mois à 12,7 mois. La pharmacocinétique était linéaire. L'élévation des transaminases était dose dépendante.

La DMT est de 800  $\mu\text{g}/\text{m}^2$ , la DLT provoque une augmentation des transaminases dans le sang et 650  $\mu\text{g}/\text{m}^2$  est la dose recommandée pour les études de phase II. Ce schéma donne une sécurité ainsi qu'une activité antitumorale efficace (Pardo *et al.*, 2008).

### C. Phase II.

Cancers de la prostate.

KF a débuté les essais cliniques de phase II pour le traitement du cancer de la prostate, les résultats montrent une diminution de l'antigène prostatique (PSA) chez un certain nombre de patients (Newman et Cragg, 2004).

Cancer poumon non à petites cellules.

Pharmamar a annoncé que le KF avait débuté les essais de phase II dans le traitement du cancer du poumon non à petites cellules (NSCLC). L'essai s'effectuera chez des patients qui ont subi une rechute ou qui ont vu leur maladie progresser après la chimiothérapie de premier niveau. KF sera administré de façon hebdomadaire à un dosage de 0,65  $\text{mg}/\text{m}^2$  au cours d'une perfusion d'une heure. Vingt cinq patients seront d'abord mis à l'étude et il sera possible d'augmenter ce nombre à trente quatre patients. Douze hôpitaux européens participeront à cet essai clinique. L'objectif principal de l'étude est de déterminer la fréquence de réponse. Les objectifs secondaires sont l'évaluation de la pharmacocinétique et une enquête plus poussée sur le profil de sécurité du produit (Voir le site internet Newswire).

Mélanome.

L'essai pour le mélanome est une étude de phase II avec perfusion hebdomadaire de KF d'une heure chez des patients atteints de mélanomes malins avancés. Le KF sera administré à un dosage de 0,65  $\text{mg}/\text{m}^2$ . Dix-huit patients seront d'abord mis à l'étude et il sera possible d'augmenter ce nombre à trente-deux patients. L'étude sera effectuée dans douze centres européens. L'objectif principal de l'étude est de déterminer la fréquence de réponse. Les objectifs secondaires sont d'évaluer la pharmacocinétique et le profil de sécurité du produit (Voir le site internet Newswire).

Carcinome hépatocellulaire.

En 2003, Pharmamar a annoncé que KF est passé aux essais cliniques de phase II pour le carcinome hépatocellulaire, dont le taux d'incidence augmente du fait de la propagation des infections dues aux à l'hépatite C (Voir le site internet Newswire).

#### **1.6.8 Etat actuel et perspectives.**

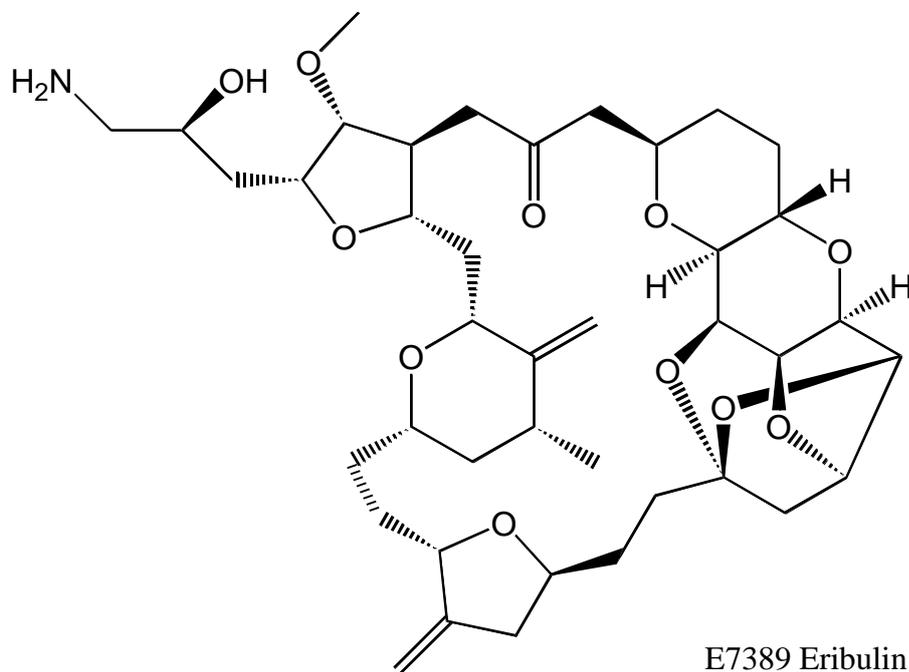
Dans toutes les études, la DLT a montré une augmentation des transaminases et des réactions d'hypersensibilités, à l'inverse des autres molécules, KF n'induit pas de toxicité sur la moelle osseuse, de mycose, de neurotoxicité ou d'alopécie (Amador *et al.*, 2003).

Des réponses objectives et un effet clinique bénéfique ont été rapportés dans les cancers colorectaux avancés, les mélanomes, les carcinomes hépatocellulaires. Une grande proportion de ces patients a reçu de multiples doses de KF ce qui a permis d'indiquer qu'il y avait peu de toxicité cumulée (Amador *et al.*, 2003).

L'intérêt semble résider dans sa cytotoxicité très spécifique à des lignées cellulaires issues de cancers colorectaux et de cancers de la prostate non hormonaux dépendant *in vitro* et *in vivo* chez l'animal (Biard, 2001).

Par ailleurs, ce composé semble avoir une activité contre certains organismes pathogènes responsables d'infections opportunistes dans le VIH (Rawat et Divan, 2006).

## I.7 E 7389 (eribulin, dérivé d'halichondrine B).



**Organisme source :** *Halichondria okadai* (démospone)

**Classe :** *Demospongiae*

**Sous classe :** Ceractinomorphes

**Ordre :** *Halichondrida*

**Genre :** *Halichondria*

### 1.7.1 Origine et découverte.

L'halichondrine est un macrolide qui, en 1986, avait montré une forte activité *in vitro* et *in vivo* contre les mélanomes et les leucémies mais était fortement toxique (Schwartzsamn *et al.*, 2003).

E 7389 a été découverte par Eisai Research Institute, lors d'une étude pour trouver par synthèse des dérivés d'halichondrin B, en particulier de plus petites molécules qui maintenaient une activité biologique,

Deux de ces agents trouvés ont été évalués et un des composés, nommé à l'origine ER 086526 (NSC 707389), et maintenant rebaptisé E 7389, a débuté les essais de phase I en 2002 en association avec le NCI (Newman et Cragg, 2004).

Ce composé a récemment progressé en phase II dans le traitement du cancer respiratoire (Simmons et Andrianosolo, 2005).

### **1.7.2 Mode de production actuel.**

L'obtention se fait par synthèse chimique.

Les chercheurs d'Eisei Research Institute ont mis au point une technologie permettant la synthèse de la molécule. E 7389 a fait l'objet d'un développement pré clinique en 1998 (Voir le site internet de Eisei).

Cette molécule est actuellement produite par Eisei (Voir le site internet de Eisei).

### **1.7.3 Activité et mécanisme d'action.**

Son mécanisme d'action n'a pas été clairement défini, sa principale cible semble être la tubuline et/ou les microtubules responsables de la construction et du fonctionnement du cycle mitotique. Comme de nombreux agents ciblant les microtubules, E 7389 inhibe la prolifération cellulaire en bloquant en phase G2 M la cellule cancéreuse. Il se lie à la tubuline et inhibe la polymérisation des microtubules

E 7389 semble être un poison agissant à la fin de cycle en inhibant la croissance des microtubules.

E 7389 semblerait supprimer la mitose, le résultat est la formation d'un cycle mitotique anormal qui ne peut passer en métaphase/anaphase (Ann Jordan *et al.*, 2005).

Le traitement de lymphomes humains par E 7389 a montré une accumulation dépendante du temps des cellules en phase G2 M du cycle cellulaire débutant dans les deux heures et allant jusqu'à douze heures. Le nombre d'évènements importants a été remarqué à douze heures suggérant l'initiation de l'apoptose après prolongation de E 7389 en blocage de la mitose. Dans les cancers de la prostate, le traitement par E 7389 a également montré qu'il peut activer l'apoptose des cellules (Blum *et al.*, 2006).

#### **1.7.4 Les essais cliniques.**

La phase I des essais cliniques avec E 7389 a été initiée en utilisant des doses progressives afin d'évaluer le dose maximale de tolérance et la pharmacocinétique. La dose limite de toxicité a été atteinte chez un patient à la dose unique de 0,5 mg/m<sup>2</sup> (Simmons et Andrianosolo, 2005).

#### **Cancer des voies respiratoires**

Une étude de phase II a permis d'évaluer l'efficacité de E 7389 en monothérapie chez des patients atteints d'un cancer des voies respiratoires. Le premier point avait pour but de déterminer le pourcentage de réponse mesurée en utilisant le RECIST (Response Evaluation Criteria In Solid Tumors).

Sur les soixante-cinq patients évalués, dix ont obtenu une réponse partielle, vingt et un patients ont obtenu une stabilisation de leur maladie. En se basant sur les résultats de cette étude, l'effet indésirable prédominant était la neutropénie, d'autres effets secondaires considérés comme modérés étaient les nausées, une fatigue, déshydratation, des arthralgies, une dyspnée et des neuropathies. Aucun patient n'a du interrompre l'étude du fait des effets hématologiques (Voir le site internet de Eisei).

#### **1.7.5 Les effets indésirables.**

Une étude a été réalisée et a pour but de vérifier la tolérance et l'efficacité de E 7389 chez des patients atteints de cancers respiratoires. Les patients étaient des femmes ayant été choisies selon des critères spécifiques (neuropathies inférieures à un grade 2). Les patientes ont d'abord reçu une chimiothérapie par anthracycline et taxane. E 7389 a été administré pendant 2,5 minutes en bolus en intraveineux à J1 J8 et J15 sur un cycle de vingt-huit jours. Les résultats ont montré que sur cent quatre patientes, cent trois ont reçu le traitement par E 7389 ; soixante-dix sujets dans le groupe 1, trente-trois sujets dans le groupe 2, l'âge moyen était de cinquante-cinq ans. Les patientes ont reçu en moyenne quatre cures de chimiothérapie. L'incidence de l'interruption du traitement du cycle 1 était de 63% (groupe 1) et 18% (groupe 2). L'effet indésirable le plus important était la neutropénie (75%), la fatigue (53%), l'alopécie (41%), les nausées (37%) et l'anémie (36%).

Des neuropathies périphériques sont apparues dans 34% des cas. La durée de vie moyenne était de quatre-vingt-cinq jours. (Blum *et al.*, 2007).

Lors d'une seconde étude, les patients choisis étaient atteints d'un cancer du poumon progressant après chimiothérapie par du platine. E 7389 est administré à la dose de 1,4 mg/m<sup>2</sup> en bolus intraveineux à J1 J8 et J15 pendant vingt-huit jours à soixante-douze patients divisés en deux groupes :

Groupe 1 : patients prétraités par du taxane

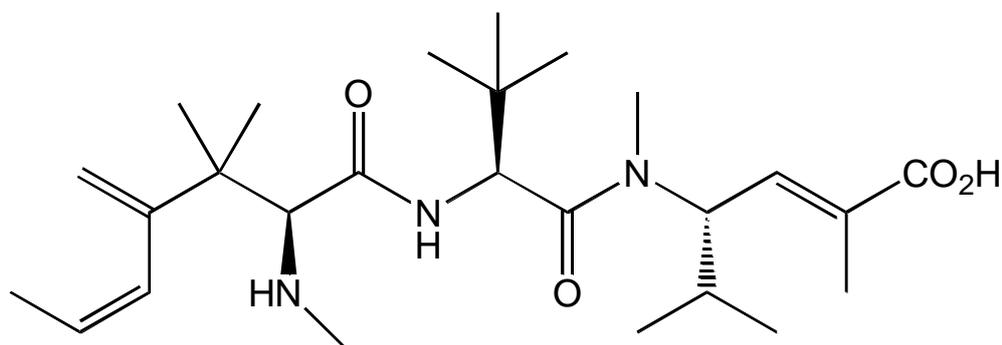
Groupe 2 : patients non prétraités par taxane

La majorité des effets indésirables incluait une myelosuppression, des nausées, une fatigue, des vomissements, une déshydratation, des arthralgies, une dyspnée et des neuropathies périphériques. Six réponses partielles ont été observées. Pour le groupe 1 le pourcentage de survie était de 57,2% et de 39,5% pour le groupe 2 (Das *et al.*, 2006).

#### **1.7.6 Etat actuel et perspectives.**

Suite aux essais cliniques de phase II, Eisai souhaite faire approuver le produit par la FDA (Food and Drug Administration) dans le courant des années 2009-2010. De plus, Eisai continue d'évaluer E 7389 comme traitement potentiel des tumeurs solides incluant les cancers du poumon non à petites cellules, les cancers de la prostate et les sarcomes (Voir le site internet de FierceBiotech).

## I.8 HTI 286 (dérivé d'hémiasterline).



HTI 286

**Organisme Source :** *Cymbastela*, (démospone) *Cantharella*, *Hemiasterella minor*, *Siphonochalina*, *Auletta*

**Classe :** *Demospongiae*

**Sous classe :** Ceractinomorphes

**Ordre :** *Halichondrida*

**Genre :** *Cymbastela*, *Auletta*...

*Cymbastela* a aussi été source de nombreux peptides cytotoxiques tels que les géodiamolides A à F, l'hémiasterline et ses dérivés A et B ainsi que les criamides (Rawat et Divan, 2006).

### 1.8.1 Origine.

L'hémiasterline a été découverte par un groupe de scientifiques à partir de l'éponge *Hemiasterella minor*. Ce groupe de scientifiques de l'université de British a également relaté la découverte d'une autre éponge (*Pseudoaxinyssa*) actuellement rebaptisée *Cymbastela*. Cette éponge avait la particularité de produire un certain nombre de peptides, incluant les géodiamolides A-F et l'hémiasterline (Rawat et Divan, 2006).

Découverte par l'université de British Columbia au Canada, elle est développée par : Wyeth (Espagne).

### **1.8.2 Relation structure activité et résistance.**

#### **A. Relation structure activité.**

Les études *in vivo* et *in vitro* sur les animaux ont été récemment publiées. De nombreuses investigations ont révélé que l'hémiasterline en combinaison avec la cryptophycine 1 et D10 inhibe la tubuline.

HTI 286 se lie à la tubuline et il en résulte une dépolymérisation des microtubules. L'hémiasterline et HTI 286 se lient à la tubuline avec le même potentiel. Cependant, la stabilité de l'oligomère formé avec la tubuline et HTI 286 est instable, alors que l'oligomère formé avec l'hémiasterline est stable (Rawat et Divan, 2006).

#### **B. Résistance.**

HTI 286 exerce une très bonne activité *in vivo* sur des modèles humains xenogreffés incluant des tumeurs exprimant la glycoprotéine P. Une résistance croisée a été observée avec d'autres agents de liaison au site peptidique des vinca alcaloïdes incluant l'hémiasterline A, les dolastatines 10, la vinblastine ainsi que l'adriamycine et le mitoxantrone mais peu de résistance ont été observées avec les taxanes, l'épothilone et la colchicine (Loganzo *et al.*, 2004).

### **1.8.3 Mécanisme d'action.**

HTI 286 inhibe la prolifération des cellules tumorales durant la phase de mitose. Son activité antiméiotique résulte de la dépolymérisation des microtubules. Il agirait donc de manière similaire à la vinblastine (Rawat et Divan, 2006).

Le profil biologique de HTI 286 a été étudié, en provoquant la dépolymérisation des microtubules, HTI 286 provoque l'arrêt de la mitose et donc s'en suit l'apoptose. HTI 286 est un inhibiteur de la prolifération et a peu d'interaction avec d'autres molécules responsables de résistance telles que le paclitaxel, le docetaxel, la vinorelbine ou la vinblastine.

Chez la Souris dans laquelle on a implanté une tumeur humaine xenogreffée, HTI 286 administrée en intraveineux inhibe la croissance du nombre de tumeurs humaines dérivées de cancers de la peau, respiratoire, de la prostate, du cerveau ou du colon. Une régression de la tumeur a été observée lorsque la tumeur à un poids supérieur à un gramme. Cependant, HTI 286 inhibe la croissance des tumeurs xenogreffées là où le paclitaxel et la vincristine sont inefficaces du fait de la résistance associée à la glycoprotéine P. L'efficacité de HTI 286 a également été observée lorsque HTI 286 est administrée oralement (Loganzo *et al.*, 2003).

#### **1.8.4 Etudes cliniques.**

##### Vésicule biliaire.

Dans cette étude le but est d'évaluer l'effet inhibiteur de HTI 286 sur les cellules cancéreuses de la vésicule biliaire à la fois *in vitro* mais également comme agent en intra vésicale chez le modèle Murin.

De nombreux cancers de la vésicule biliaire ont été traités par HTI 286 et mitomycine C *in vitro*. Des tumeurs de la vésicule ont été inoculées à des souris femelles par instillation intra vésicale et quantifiées par bioluminescence. Les souris atteintes ont été traitées par HTI 286 ou par la mitomycine C en intra vésicale deux fois par semaine pendant deux heures. Les analyses pharmacocinétiques ont été obtenues par chromatographie liquide haute performance.

*In vitro*, HTI 286 provoque une inhibition de la prolifération des cellules testées et induit l'apoptose des cellules même après une brève exposition. *In vivo*, HTI 286 provoque une baisse de la croissance des tumeurs de façon dose dépendante. HTI 286 à la concentration de 0,2 mg/ml possède une toxicité comparable à la mitomycine lorsque celle-ci est administrée à la dose de 2,0 mg/ml.

En conclusion, HTI 286 en instillation intra vésicale montre une activité antitumorale efficace et une toxicité minimale (Hadaschik *et al.*, 2008).

### **1.8.5 Sécurité, stabilité et pharmacocinétique.**

#### **Tumeurs hépatiques.**

HTI 286 a montré une activité potentielle *in vitro* sur de nombreuses tumeurs incluant les tumeurs sensibles et celles résistantes au taxane. Les patients, au nombre de vingt six, atteints de tumeurs solides (sept cancers du colon, quatre cancers du rein, quatre sarcomes, deux cancers du poumon, et neuf autres cancers) ont débuté une étude de phase I, afin de déterminer la sécurité, la stabilité et la pharmacocinétique de HTI 286.

HTI 286 a été administrée en intraveineux pendant trente minutes tous les vingt et un jours à des doses allant de 0,06 à 2,0 mg/m<sup>2</sup>. L'âge moyen des patients était de soixante ans avec dix-huit hommes et huit femmes. Les toxicités communes incluaient des neutropénies, des nausées, des vomissements ainsi que des douleurs. Deux patients ont eu un grade 4 de neutropénie.

Les études de pharmacocinétique ont montré une variabilité dans la clairance (15,7 plus ou moins 9,3 l/h) et dans la demie vie (9,2 plus ou moins 3,8h) lesquels sont indépendants de la dose et de la surface corporelle.

La phase II est actuellement en étude à la dose de 1,5 mg/m<sup>2</sup>. Des études supplémentaires sont nécessaires afin de vérifier la variabilité interindividuelle dans la clairance (Ratain *et al.*, 2003).

### **1.8.6 Etat actuel et perspectives.**

En Mars 2002, la phase I des essais cliniques, sponsorisée par Wyeth utilisant HTI 286 comme agent unique a débuté aux Etats-Unis.

La phase I des essais cliniques de HTI 286 en combinaison avec le carboplatine a également débuté aux Etats-Unis pour des patients atteints de tumeurs solides.

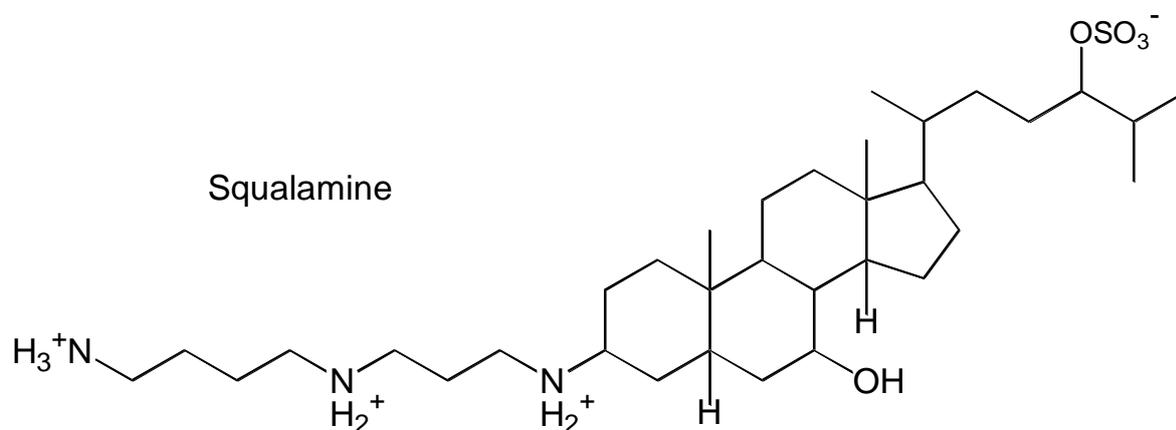
Une autre phase I d'essais cliniques est en cours au Japon (Rawat et Divan, 2006).

En octobre 2003, HTI 286 débute les essais cliniques de phase II comme seul agent dans le traitement des patients atteints de cancers du poumon non à petites cellules réfractaires aux traitements conventionnels (Rawat et Divan, 2006).

Une étude publiée en 2006 montre les effets bénéfiques de l'utilisation de HTI 286 dans le traitement des tumeurs malignes du foie.

HTI 286 inhibe la prolifération des tumeurs hépatiques, aucun effet négatif n'a été remarqué sur les cellules viables du foie après l'exposition au HTI 286. HTI 286 pourrait donc être utilisée dans le traitement des tumeurs malignes du foie (Vashist *et al.*, 2006).

### 1.9 La squalamine.



**Organisme source :** *Squalus acanthias* (aiguillat), *Sphyrna lewini* (requin marteau halicorne)

#### 1.9.1 Origine et date de découverte.

*Squalus acanthias*, espèce pêchée sur les côtes de Nouvelle Angleterre, a été étudié dès 1993 par un groupe de scientifiques en collaboration avec l'université de Pennsylvanie. Son étude a permis de découvrir un « simple » aminostérol ayant un spectre d'activité antibiotique (Newman et Cragg, 2004).

Mais c'est en 1998 que Sills fait état de l'activité anti angiogénique du produit et de son effet inhibiteur *in vivo* sur la croissance de tumeurs solides xénotreffées (Biard, 2001).

Le composé est licencié par Genaera corporation, anciennement Magainin Pharmaceutical, et la squalamine rentre en phase clinique I en 1999 (Biard, 2001).

Cette molécule a progressé en phase II des essais cliniques pour des tumeurs qui ne répondaient pas aux traitements habituels par des agents standard (Newman et Cragg, 2004).

### **1.9.2 Structure, formule et mode d'obtention.**

C'est un aminostérol hydrosoluble, isolé de l'estomac du requin. Sa synthèse chimique résulte de la condensation d'une partie stéroïde avec la spermidine (Newman et Cragg, 2004).

### **1.9.3 Mécanisme d'action, activité et efficacité.**

#### **A. Mécanisme d'action.**

La molécule agit directement et spécifiquement sur les cellules endothéliales, mais par un mécanisme différent de celui des autres stéroïdes anti-angiogénique. La squalamine interagit avec certains récepteurs membranaires des cellules endothéliales, ce qui entraîne une inhibition d'un transporteur membranaire sodium/potassium ( $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger isoform 3) (NHE 3). Cette inhibition qui provoque à son tour des modifications morphologiques et fonctionnelles des cellules avec arrêt de croissance voire régression de la néovascularisation (Schwartzmann *et al.*, 2003) (Biard, 2001).

D'autres études ont montré que la squalamine est recapturée par les cellules endothéliales et reste au niveau intracellulaire pendant cinq jours.

La recapture intracellulaire est accompagnée par une liaison de la squalamine à la calmoduline provoquant une redistribution de la calmoduline dans les cellules endothéliales ce qui provoque une down régulation et peut contribuer à l'effet anti angiogénique de la squalamine (Sillis *et al.*, 1998).

En tout état de cause, la squalamine augmente l'effet du BCNU (1,3 bis (2-chloroethyl)-1-nitroso-uree) sur le gliome du rat et du cis platine sur certaines tumeurs humaines du poumon xenogreffées chez la souris (Biard, 2001).

#### **B. Activité et efficacité.**

Des rapports récents d'études de phase I ont démontré la sécurité à la dose de 192 mg/m<sup>2</sup>/jour. Cependant, à cette dose, aucune réponse objective n'a été trouvée chez les patients atteints de carcinomes solides réfractaires.

A l'inverse, dans une étude de phase I/II chez des patients atteints de cancer du poumon non à petites cellules il a été démontré une réponse positive chez douze patients (28%).

La réponse était probablement due à la combinaison (squalamine plus carboplatin ou paclitaxel), en effet, la squalamine comme agent unique n'a pas d'effet sur la croissance des tumeurs *in vitro* (Newman et Cragg, 2004).

Afin de comprendre le potentiel clinique de la squalamine, cet agent a été évalué chez des souris nu/nu utilisant le modèle MV-522 (modèle de cancer du poumon non à petites cellules résistant) et le SD neuroblastome. La squalamine a été étudiée seule et en combinaison avec le cisplatine ou le paclitaxel plus le carboplatine. La squalamine seule, produit une modeste inhibition de la croissance tumorale MV-522 et une faible inhibition de la croissance tumorale avec le cisplatine mais la réponse est meilleure qu'avec le cisplatine seul. La squalamine améliore l'activité de paclitaxel/carboplatine, administrés en combinaison dans le modèle MV-522.

Une diminution du volume des tumeurs xenogreffées a été remarquée pour le MV-522 en combinaison avec la squalamine, alors qu'aucun effet semblable n'a été remarqué quand la squalamine n'était pas incluse dans le traitement (Voir le résumé de l'expérience sur le site internet [clincancerres](http://clincancerres.com)).

#### **1.9.4 Les essais cliniques.**

##### **A. Cancer des ovaires.**

Une étude de phase II est en cours afin d'étudier la combinaison squalamine et carboplatine chez des patients atteints d'un cancer des ovaires récurrent ou avancé en stade III ou IV (Voir le site internet de [Clinical Trials](http://ClinicalTrials.gov)).

La squalamine a obtenu le statut de médicament orphelin accordé par la FDA en 2001 pour le cancer de l'ovaire réfractaire à la chimiothérapie standard (Biard, 2001).

##### **B. Cancer du poumon non à petites cellules.**

La phase I/IIA des essais a été réalisée afin de déterminer la réponse clinique de la squalamine quand elle est administrée pendant cinq jours consécutifs en association avec une chimiothérapie conventionnelle toutes les trois semaines chez des patients atteints d'un stade III ou IV d'un cancer du poumon non à petites cellules.

Les patients naïfs de chimiothérapie étaient traités avec des doses croissantes de squalamine en association avec des doses standard de paclitaxel et de carboplatine. Le paclitaxel et le carboplatine étaient administrés à J1 suivi de la squalamine en injection continue les jours 1-5 chaque vingt et un jours. Quarante-cinq patients ont été choisis, les doses de départ de squalamine étaient de 100 mg/m<sup>2</sup>/jour et montaient jusqu'à 400 mg/m<sup>2</sup>/jour. Deux des trois patients à 400 mg /m<sup>2</sup>/jour avaient une dose limite de toxicité incluant des arthralgies, des myalgies et des neutropénies.

300 mg/m<sup>2</sup>/jour était la dose sélectionnée pour la phase II. Vingt-sept patients ont donc été choisis pour le protocole à raison d'une administration de 300 mg/m<sup>2</sup>/jour de squalamine. Il n'y a pas eu d'interaction pharmacocinétique pour la combinaison squalamine-carboplatine et paclitaxel. Quarante-trois patients ont manifesté une réponse : une réponse partielle de la tumeur a été observée chez douze de ces quarante-trois patients, huit patients ont obtenu une stabilité de la maladie. Pour tous les patients traités, la moyenne de survie était de dix mois et 40% des patients pouvaient atteindre un an. La combinaison squalamine paclitaxel et carboplatine est bien tolérée, l'utilisation de squalamine donnée à des doses maximales tolérées avec une chimiothérapie cytotoxique peut être présentée comme une stratégie thérapeutique pour des patients avec stade IIIb ou IV d'un cancer du poumon non à petites cellules (Herbst *et al.*, 2003).

### **1.9.5 Toxicité et pharmacocinétique.**

#### **A. Cancers avancés.**

Afin de déterminer la dose maximale tolérée, la dose limite de toxicité et la pharmacocinétique de la squalamine quand elle est administrée en continue pendant cent vingt heures en intraveineux toutes les deux semaines et afin d'obtenir des informations lors d'administrations prolongées, il a été mené une étude de phase I.

Dix-neuf patients ont été traités par huit doses de squalamine. La dose limite de toxicité a été rencontrée à 384 mg/m<sup>2</sup>/jour.

La toxicité a consisté en une hépatotoxicité caractérisée par un grade 3 d'élévation des transaminases qui a été résolue trois à onze jours après l'arrêt de la squalamine.

Trois patients n'ont pas expérimenté d'hépatotoxicité quand la première dose était à 384 mg/m<sup>2</sup> mais ont développé une dose limite de toxicité à la même dose quand l'administration était progressive à partir de 538 mg/m<sup>2</sup>. D'autres toxicités incluant un grade 1-3 de fatigue, un grade 1-2 de nausées, une anorexie et des symptômes neuromusculaires ont été remarqués.

La durée maximale d'injection était de vingt jours à la dose de 192 mg/m<sup>2</sup>/jour ceci chez un patient ne présentant pas d'effets secondaires. Les études pharmacocinétiques linéaires ont révélé une relation entre l'aire sous la courbe et la dose de squalamine jusqu'à 384 mg/m<sup>2</sup>. Le temps de demie vie est de dix-huit heures.

En conclusion, la meilleure dose pour la squalamine est de 193 mg/m<sup>2</sup>/j lorsque celle-ci est administrée pendant cent vingt heures en continue. Des essais cliniques complémentaires devraient être réalisés avec la squalamine en combinaison avec d'autres agents anticancéreux pour des patients atteints de cancers du poumon non à petites cellules et de cancers ovariens (Bhargava *et al.*, 2001).

## B. Tumeurs malignes.

Le but de cette étude est d'établir la pharmacocinétique de la squalamine lorsque celle-ci est administrée en intraveineux en continue une fois par jour pendant cinq jours toutes les trois semaines.

Les patients étaient atteints de tumeurs solides malignes réfractaires aux chimiothérapies conventionnelles.

Les critères d'inclusion étaient les suivants : âge supérieur à dix huit ans et aucun traitement par un agent cytotoxique dans les trente jours suivant le début de l'étude.

Les patients devaient également avoir une formule sanguine adéquate (polynucléaires neutrophiles, hémoglobine, ALAT ASAT, PAL) ainsi qu'une bonne fonction rénale. Les patients atteints d'autres problèmes médicaux étaient exclus. Tous les patients ont donné leur consentement par écrit. Des examens cliniques ont été réalisés auparavant : scanners, IRM.

Une réponse complète était définie lorsque toute la maladie était éradiquée alors qu'une réponse partielle correspondait à une réduction de moitié.

Les patients atteints de tumeurs malignes ont été traités par des doses croissantes de squalamine en intraveineux pendant cinq jours toutes les trois semaines.

Les doses administrées allaient de 6 mg/m<sup>2</sup>/j avec un seul patient traité pour chaque niveau de dose jusqu'à ce qu'une toxicité soit observée.

Trente-trois patients ont été traités par soixante-treize administrations de squalamine à treize niveaux de doses allant de 6 à 700 mg/m<sup>2</sup>/j. L'hépatotoxicité a été caractérisée par une élévation des transaminases et une hyperbilirubinémie.

La pharmacocinétique de la squalamine est proportionnelle à la dose administrée. A 500 mg/m<sup>2</sup>/j la clairance est de 2,67 l/h/m<sup>2</sup> la demie vie est de : 9,46 h et le volume de distribution de 36,84 l/m<sup>2</sup>.

Une grande variabilité entre les patients a été observée. Les concentrations plasmatiques augmentent rapidement après l'injection et diminuent rapidement aussi après l'arrêt du traitement.

La principale dose limite de toxicité était l'hyperbilirubinémie et l'élévation des transaminases hépatiques.

L'hyperbilirubinémie a été observée à J1-J3 et diminue à J8. A la dose de 500 mg/m<sup>2</sup>/j un des sept patients a développé un grade 4 d'hyperbilirubinémie associé à un grade 3 de manifestations neurosensorielles caractérisées par des paresthésies et des ataxies. Toutes les toxicités se sont résolues après l'arrêt du traitement.

A la dose de 700 mg/m<sup>2</sup>/j deux des trois patients ont expérimenté un grade 4 d'hyperbilirubinémie à J3 – J6. Un patient a expérimenté une anorexie et une fatigue. Dans les deux cas, les effets hépatiques ont été résolus complètement à J7-J8.

L'élévation des transaminases est plus commune que l'hyperbilirubinémie. Elle apparaît généralement à J5 avec un pic à J6 et est résolue cinq à six jours après. La plupart des patients ont expérimenté un grade 1-2 d'élévation des transaminases hépatiques, alors qu'un patient atteint d'un cancer du foie qui a été traité par squalamine à raison de 255 mg/m<sup>2</sup>/j a expérimenté un grade 4 d'élévation des transaminases à J3 entraînant obligatoirement l'arrêt du traitement.

Les patients atteints d'élévation des ALAT ou ASAT ont régressé en grade 1 et 3 rapidement avec une normalisation au bout de trente deux jours.

La fatigue a été expérimentée chez vingt patients et apparaissait directement après le traitement par la squalamine. Cependant, un patient à chaque dose : 255, 357 et 700 mg/m<sup>2</sup>/j développe un grade 3 de fatigue débutant deux jours après le début du traitement. La fatigue expérimentée chez des patients traités avec 357 et 700 mg/m<sup>2</sup>/j de squalamine a été résolue après vingt-quatre à quarante-huit heures d'arrêt du traitement.

Le patient traité à 255 mg/m<sup>2</sup>/j a expérimenté une fatigue débutant à J2 ; le même patient a développé subitement un grade 3 de douleur à la poitrine à J6 mais pour lequel la squalamine ne peut pas être totalement mise en cause. D'autres effets non hématologiques ont été observés tels que des anorexies, des nausées, des vomissements, une insuffisance rénale, des diarrhées. Un patient traité à la dose de 255 mg/m<sup>2</sup>/j a développé un grade 3 d'anorexie.

Un patient à la dose de 255 et 500 mg/m<sup>2</sup>/j a développé un grade 3 de nausée et vomissement. D'autres effets indésirables non graves tels que des douleurs, de la fièvre, des maux de tête, des réactions au site d'injection, des cyanoses, des déshydratations, des tachycardies, des mycoses ainsi que des constipations ont été observés.

Neuf patients ont expérimenté un grade 1 de thrombocytopénie.

En conclusion, à la dose de 500 mg/m<sup>2</sup>/j la squalamine est bien tolérée et les résultats sont meilleurs que lors des études pré cliniques. Comme l'ont prédit les études pré cliniques, la toxicité hépatique est caractérisée par une hyperbilirubinémie et une élévation des transaminases. Un profil similaire a été observé dans une autre étude de phase I de la squalamine administrée pendant cinq jours. Basée sur ces résultats, la dose recommandée pour la phase II ne doit pas excéder 500 mg/m<sup>2</sup>/j pendant cinq jours toutes les trois semaines. Même si certains patients ont expérimenté un grade 3 d'élévation des transaminases, ce problème ne peut pas être considéré comme une dose limite, en effet, la toxicité disparaissait peu de temps après l'arrêt du traitement et ne persistait que sept jours après. L'administration de squalamine pendant cinq jours est bénéfique chez des patients atteints de tumeurs malignes solides (Hao *et al.*, 2003).

### **1.9.6 Etat actuel et perspectives.**

La squalamine continue d'être testée aux Etats Unis mais aussi en Belgique et également en France, à Marseille. Selon une étude récemment publiée dans la revue Cancer Research, des chercheurs sont parvenus à stopper le développement de gliomes dans le cerveau de rats de laboratoire en leur injectant un médicament à base de squalamine, un composé chimique naturellement produit par les poissons sélaciens (Voir le site internet La Terre du Future).

Reprise par les firmes Genaera Corporation Zentaris, la squalamine est actuellement testée en phase III et son développement bénéficie du statut de médicament orphelin accordé par la Food and Drug Administration en 2001 pour les cancers de l'ovaire réfractaires à la chimiothérapie standard (Biard, 2001).

Outre l'effet anti angiogénique dans le traitement du cancer, la squalamine possède d'autres propriétés intéressantes comme celle d'agir sur l'AMD (Age related Macular Degeneration), en effet, sept essais sont en cours (Evizon®) mais il n'y a pas encore de rapports dans la littérature (Newman et Cragg, 2004).



### **2.1.1 Origine et date de découverte.**

L'activité antitumorale de ce composé a été rapportée en 1969, mais ce n'est pas avant 1990 que la structure a été publiée.

Des molécules similaires ont été rapportées chez d'autres mollusques marins : la jorumycine du nudibranche *Jorunna funebris* et la renieramycine des éponges (Newman et Cragg, 2001). La quantité retrouvée à chaque fois est très faible, et, afin de fournir suffisamment de produit pour l'étude de la molécule, l'organisme source a dû être collecté en grande quantité aux alentours de la mer des Caraïbes (Newman et Cragg, 2001).

Un groupe, composé de plusieurs scientifiques, a réalisé une version de ET 743 dans laquelle un des cycles possède un substituant phthalimide. Le composé issu de cette version, la phtalascidine a prouvé une activité significative selon les mêmes études réalisées avec ET 743. De ce fait, un schéma de production a permis de réaliser à la fois l'ET 743 et la phtalascidine dans une plus grande proportion (Newman et Cragg, 2001).

Ce n'est qu'en 1986 que ET 743 est isolé à l'état pur. La collecte de tuniciers de cette même famille en mer des Caraïbes en 1991 a permis l'isolement et la purification de ET 743 ainsi que des molécules analogues comme ET 722 et ET 729.

Ce dernier alcaloïde lui aussi, fait l'objet d'études pré cliniques mais semble moins actif que son homologue ET 743 (Lansiaux et Bailly, 1999).

### **2.1.2 Firme propriétaire, développement et commercialisation.**

Développé par la firme Zeltia/ Pharmamar, sous l'appellation de Yondelis®, ET 743 rentre en étude clinique en 1997.

Le composé est entré en essai clinique alors que ses mécanismes d'action n'étaient pas encore totalement élucidés. En 2002, il a été testé sur mille patients en phase I et phase II traitant un grand nombre de cancers (Newman et Cragg, 2004).

Pharmamar et Ortho Biotech Products (Johnson et Johnson) ont débuté une entente en août 2001 pour le développement et la commercialisation de l'ET 743. Pharmamar a obtenu les droits en Europe y compris en Europe de l'est.

Ortho Biotech, quant à lui, commercialise le produit au Japon et dans le reste du monde.

Tibotec therapeutic, (une division d'Orthobiotech), le commercialise aux Etats Unis (Newman et Cragg, 2001).

ET 743 est toujours en essais cliniques dans le traitement des sarcomes, des cancers des ovaires, des cancers respiratoires, le cancer de l'endomètre, le cancer de la prostate ainsi que le cancer du poumon non à petites cellules (Newmann et Cragg, 2004).

### **2.1.3 Structure et formule.**

C'est un alcaloïde tétra hydro isoquinoléique. La structure complexe de la molécule se compose en trois parties : A, B et C. Les unités A et B sont orientées perpendiculairement l'une par rapport à l'autre, délimitant un coude rigide au niveau duquel se trouve la fonction carbinolamine hautement réactive. L'unité C est située au dessus de l'unité B et confère à la molécule une forme compacte (Lansiaux et Bailly, 1999).

### **2.1.4 Mode de production actuel.**

Deux modes d'obtention ont été évalués : par aquaculture et par hémi synthèse.

#### **A. L'aquaculture.**

La teneur de la molécule réactive dans l'organisme producteur fait que la production naturelle a été suffisante pour les essais cliniques (cinq grammes d'extrait à partir de cinq tonnes d'*Ecteinascidia turbinata*), mais ne le serait probablement pas pour une production commerciale (Biard, 2001).

Les recherches sur l'aquaculture en Floride ont montré qu'il était possible de cultiver l'ET 743 à la fois dans des bassins mais aussi en mer, et de faire ainsi grandir les larves sur différents types de matériels et de remettre les organismes plus grands, à la fois dans des bassins et dans l'océan.

Ce projet a bien fonctionné, la croissance de cinquante mille larves a été poursuivie sur des substrats artificiels dans des bassins. Les résultats ont montré la production de soixante kilogrammes de biomasse produite en soixante à quatre vingt dix jours à partir des larves.

Ce type de production s'est avéré comme étant efficace et viable, en effet, l'analyse de l'ET 743 à la fois en bassin et dans l'océan a montré un contenu similaire avec peu de variabilité.

Cependant, il existe des pertes inévitables occasionnées par les mauvaises conditions météorologiques.

Peu importe la source choisie pour chaque molécule, le but étant qu'elle soit capable de produire la quantité nécessaire. Dans le cas d'ET 743, l'aquaculture est l'unique choix pour délivrer des quantités commerciales de biomasse et donc de molécule, à condition qu'une synthèse chimique ne soit pas développée (Fusetani, 2000).

## B. Hémi synthèse.

PharmaMar a réalisé la production de la safracine B qui est un métabolite de la bactérie *Pseudomonas fluorescens* dont la ressemblance avec l'ET 743 en fait un intermédiaire synthétique potentiel si celle-ci est commercialisée (Proksch *et al.*, 2002).

### 2.1.5 Mécanisme d'action.

ET 743 est un agent alkylant de l'ADN qui réagit sélectivement au niveau des résidus de guanine. Cependant, sur le plan chimique, son mécanisme d'action n'a rien de commun avec celui des agents alkylants classiques qui réagissent directement avec l'atome d'azote N-7 de la guanine situé dans le grand sillon de l'ADN. Les agents alkylants qui réagissent par l'intermédiaire du petit sillon de l'ADN sont relativement peu nombreux : la mitomycine C utilisée dans le traitement de certains carcinomes et l'ET 743.

Le site réactionnel de l'ET 743 se situe au niveau de la fonction carbinolamide qui, après fixation de la molécule à l'ADN peut réagir avec le groupement amino exocyclique de la guanine, seul groupement donneur de liaison hydrogène exposé dans le petit sillon de l'ADN.

D'un point de vue purement chimique, il s'agit d'une attaque nucléophile lente.

Celle-ci nécessite la formation *in situ* d'un ion iminium intermédiaire par la déshydratation de la fonction carbinolamine suite à l'activation de cette fonction par le proton de l'atome N-12 voisin. D'un point de vue réactionnel, ET 743 s'apparenterait à une famille d'antibiotiques anti tumoraux isolés d'une souche de streptomycètes, les saframycines (Lansiaux et Bailly, 1999).

La réaction chimique entre l'ET 743 et les bases de l'ADN ne se matérialise que lorsque la molécule est ancrée dans le petit sillon de la double hélice. L'interaction est réversible par dénaturation thermique de l'ADN double brin et il n'y a pas de réaction si l'ADN est simple brin. La réactivité de la molécule dépend de la séquence d'ADN ; les triplets les plus réactifs vis-à-vis de l'ET 743 sont 5'-AGC et 5'-CGG. En se fixant à la double hélice, l'ET 743 recouvre la surface de trois à quatre paires de bases par l'intermédiaire des parties A et B de la molécule. La partie C orientée perpendiculairement ne semble pas être directement impliquée dans l'interaction avec l'ADN mais pourrait jouer un rôle important au niveau tissulaire ou cellulaire (Lansiaux et Bailly, 1999).

La fixation sélective de l'ET 743 au niveau de séquences définies d'ADN se traduit par une inhibition spécifique de la fixation à l'ADN de certains facteurs de transcription. Par exemple, l'ET 743 perturbe l'interaction de la protéine TBP ainsi que NF-Y alors qu'elle n'inhibe pas la fixation des protéines Sp 1, Myc et Maf. L'assemblage des nucléosomes est également fortement affecté en présence d'ET 743.

Il est donc plausible que le mode d'action original au niveau de l'ADN de l'ET 743 se traduise par un spectre d'activité antitumorale assez différent de celui des agents alkylants classiques d'autant plus que, parallèlement à la réaction avec l'ADN, l'ET 743 pourrait désorganiser le réseau micro tubulaire sans interaction directe avec la tubuline. Cette activité antimitotique parallèle n'a néanmoins pas été plus amplement étudiée (Lansiaux et Bailly, 1999).

La toxicité prédominante montrée par l'ET 743 dans les études pré cliniques est l'hépatotoxicité particulièrement chez les femelles rates et des effets similaires ont été observés chez des patients humains mais peuvent être maîtrisés par une réduction de la dose. Cependant, dans une récente publication il a été montré que le prétraitement par une forte dose de dexaméthasone pouvait protéger de l'hépatotoxicité (Newman et Cragg, 2004).

### **2.1.6 Efficacité et toxicité de la molécule.**

Une étude de phase I combinant ET 743 et le cisplatine sur différentes tumeurs a été présentée récemment. Cette étude incorporait des doses fixes de cisplatine : 40 mg/m<sup>2</sup> en intraveineux à J1 et J8 avec des doses croissantes d' ET 743 administrées une fois par semaine toutes les trois ou quatre semaines. Le profil de sécurité de la molécule a permis de monter les doses jusqu'à 700 mug/m<sup>2</sup>/jour. La dose limite de toxicité incluait des neutropénies et une hyper bilirubinémie. Le traitement peut être donné toutes les quatre semaines. L'activité sur les différentes tumeurs a été rapportée, incluant une activité antitumorale sur les cancers ovariens avec trois rémissions partielles confirmées chez dix patients traités. Cette combinaison s'est avérée être une base solide dans le développement de ET 743 dans le traitement des différentes tumeurs (Jimeno *et al.*, 2004).

En phase II des essais cliniques, l'ET 743 était plus efficace chez des patients atteints d'un sarcome avancé des tissus mous, mais également chez ceux atteints d'un cancer des ovaires et d'un cancer respiratoire.

La phase II des essais cliniques continue aux Etats Unis et en Europe pour les cancers des ovaires, de l'endomètre, le cancer respiratoire, la cancer de la prostate et du poumon non à petites cellules ainsi que pour les sarcomes avancés des tissus mous avec un succès notable lorsque l'ET 743 est utilisé en combinaison de plusieurs autres médicaments.

Au début de la phase II du programme, l'ET 743 induisait de sévères toxicités telles que des pancytopenies, des rhabdomyolyses, des atteintes rénales et hépatiques. Les résultats montraient des effets variables en fonction des doses administrées. Les résultats de phase II ont été récemment présentés au congrès de l'American Society of Clinical Oncology en 2004 pour le sarcome, le cancer des ovaires, de l'endomètre, et les carcinomes. Il a été montré, qu'administrée pendant trois heures, l'activité antitumorale de l'ET 743 dans les sarcomes avancés des tissus mous est identique à celle observée après administration de la même molécule pendant vingt-quatre heures.

D'autre part, l'activité de l'ET 743 dans le traitement des cancers ovariens a été confirmée avec une bonne tolérance de la molécule, et l'ET 743 a confirmé son activité dans le traitement des cancers de l'endomètre quand la molécule est administrée comme agent unique en perfusion pendant trois heures toutes les trois semaines mais avec une certaine toxicité : une élévation des ALAT, des neutropénies, et des asthénies (Simmons et Andrianosolo, 2005).

L'augmentation des transaminases n'est pas considérée comme une limite au traitement, 20% des incidences concernent une neutropénie de grade 4, l'incidence d'évènements fébriles est de 4%. L'ET 743 n'induit pas de mycoses, de cardiotoxicités ou de neurotoxicités, de diarrhées ou alopecies. Le cumul des toxicités a été observé, ce qui rend l'ET 743 efficace en administration chronique (Jimeno *et al.*, 2004).

Seulement 4% des traitements stoppés ont été dus à la toxicité de la molécule. Le taux de mortalité par toxicité était de 1,1% mais deux évènements mortels étaient dus à une sévère violation du protocole thérapeutique ce qui prouve bien que le protocole sert de référence à l'index thérapeutique de l'ET 743 (Jimeno *et al.*, 2004).

Deux récents rapports ont été publiés, donnant des détails sur la toxicité et le niveau de réponse dans les sarcomes et dans d'autres carcinomes chez des patients qui ont été à la fois prétraités mais également chez des patients naïfs. En novembre 2003, de nombreux rapports ont montré des réponses positives à long terme dans le traitement des sarcomes (Simmons et Andrianosolo, 2005).

La toxicité hépatobiliaire induite par la molécule a été déterminée par modèle expérimental. Les résultats ont du être interprétés avec prudence du fait de la différence métabolique existant entre les espèces. Les évènements observés dans les études *in vivo* semblent être en concordance avec la toxicité hépatobiliaire provoquée par la molécule (Jimeno *et al.*, 2004).

Une récente analyse pharmacocinétique et pharmacodynamique a montré une relation entre l'aire sous la courbe et les sévères toxicités (Laverdiere *et al.*, 2003).

A long terme, les résultats observés chez les patients atteints d'un sarcome des tissus mous sont les suivant :

- rémission partielle : 87% de tumeurs éradiquées.
- réponse mineure : 87% de tumeurs éradiquées.
- stabilité de la maladie : 56% de tumeurs éradiquées (Jimeno *et al.*, 2004).

Ce résultat a donc permis de montrer que ET 743 peut induire, à long terme, une rémission, un allongement de la durée de vie de onze mois et un contrôle de la tumeur. La plus petite progression a duré huit mois. La moyenne de survie était de 10,3 mois (Jimeno *et al.*, 2004)

D'autre part, ET 743 est le premier cytotoxique testé sur une cohorte de patients atteints de sarcome gastro-intestinal mais aucune réponse n'a été rapportée.

Un programme a été établi afin de définir le profil thérapeutique. Dans ces études, l'ET 743 est administré pendant trois heures en intraveineux toutes les trois semaines. La dose initiale proposée était de 1,65 mg/m<sup>2</sup> mais ne convenait pas à des patients en phase II du fait de l'émergence de fatigue. Des études récentes ont permis d'établir un index thérapeutique positif quand la dose de 1,3 mg/m<sup>2</sup> d'ET 743 est administrée pendant trois heures en intraveineux (Jimeno *et al.*, 2004).

Une étude incluant vingt enfants atteints de sarcome d'Ewing et traités avec un schéma thérapeutique débutant à la dose de 1,1 mg/m<sup>2</sup> a suggéré un effet thérapeutique potentiel de l'ET 743 avec une réponse complète au bout de douze mois et deux remissions partielles au bout de onze mois (Baruchel *et al.*, 2002).

Les résultats d'une étude associant l'ET 743 et la capécitabine indique que cette combinaison est bien tolérée et montre une activité antitumorale. Les doses d'administration sont encore en cours d'étude (Jimeno *et al.*, 2004).

Une étude de phase I a permis d'identifier la dose maximale tolérée et la dose limite de toxicité. Des patients adultes atteints de tumeurs solides et de tumeurs résistantes ont reçu l'ET 743 pendant vingt-quatre heures en intraveineux tous les vingt et un jours.

Les relations entre la pharmacocinétique et les toxicités hépatiques et hématologiques ont été évaluées.

Cinquante-deux patients ont été traités à neuf niveaux de dose (de 50 à 1800 mug/m<sup>2</sup>). La dose limite de toxicité incluait des neutropénies et des thrombocytopénies qui sont apparues à 1800 mug/m<sup>2</sup>. Vingt-cinq patients ont été traités à la dose recommandée de 1500 mug/m<sup>2</sup>. A cette dose la clairance est de 59 l/h et le temps de demie vie est de 89 h. La pharmacocinétique est linéaire. La toxicité hépatique définie par une élévation des ALAT et des ASAT était réversible.

En conclusion, l'ET 743 administré selon ce protocole est bien toléré. (Van Kesteren *et al.*, 2000).

Une étude de phase I de l'ET 743 administré pendant soixante-douze heures en intraveineux, en continu tous les vingt et un jours, a été réalisée. Vingt et un patients ont été inclus dans l'étude avec les caractéristiques suivantes : douze hommes, neuf femmes, l'âge moyen était de cinquante-neuf ans. Les doses limites de toxicité ont été au préalable définies. Il n'y a pas eu de DLT chez les six patients évalués au deux premières doses : 600 et 900  $\mu\text{g}/\text{m}^2$ . Un grade 4 d'élévation des transaminases est apparu chez deux des neuf patientes après traitement avec le premier cycle de thérapie au niveau de 1200  $\text{mg}/\text{m}^2$ . D'autres patients ont souffert, durant le deuxième cycle de la thérapie, d'un grade 4 de rhabdomyolyse, un problème rénal nécessitant une hémodialyse a également été détecté, ainsi qu'un grade 4 de neutropénie et un grade 3 de thrombocytopenie. La dose maximale tolérée était de 1200  $\mu\text{g}/\text{m}^2$ , à cette dose la pharmacocinétique est linéaire.

Les paramètres pharmacocinétiques déterminés à 1500  $\mu\text{g}/\text{m}^2$  regroupaient une demie vie de 9,0 plus ou moins 10,3 minutes, une clairance de 28,4 plus ou moins 22,5  $\text{l}/\text{h}/\text{m}^2$ . La toxicité de la molécule est clairement dépendante du programme d'administration : en effet, en augmentant la durée de l'injection à soixante-douze heures, il en résulte une diminution de la myelosuppression et de l'hépatotoxicité.

Une étude de phase II a été menée afin de montrer l'efficacité de l'ET 743 contre les néoplasmes fortement réfractaires sur la base de cette observation (Ryan *et al.*, 2001).

Une autre étude a eu pour but de vérifier la possibilité d'administrer l'ET 743 tous les jours en intraveineux pendant cinq jours toutes les trois semaines. Les patients atteints de tumeurs malignes solides ont été traités par des doses croissantes d'ET 743 : une heure par jour pendant cinq jours toutes les trois semaines. Le plasma et les urines ont été collectés à J1 et J5 de la première administration.

Trente-deux patients ont été traités avec cent dix huit schémas de dose à des doses allant de 6 à 380  $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{j}$ . Une élévation des transaminases était observée à la dose de 216  $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{j}$ . La toxicité hématologique était le principal effet indésirable. La dose maximale tolérée d'ET 743 est de 325  $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{j}$ . L'activité antitumorale a été notée chez trois patients atteints d'un leiomyosarcome et chez une patiente atteinte d'un cancer des ovaires (Villalona *et al.*, 2002).

### **2.1.7 Les essais cliniques.**

#### **A. Sarcome avancé des tissus mous.**

L'ET 743 est indiqué dans le traitement de patients atteints d'un sarcome avancé des tissus mous, il est donc utilisé lorsque le traitement aux anthracyclines et à l'ifosfamine n'est plus efficace ou chez des patients à qui ces médicaments ne peuvent être administrés. En raison du faible nombre de patients présentant un sarcome des tissus mous, la maladie est considérée comme rare. Yondelis® a donc été désigné, par la FDA, comme « médicament orphelin » le 30 mai 2001.

Des études préliminaires chez un petit groupe de patients atteints d'un sarcome avancé et traités avec l'ET 743, ont montré un temps de survie de six mois et une réponse dans 100% des cas.

Dix rémissions partielles chez quarante femmes dont le traitement était résistant au platine et au taxane ont été rapportées, la durée de survie était de six mois et le pourcentage de réponses dans la population était de 47%. Le profil de sécurité de l'ET 743 chez ces patients est approprié, peu d'élévation des transaminases ainsi que peu d'asthénie ont été observées. Cette étude a permis d'établir les bases des essais de phase III (Jimeno *et al.*, 2004).

Une étude de phase I a permis de caractériser l'efficacité de l'ET 743 donné en combinaison avec la doxorubicine, cette étude a été menée sur des sarcomes avancés : dans cette étude, une dose fixe de doxorubicine 60 mg/m<sup>2</sup> est combinée avec des doses croissantes d'ET 743. Une résistance à la combinaison a été rapportée à la dose de 800 µg/m<sup>2</sup> pour l'ET 743, la dose limite de toxicité engendrait un grade 4 de neutropénie et d'asthénie. La comparaison du plasma de ces deux molécules exclue une interaction avec la protéine kinase entre ces deux molécules. Quatre rémissions partielles ont été confirmées et deux patients sur dix-sept ont vu une stabilité de leur maladie pendant six mois.

La possibilité de l'association de l'ET 743 avec le paclitaxel est définie dans une étude de phase I dans laquelle le paclitaxel est administré pendant une heure en intraveineux à J1 suivi de l'ET 743 administré pendant trois heures à J2 en intraveineux également. Aucune dose limite de toxicité n'a été notée jusqu'à la dose de 120 mg/m<sup>2</sup> pour le paclitaxel et 580 mg/m<sup>2</sup> pour l'ET 743. De plus, ni le paclitaxel ni l'ET 743 ne sont des inhibiteurs du cytochrome P3A4 (Jimeno *et al.*, 2004).

L'ET 743 a démontré son activité cytotoxique à de très faibles concentrations contre des sarcomes avancés des tissus mous en étude pré clinique. Dans de nombreuses phases II, l'ET 743 était administré lorsque le traitement par la doxorubicine et l'ifosfamide avait échoué.

Administrée en intraveineux, en continu, à la dose de 1,5 mg/m<sup>2</sup> tous les vingt et un jours, il a été observé une réponse favorable de 30 à 40%. Une stabilisation de la maladie pendant trois années a également été remarquée.

*In vivo*, l'ET 743 a un profil de toxicité spécifique, la majeure toxicité est hépatique et hématologique. Grâce à son mode d'action original, et le peu de résistance croisée avec d'autres agents de chimiothérapie, l'ET 743 a été testé dans des modèles pré cliniques en association avec d'autres molécules. Une synergie d'action a été rapportée avec la doxorubicine et le cisplatine (Fayette *et al.*, 2005).

Une étude de phase II a été réalisée afin d'évaluer l'activité et la sécurité de l'ET 743 administré à la dose de 1,5 mg/m<sup>2</sup> pendant vingt-quatre heures en continue toutes les trois semaines chez des patients atteints d'un sarcome des tissus mous.

Les patients ont reçu l'ET 743 comme deuxième ou troisième ligne de chimiothérapie. L'activité antitumorale a été évaluée toutes les six semaines jusqu'à une progression.

Cent quatre patients de EORTC ont été inclus dans l'étude, de mars 1999 à novembre 2000. Un total de quatre cent dix cycles a été administré chez quatre-vingt-dix-neuf patients. La toxicité principale était due à une élévation des transaminases d'un grade 3 ou 4 chez 40% des patients et d'un grade 3 ou 4 de neutropénie a été observé chez 52% des patients. Il y a eu huit réponses partielles, quarante-cinq patients n'ont eu aucune réponse et trente-neuf patients ont vu une progression de leur maladie.

Le taux d'arrêt de la progression était de 56% dans les leiomyosarcomes et de 61% dans les synovialosarcomes.

La durée moyenne de survie était de 9,2 mois.

En conclusion, l'ET 743 semble être une molécule prometteuse dans le traitement des sarcomes du tissu mou avec aucune toxicité cumulée (Le Cesne *et al.*, 2005).

Afin d'évaluer le pourcentage de réponse, le profil de toxicité et la pharmacocinétique de l'ET 743 comme première ligne de chimiothérapie chez des patients atteints d'un sarcome avancé des tissus mous, une étude de phase II a été réalisée.

Trente-six patients ont débuté le traitement entre septembre 1999 et août 2000. Les patients ont été traités avec 1,5 mg/m<sup>2</sup> d'ET 743 administré pendant vingt-quatre heures en continu en intraveineux chaque vingt et un jours.

Une réponse complète et cinq réponses partielles ont été évaluées chez trente-cinq patients. De plus, un patient a obtenu une réponse mineure. Les neutropénies et l'élévation des transaminases étaient le principal effet indésirable qui apparaissait chez 33% des patients. En conclusion, l'ET 743 a démontré une forte activité clinique contre les sarcomes avancés des tissus mous avec une toxicité acceptable (Garcia *et al.*, 2005).

Dans une étude de phase II récente, l'ET 743 a montré une forte efficacité dans le traitement des sarcomes.

Vingt et un patients atteints d'un sarcome avancé des tissus mous ont été traités par l'ET 743. Tous les patients ont reçu un traitement par anthracycline et 95% des patients ont reçu de l'ifosfamide.

Les patients ont reçu une moyenne de quatre cycles, des réponses partielles ont été remarquées chez trois patients et huit patients ont vu une stabilité durable de leur maladie pour une moyenne de 4,5 mois. Quatre patients sont décédés pendant le traitement. La molécule a été bien tolérée, mais apparaissaient tout de même des toxicités hépatiques et hématologiques. D'autres toxicités étaient des nausées, des vomissements et des asthénies.

En conclusion, la réponse est durable dans le temps, et les patients traités n'ont pas supporté d'effets secondaires leur imposant l'arrêt du traitement (Roylance *et al.*, 2007).

Une étude de phase II a été réalisée afin de démontrer l'efficacité de l'ET 743 dans le sarcome des tissus mous.

Les patients ont reçu de l'ET 743 à la dose de 1,5 mg/m<sup>2</sup> toutes les trois semaines. Deux groupes ont été fait :

Groupe 1 : 26 patients

Groupe 2 : 28 patients

Il y avait trente femmes et vingt-quatre hommes, l'âge moyen était de quarante-huit ans.

41% des patients étaient atteints d'un leiomyosarcome. Les patients ont reçu une moyenne de trois cycles. 28% ont reçu plus de six cycles. Deux patients ont obtenu une réponse partielle, quatre une réponse mineure et neuf avec une stabilité de la maladie.

La durée moyenne de survie est de 1,9 mois, 24% des patients ont vu une progression après six mois. 30% des patients ont survécu après deux ans. Deux décès relatifs au traitement sont apparus dus à la violation du protocole.

Une élévation des transaminases d'un grade 3 ou 4 est apparue dans 50% des cas et un grade 3 ou 4 de neutropénie est apparu chez 61% des patients. Les nausées et vomissements étaient acceptables.

Avec 4% de réponse moyenne, l'ET 743 est bien toléré et a prouvé son efficacité (Yovine *et al.*, 2004).

Une étude de phase II est en cours de réalisation, sponsorisée par Johnson et Johnson Pharmaceutical Research and Development. Le but de cette étude étant de s'assurer de la sûreté et de l'efficacité de la molécule avant sa commercialisation chez des patients atteints de sarcomes des tissus mous réfractaires à la chimiothérapie conventionnelle.

L'étude a débuté en août 2005 et devrait se terminer en mai 2009. La molécule est administrée à la dose de 1,5 mg/m<sup>2</sup> pendant vingt-quatre heures à J1 tous les trente jours sachant que vingt milligrammes de dexaméthasone est administrée en intraveineuse trente minutes avant chaque dose d'ET 743. L'âge limite pour rentrer dans l'étude est de dix-huit ans.

Les critères d'exclusion sont les suivants : aucune radiothérapie ou bien autre chimiothérapie ne doit être administrée quatre semaines auparavant. Aucune personne ne doit être atteinte d'hépatite virale aigüe ou chronique. Les patients ne doivent pas souffrir de problèmes cardiaques, ou bien d'infections. Cette étude ne concerne évidemment pas les femmes enceintes (Voir le site internet de Clinical Trials).

### B. Tumeur gastro-intestinale.

Une étude de phase II a été menée en entre mai 1999 et novembre 2000 dans huit centres afin d'établir l'efficacité et la sécurité de l'ET 743 dans les tumeurs gastro-intestinales traitées auparavant par chimiothérapie. L'ET 743 a été administré à la dose de 1,5 mg/m<sup>2</sup> en intraveineux en continu sur vingt-quatre heures toutes les trois semaines. Vingt-huit patients ont été inclus, seize hommes et douze femmes, l'âge moyen était de cinquante-quatre ans. Les patients ont reçu de zéro à six courses d'ET 743.

La meilleure réponse a été une stabilité de la maladie chez neuf patients et une progression de la maladie chez dix-huit patients. Le traitement a été bien supporté, il y a eu un grade 3-4 de neutropénie chez treize patients, une thrombocytopénie est apparue chez un patient et une élévation des transaminases chez seize patients. Il n'y a pas eu de décès.

En conclusion, l'ET 743 n'est pas un traitement valable pour les tumeurs gastro-intestinales (Blay *et al.*, 2004).

Une seconde étude a eu pour but de vérifier l'efficacité et la tolérance d'ET 743 chez des patients atteints de tumeurs gastro-intestinales.

L'ET 743 a été administré en continu en intraveineux pendant vingt-quatre heures à la dose 1,5 mg/m<sup>2</sup> répétée toutes les trois semaines.

Un total de vingt patients ont débuté l'étude, dix-neuf d'entre eux avaient été traités par quarante-sept cycles d'ET 743. Des toxicités sévères sont apparues : un grade trois d'élévation des transaminases chez dix patients et un grade trois de fatigue chez un patient.

Il n'y a pas eu de réponse objective et une stabilisation de la maladie est apparue chez deux patients pendant une période de quatre et dix mois. Le pourcentage de survie à un an est de 71,1%

Cette étude est le premier rapport d'une étude prospective de phase II permettant d'évaluer la cytotoxicité de la molécule. Le peu de réponse peut être associé à une exposition thérapeutique inefficace de la molécule (Ryan *et al.*, 2002).

### C. Tumeurs solides chez des enfants.

Afin de déterminer la dose limite de toxicité et la dose maximale tolérée de l'ET 743 chez des enfants atteints de tumeurs solides réfractaires ainsi que la dose recommandée pour la phase II des essais, une étude a été réalisée.

L'ET 743 a été administré pendant trois heures en intraveineux tous les vingt et un jours, la dose de départ était de 1,1 µg/m<sup>2</sup>.

Résultats : douze patients ont été évalués et ont reçu vingt-neuf courses. Un grade 4 de nausées et vomissements a été noté au premier niveau de dose. Au second niveau, (1,3 µg/m<sup>2</sup>) il a été remarqué deux doses limite de toxicité (DLT). La dose maximale tolérée a été définie à 1,1 µg/m<sup>2</sup>. Une toxicité hépatique réversible s'est manifestée par un grade 3 ou 4 d'élévation des transaminases et est apparue chez plus de la moitié des patients.

Aucun grade 3 ou 4 de thrombocytopénie n'a été rapporté à ce niveau de dose et un seul épisode d'élévation des créatinines phosphokinases a été noté. Une réponse complète a été documentée après six cycles chez un patient atteint d'un sarcome d'Ewing.

L'ET 743 est une molécule sûre, la phase II recommande d'administrer la molécule pendant trois heures en intraveineux (Lau *et al.*, 2005).

#### D. Cancers ovariens.

Une étude de phase II a été menée sur cinquante et une patientes atteintes de tumeurs résistantes ou sensibles au platinium et au taxane ont été traitées par l'ET 743 pendant trois heures en intraveineux toutes les trois semaines. Les patientes étaient monitorées toutes les semaines.

Résultat : 43% des patientes sensibles au platinium ont eu une réponse objective avec une durée de vie de 7,9 mois, deux réponses partielles chez des patients résistant au platinium ont été observées.

La toxicité prédominante était à la dose recommandée de 1,300  $\mu\text{g}/\text{m}^2$  : des neutropénies, des asthénies, et une élévation des amino transférases ont fait partie des effets indésirables mais n'ont pas fait stopper le traitement.

En conclusion, l'ET 743 administré en intraveineux pendant trois heures à la dose de 1,3  $\mu\text{g}/\text{m}^2$  est bien toléré et donne une bonne réponse (Sessa *et al.*, 2005).

Les cancers ovariens ou respiratoires qui ont été prétraités par l'association platinium/taxane ont montré une grande réponse lors du traitement par l'ET 743 dans les études de phase I. En phase II, l'ET 743 est plus efficace chez les patients atteints d'un sarcome des tissus mous (Simmons et Andrianosolo, 2005).

Une seconde étude a été réalisée afin de déterminer le pourcentage de réponse chez des patients atteints d'un cancer des ovaires sensible et résistant au traitement par l'ET 743 et administré pendant trois heures en intraveineux pendant trois semaines. L'ET 743 a été administré après prémédication par de la dexaméthasone à cent quarante sept patients pendant trois heures une fois par semaine pendant trois semaines.

Chez les patients sensibles au platinium, soixante-deux patients ont été évalués avec un pourcentage de réponse de 29% et la moyenne de progression était de 5,1 mois.

Chez les patients résistants au platinium, soixante-dix-neuf patients ont été évalués avec un pourcentage de réponse de 6,3%, et une moyenne de survie de deux mois.

Le plus fréquent des effets indésirables était une élévation des ALAT dans 10% des cas, une neutropénie dans 8% des cas, des nausées, des vomissements et de la fatigue dans 5% des cas (Krasner *et al.*, 2007)

Une étude de phase III chez des patients atteints de cancer des ovaires est en cours, le but étant de comparer l'efficacité de la doxorubicine avec l'association doxorubicine plus ET 743. Les résultats devraient être communiqués d'ici 2009 (Jimeno J, 2004).

#### E. Cancers respiratoires.

L'ET 743 est en phase II/III des essais cliniques dans le cancer respiratoire, les cancers de la prostate, les sarcomes et le cancer de l'ovaire.

L'étude suivante montre l'activité de l'ET 743 chez des femmes atteintes d'un cancer respiratoire traitées au préalable par une autre chimiothérapie. Les patientes ont été traitées au préalable par taxane et/ou anthracycline comme thérapie palliative. L'ET 743 à la dose de 1,5 mg/m<sup>2</sup> a été administré pendant vingt-quatre heures en intraveineux en continu toutes les trois semaines. Vingt-sept patientes ont été incluses entre avril 1999 et septembre 2000. Leur âge moyen était de cinquante-quatre ans et 63% d'entre elles avaient deux sites de métastase. Toutes les patientes ont reçu en prévention un traitement par anthracycline et vingt-trois des vingt-sept patientes ont reçu du taxane en plus. Sur les vingt et une patientes atteintes d'une maladie mesurable, trois d'entre elles ont confirmé une réponse partielle et deux une réponse mineure. Six patients ont vu une stabilité de leur maladie. La moyenne de survie était de dix mois (Zelek *et al.*, 2006).

#### F. Cancer colorectal.

Cette étude de phase II a eu pour but d'évaluer la toxicité et l'efficacité de l'ET 743 pendant trois heures, administré en intraveineux toutes les trois semaines chez des patients atteints d'un cancer colorectal avancé.

Vingt et un patients ont été inclus dans l'étude : cinq patients ont été traités par 1650 mug/m<sup>2</sup>, dix patients par 1300 mug/m<sup>2</sup> et six patients par 1100 mug/m<sup>2</sup>.

Le nombre moyen de cycle par patient est de deux, aucune réponse objective n'a été rapportée, quatre patients ont obtenu une stabilité de leur maladie pendant 3,6 mois. La moyenne de survie était de 4,4 mois. La principale toxicité était une élévation asymptomatique des transaminases et une neutropénie. Aucun décès n'a été rapporté.

En conclusion, l'ET 743, à la dose de 1300 µg/m<sup>2</sup> administré pendant trois heures en intraveineux toutes les trois semaines est bien toléré mais a peu d'activité dans le traitement du cancer colorectal. C'est pourquoi de nombreux essais cliniques avec l'ET 743 comme seul agent ne sont pas garantis (Paz *et al.*, 2007).

### G. Ostéosarcomes récurrents.

L'objectif de cette phase II est d'évaluer l'activité de l'ET 743 comme une thérapie de survie chez des patients atteints d'ostéosarcomes récurrents.

Les patients ont reçu une chimiothérapie standard. L'ET 743 a été administré à la dose de 1500 µg/m<sup>2</sup> pendant vingt-quatre heures en intraveineux toutes les trois semaines.

Vingt-cinq patients ont débuté l'étude, soixante et un cycles ont été administrés, trois patients ont obtenu une réponse mineure, quinze patients ont observé une élévation des transaminases. Un grade 3 et 4 de neutropénie a été observé chez douze patients et un grade 3 de thrombocytopénie chez six patients.

En conclusion : l'ET 743 est bien toléré chez des patients atteints d'un ostéosarcome mais possède tout de même une activité antitumorale limitée comme agent seul. La combinaison de l'ET 743 avec le cisplatine ou la doxorubicine pourrait être considérée dans ce type de traitement (Laverdiere *et al.*, 2003).

### 2.1.8 Etat actuel et perspectives.

Le comité des médicaments à usage humain (CHMP) a noté que les preuves des effets de l'ET 743 étaient principalement basées sur le traitement du liposarcome et du leiomyosarcome. Le comité a recommandé l'octroi de l'autorisation de mise sur le marché pour Yondelis®.

Une autorisation de mise sur le marché « sous circonstance exceptionnelle » a été délivrée dans toute l'Union européenne pour Yondelis®, à Pharmamar le 17 septembre 2007. Cela signifie qu'à cause de la rareté de la maladie, il n'a pas été possible d'obtenir des informations complètes sur Yondelis®. L'agence européenne du médicament (EMA) réexaminera chaque année toute nouvelle information qui pourrait être fournie (Voir le site internet de l'EMA).

Yondelis® a obtenu le statut de médicament orphelin en Europe pour le traitement du sarcome des tissus mous en 2001, il a également obtenu le même statut par la FDA dans la même indication en octobre 2004 (Jimeno *et al.*, 2004)

En résumé, de nombreux progrès dans le développement clinique de l'ET 743 ont été réalisés dans les deux dernières années. L'ET 743 apparaît comme étant la première molécule active sur les sarcomes des tissus mous avec un profil de sécurité rassurant et possible pour une administration chronique (Jimeno *et al.*, 2004).

### **2.1.9 Comment Yondelis® est-il utilisé ?**

Yondelis® doit être administré sous le contrôle d'un médecin expérimenté dans le recours à la chimiothérapie.

La dose recommandée de Yondelis® est de 1,5 mg/m<sup>2</sup> de surface corporelle (calculée à partir de la taille et du poids du patient), administrée en une seule perfusion intraveineuse de vingt quatre heures toutes les trois semaines. Le traitement doit être poursuivi tant qu'un effet bénéfique est constaté. Il est recommandé d'administrer Yondelis® par un tube de veine central. Pour prévenir les vomissements et protéger le foie, une injection de dexaméthasone doit être administrée avant chaque dose de Yondelis®.

La perfusion par Yondelis® peut être retardée ou la dose de Yondelis® réduite en cas d'anomalie des hémogrammes du patient. Yondelis® doit être utilisé avec précaution chez les patients atteints de troubles hépatiques. Yondelis® ne doit pas être utilisé chez les enfants en raison de l'insuffisance des informations actuellement disponibles. Il ne doit pas non plus être utilisé chez les patients ayant des taux élevés de bilirubine ou de graves problèmes rénaux.

Les effets indésirables les plus courants de Yondelis® sont les suivants : augmentation des taux sanguins de créatinine phosphokinase, baisse des taux sanguins d'albumine, neutropénie, thrombocytopénie, anémie, leucopénie, maux de tête, vomissements, nausées, constipation, anorexie, fatigue, asthénie, hyperbilirubinémie.

Yondelis® ne doit pas être utilisé chez des personnes présentant une hypersensibilité à la trabectedin ou à l'un des autres ingrédients. Il ne doit pas être non plus administré en cas d'infection grave ou non contrôlée. En association avec le vaccin contre la fièvre jaune ou chez des femmes allaitantes (Voir le site internet de l'EMA).

## II.2 Néovastat® ou AE 941.

**Organisme source :** *Squalus Acanthias* (chien de mer), *Sphyrna lewini* (requin marteau), *sinica cetorhinus maximus* (espèce chinoise), *Scyliorhinus torazame* (requin tigre), *Prionace glauca* (requin bleu).

### 2.2.1 Origine et date de découverte.

AE 941 a été découvert en 1983 lorsqu'une activité antitumorale attribuée à un effet anti angiogénique est décelée dans un extrait de cartilage de requin : *Cetorhinus maximus*. Dans les années antérieures, des faits similaires avaient été décrits à partir de cartilage de bœuf et de lapin, et une protéine active avait été alors isolée (Biard, 2001).

La première mention du Néovastat® apparaît en 1998, obtenu par Aeterna Laboratories Inc, au Québec, sous forme d'une préparation ultra filtrée de cartilage homogénéisée pour un premier usage dans le traitement du psoriasis. Le produit fait également l'objet d'une étude clinique de phase I et II sur des tumeurs du sein, du poumon et du colon (Biard, 2001).

Plusieurs études confirment l'intérêt du Néovastat® seul ou en association avec les dérivés du platine pour la lutte antitumorale.

AE 941 apparaît assez rapidement comme agent prometteur, d'autant qu'aucune toxicité n'est manifestée et que le produit, hydrosoluble, est utilisable par voie orale. Le NCI (National Cancer Institute) débute les essais de phase III en 1999 qui sont actuellement en cours sur des carcinomes rénaux résistants et sur les carcinomes pulmonaires non à petites cellules, en oncologie pédiatrique (Biard, 2001).

Aeterna a confié la distribution du Néovastat® aux sociétés Grupo Ferrer Internacional (Espagne) et Medac GmbH (Allemagne) (Biard, 2001).

### **2.2.2 Mode d'obtention.**

L'obtention du cartilage se fait par la pêche du requin puis, le but étant d'obtenir un homogénat de cartilage dans une solution aqueuse. Il faut ensuite fractionner cet homogénat pour obtenir une fraction solide et une fraction liquide, cette dernière subissant un autre fractionnement permettant d'obtenir un extrait liquide présentant des molécules ayant un poids moléculaire inférieur à 500 kDa (Newman et Cragg, 2004).

### **2.2.3 Activité et mécanisme d'action.**

Le Néovastat® possède une action pléiotropique : il a en effet des propriétés anti angiogéniques, il provoque également une induction ou une inhibition de l'expression de gènes responsables de la transcription du plasminogène, des métalloprotéinases de la matrice 9 (MMP 9) et du facteur B de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF) (Voir le site internet de Aeterna).

Le Néovastat® provoque le suicide des cellules endothéliales qui tapissent la paroi interne des vaisseaux sanguins. En provoquant l'apoptose de ces cellules spécifiquement, le Néovastat® empêche donc leur formation et prive la tumeur d'un apport de nutriments essentiels à sa croissance.

Par ailleurs, le Néovastat® inhibe également l'action de certaines enzymes qui permettent d'ouvrir une brèche dans la paroi d'un vaisseau existant afin de lancer une nouvelle ramification en direction d'une tumeur. Ces enzymes appelées metallo protéases (MMP) désagrègent la paroi du vaisseau sanguin, ce qui ouvre la voie à l'immigration des cellules endothéliales qui forment un nouveau vaisseau en direction de la tumeur.

Lorsque la tumeur cancéreuse manque d'oxygène, elle réclame la formation de nouveaux vaisseaux sanguins et signale sa demande en relâchant des messagers chimiques. Ces signaux rejoignent les récepteurs couvrant la paroi interne des vaisseaux sanguins et leur association à ces récepteurs induit la production des MMP or le Néovastat® bloque aussi ces récepteurs (Voir le site internet de Aeterna).

#### **2.2.4 Les essais cliniques.**

##### Carcinome rénal.

La thérapie des cancers rénaux demeure un challenge pour les oncologues et les urologues. Durant les dix dernières années, les anomalies moléculaires sont apparues dans divers types de cancers tel que le cancer rénal. Les anomalies trouvées dans les cellules tumorales mettaient en cause le chromosome 3p associé à une hyperméthylation du gène Von Hippel-Lindau (VHL). La majorité des patients atteints d'un cancer rénal qui ont reçu un traitement par de l'IL 2 et ou de l'INF ont échoué et ont développé progressivement la maladie. L'effet antitumoral de l'AE 941 a été remarqué chez des modèles murins et agit sur le développement des métastases. Les études préliminaires ont suggéré que la réponse au Néovastat® est positive et les patients ayant reçu de fortes doses de cet agent peuvent augmenter leur chance de survie. C'est pour cela qu'une étude de phase III est conduite. Trois cents patients ont été inclus dans l'essai clinique et les observations cliniques sont prometteuses (Bukowski, 2003).

Pour des patients atteints de cancers rénaux en progression aucun traitement standard n'est valable. Aucune dose limite de toxicité n'a été observée dans les phases I et II des essais cliniques. Une étude de phase II a montré une augmentation de la durée de vie des patients passant de 7,1 à 16,3 mois à la dose de 240 ml/j. Une étude de phase III menée en double aveugle a conduit à déterminer l'efficacité du Néovastat® en monothérapie. Les patients ont reçu soit du Néovastat® (120 ml) soit un placebo. De mai 2000 à janvier 2002, trois cent deux patients ont été recrutés dans quarante-six centres (Argentine, Canada, Europe, et USA). L'âge moyen était de soixante et un ans avec deux cent vingt deux hommes et quatre-vingt femmes. 75% des patients avaient des métastases sur un seul site. Deux cent vingt sept patients avaient plus d'un site de métastases (poumon : 70%, foie : 25%, os : 29%).

Le profil de sécurité du Néovastat® était acceptable et n'a pas montré de sévères toxicités. En conclusion, cette étude a permis de montrer l'efficacité du Néovastat® (Escudier *et al.*, 2003).

### **2.2.5 Sécurité et efficacité.**

Une étude de phase II a été menée afin de vérifier le profil de sécurité du Néovastat® chez des patients atteints d'un cancer et afin d'obtenir des informations préliminaires sur son efficacité sur des tumeurs solides réfractaires aux traitements standards. Le Néovastat® est administré oralement à cent quarante quatre patients atteints de tumeurs solides réfractaires aux thérapies standard. Afin de connaître les résultats, une analyse a été menée chez vingt deux patients afin de déterminer la dose de Néovastat® et ses effets. Une relation a été observée entre la dose administrée et la durée de vie. La durée de vie a été allongée et est passée de 7,1 à 16,3 mois chez des patients traités par Néovastat® à la dose de 240 ml/jour en comparaison avec des patients recevant 60 ml/jour. Aucune dose limite de toxicité n'a été rapportée. L'effet indésirable le plus fréquent était une altération du goût dans 13,6 % des cas. En conclusion, le Néovastat® est bien toléré à la dose de 60 et 240 ml/jour (Batist *et al.*, 2002).

#### **A. Cancer de la prostate.**

A Toronto le 26 juin 2001, Aeterna a annoncé les résultats de la phase I/II des études cliniques chez quarante-huit patients souffrant d'un cancer de la prostate.

Les résultats de l'étude ont montré aucune dose limite de toxicité et une très bonne acceptabilité des patients. Les effets dose dépendant ont été notés chez 20% des patients pour lesquels on leur avait administré de faibles doses de Néovastat® et chez 45% des patients chez lesquels on avait administré de fortes doses. La réduction de la douleur a été observée chez 80% des patients. Les résultats ont été présentés au meeting annuel de l'association urologique canadienne à Toronto par le docteur Fred Saad du centre hospitalier de l'université de Montréal, au Canada.

Cette étude corroborait les résultats de l'étude de phase I/II des essais cliniques qui démontraient que le Néovastat® est une molécule fiable avec des effets bénéfiques. Il a été observé une augmentation de la durée de vie chez des patients atteints d'un cancer rénal ou d'un cancer du poumon non à petites cellules chez des patients recevant de fortes doses de Néovastat®.

A l'heure actuelle, sept cent patients ont reçu du Néovastat® dans cent quarante centres d'essai à travers le Canada, les Etats Unis et l'Europe. Quarante-huit patients atteints d'un cancer de la prostate réfractaire à la thérapie standard ont pris part dans les essais conduits au Canada et aux Etats-Unis. Le Néovastat® est utilisé en monothérapie.

L'objectif des essais était de déterminer la dose maximale tolérée et son profil de sécurité ainsi que les effets cliniques bénéfiques après quatre vingt quatre jours de traitement. Une stabilité de la maladie a été notée chez dix-sept des trente-huit patients recevant une forte dose et chez deux des dix patients recevant une faible dose (Voir le site internet de CUA).

## **B. Tumeurs solides**

Quatre études cliniques ont été menées afin d'établir la sécurité et l'efficacité du Néovastat® administré oralement. Lors de l'étude clinique, quatre cent quatre vingt-deux patients ont reçu du Néovastat®, parmi ces patients, cent quarante six patients ont été exposés à la molécule pendant plus de six mois. Deux études de phase III ont été menées. Une étude a été menée afin d'évaluer l'efficacité du Néovastat® en association avec de la radiothérapie chez des patients atteints de cancers du poumons non à petites cellules au stade IIIA et IIB. Une seconde étude de phase III a été menée afin d'évaluer l'efficacité du Néovastat en monothérapie dans le traitement des cancers rénaux métastatiques. L'efficacité du Néovastat® est également évaluée dans une étude de phase II chez des patients atteints de multiples myélomes (Falardeau *et al.*, 2001).

Les phases I et II des essais cliniques montrent que le Néovastat®, administré oralement est bien toléré. Cependant, la durée de vie des patients atteints d'un cancer du rein ou d'un cancer du poumon non à petites cellules était significativement plus longue chez les patients ayant reçu de fortes doses de Néovastat® (Gindras *et al.*, 2001).

### **2.2.6 Aeterna et l'AE 941.**

Quand le développement initial de l'AE 941 a été conduit, Aeterna a donné différentes indications du produit en fonction du nom donné : Néovastat® était utilisé en oncologie, Provascar® était utilisé en dermatologie, Néoretina® en ophtalmologie et Arthrovas® en rhumatologie. Cependant, tous ces noms commerciaux n'allaient pas être utilisés et Aeterna a décidé de ne garder que le nom Néovastat® dans ses publications.

Les laboratoires Aeterna ont signé un accord de commercialisation avec le groupe Ferrer Internacional (Espagne) et Medac Gmbh (Allemagne) en février 2001.

Aeterna a garanti l'exclusivité de commercialisation et de distribution des droits de l'AE 941 en oncologie, au groupe Ferrer Internacional pour l'Europe du Sud : France, Belgique, Espagne, Grèce, Portugal et Italie. Il a également des droits en Amérique centrale et Amérique du sud.

Medac Gmbh a obtenu les droits marketing en Allemagne, Scandinavie, Suisse, Autriche, Ireland, Hollande et Europe de l'est.

En octobre 2002, Aeterna, a annoncé qu'elle a signé un agrément avec Australian Healthcare products et la compagnie Mayne Group pour le marketing de l'AE 941 en Australie, Nouvelle Zeland, Canada et Mexique.

En mars 2003, elle annonce qu'elle a signé un agrément avec Korean pour le marketing de AE 941 en Corée du Sud.

En janvier 2004 Aeterna a annoncé que le développement de l'AE 941 sera « strictement focalisé sur les carcinomes rénaux et les carcinomes du poumon non à petites cellules », suggérant ainsi que le développement du Néovastat® pour les autres indications ne sera pas poursuivi (Newman et Cragg, 2004).

### **2.2.7 Etat actuel et perspectives.**

Le Néovastat® est actif oralement, et a montré une activité antitumorale et anti métastatique chez le modèle animal. Un excellent profil de sécurité avec peu d'effets secondaires a été démontré chez plus de huit cent patients qui ont été exposés au Néovastat®, parmi eux pendant plus de quatre ans. Ceci montre que le Néovastat® est bien toléré à long terme aussi bien en monothérapie qu'en association avec d'autres molécules anticancéreuses (Gindras *et al.*, 2003).

Le Néovastat® est toujours en évaluation dans trois études cliniques avec deux phases III chez des patients atteints d'un cancer rénal et d'un cancer du poumon non à petites cellules en oncologie pédiatrique et une étude de phase II chez des patients atteints d'un myélome multiple (Gindras *et al.*, 2003).

Le Néovastat® est en évaluation en Europe et en Amérique du nord pour le traitement des carcinomes rénaux réfractaires ainsi que pour les cancers du poumon non à petites cellules en Amérique du nord (Gindras *et al.*, 2000).

Le Néovastat® sera disponible sous forme injectable, deux formes orales de la même molécule sont déjà commercialisées par Aeterna comme supplément nutritionnel, il s'agit du CarTcell® la plus puissante et la plus couteuse qui doit être conservé congelée, et le CarTcell® NF (Non « Frozen ») qui peut être conservé à température ambiante et qui est distribué par Smart Dfn SA sous la marque Cartiplus® (Voir le site internet nutranews).

La FDA lui a accordé le statut de médicament orphelin en octobre 2002 (Gindras *et al.*, 2000).

# Récapitulatif

## Récapitulatif.

Nom de la molécule	Origine	Classe chimique
Dehydrodidemnine B	<i>Aplidium Albicans</i> , tuniciers	Peptide cyclique, phase II
Dolastatine 10	<i>Dolabella auricularia</i> , mollusques	Pentapeptide, phase II

<b>Cématodine, LU 103793</b>	<i>Dolabella auricularia</i> , mollusques	Pentapeptide, phase II
<b>Synthadotine, ILX 651</b>	<i>Dolabella auricularia</i> , mollusques	Peptide, phase II
<b>Bryostatine 1</b>	<i>Bugula neritina</i> , bryozoaires	Macrolide cyclique, phase II
<b>Kahalalide F</b>	<i>Elysia rufescens</i> , mollusques	Peptide, phase II
<b>E 7389</b>	<i>Halichondria okadai</i> , démospouges	Cétone macrocyclique, phase II
<b>HTI 286</b>	<i>Cymbastela</i> , démosponges	Peptide linéaire, phase II
<b>Squalamine</b>	<i>Squalus acanthias</i> , requin	Aminostérol, phase II
<b>ET 743, Yondelis®, Trabectedin</b>	<i>Ecteinascidina turbinata</i> , tuniciers	Alcaloïde, phase III
<b>AE 941, Néovastat®</b>	<i>Squalus acanthias</i> , requin	Cartilage, phase III
<b>Nom de la molécule</b>	<b>Mode de production</b>	<b>Firme propriétaire</b>
<b>Dehydrodidemnine B</b>	Synthèse chimique	PharmaMar
<b>Dolastatine 10</b>	Synthèse chimique	National Cancer Institute
<b>Cématodine, LU 103793</b>	Synthèse chimique	Abbott Gmbh et co
<b>Synthadotine, ILX 651</b>	Synthèse chimique	ILEX
<b>Bryostatine 1</b>	Aquaculture et synthèse chimique	GPC biotech
<b>Kahalalide F</b>	Synthèse chimique	PharmaMar
<b>E 7389</b>	Synthèse chimique	Eisei
<b>HTI 286</b>	Synthèse chimique	Wyeth
<b>Squalamine</b>	Synthèse chimique	Genaera Corporation
<b>ET 743, Yondelis®, Trabectedin</b>	Aquaculture et hémisynthèse	Zeltia/Pharmamar
<b>AE 941, Néovastat®</b>	Synthèse mécanique	Aeterna

<b>Nom de la molécule</b>	<b>Mécanisme d'action</b>	<b>Type de tumeurs</b>
<b>Dehydrodidemnine B</b>	Cytotoxique, ornithine decarboxylase	Carcinome rénal, cancer du colon, cancer de la thyroïde, tumeurs solides.
<b>Dolastatine 10</b>	Cytotoxique, inhibition de l'assemblage des microtubules	Cancer colorectal (peu efficace), cancer de la prostate (peu efficace)

<b>Cématodine, LU 103793</b>	Cytotoxique, inhibition de l'assemblage des microtubules	Cancers du poumon (peu efficace), ovaires, prostate, colon
<b>Synthadotine, ILX 651</b>	Cytotoxique, inhibition de l'assemblage des microtubules	Cancer du poumon, cancer de la prostate refractaire aux hormones
<b>Bryostatine 1</b>	Antitumoral, module activité de la PKC	Mélanome, cancers de l'œsophage, poumon non à petites cellules, leucémies, carcinome rénal
<b>Kahalalide F</b>	Cytotoxique, interagit avec les lysosomes	Mélanome, cancer du poumon
<b>E 7389</b>	Cytotoxique, inhibition de l'assemblage des microtubules	Cancer des voies respiratoires
<b>HTI 286</b>	Cytotoxique, inhibition de l'assemblage des microtubules	Cancer du poumon non à petites cellules
<b>Squalamine</b>	Anti angiogénique par action directe sur les cellules endothéliales	Cancer des ovaires, cancer du poumon non à petites cellules
<b>ET 743, Yondelis®, Trabectedin</b>	Agent alkylant de l'ADN	Sarcomes des tissus mous, cancer de l'ovaire
<b>AE 941, Néovastat®</b>	Action pleiotropique : anti angiogénique	Cancer du rein, cancer du poumon non à petites cellules

<b>Nom de la molécule</b>	<b>Phase clinique</b>
<b>Dehydrodidemnine B</b>	Médicament orphelin en 2004 pour les LLA
<b>Dolastatine 10</b>	Echec en phase II, sept essais encore en cours

<b>Cématodine, LU 103793</b>	Echec en phase II sur les mélanomes et le cancer respiratoire
<b>Synthadotine, ILX 651</b>	Molécule non toxique et bien tolérée
<b>Bryostatine 1</b>	Médicament orphelin en 2001 pour le cancer de l'œsophage
<b>Kahalalide F</b>	Toxicité neurologique à évaluer
<b>E 7389</b>	Les essais continuent pour les tumeurs solides, les cancers de la prostate et les sarcomes
<b>HTI 286</b>	Traitement des tumeurs malignes du foie, effet bénéfique à prouver
<b>Squalamine</b>	Médicament orphelin en 2001 pour le cancer de l'ovaire réfractaire à la chimiothérapie
<b>ET 743, Yondelis®, Trabectedin</b>	Médicament orphelin pour le sarcome des tissus mous
<b>AE 941, Néovastat®</b>	Médicament orphelin en octobre 2002 pour les carcinomes rénaux en oncologie pédiatrique et le cancer du poumon non à petites cellules

Partie 2  
Le cartilage de  
requin en  
thérapeutique  
anticancéreuse

## **Partie 2 : Le cartilage de requin en thérapeutique anticancéreuse**

### **I. Le requin et le cancer.**

Au bout de trente ans d'autopsie de toutes sortes de poissons il a été découvert qu'un requin sur un million développe un cancer ce qui n'est ni le cas des autres poissons ni des mammifères marins des mers et des océans chez lesquels la fréquence du cancer est incomparablement plus élevée.

Une étude informatique du répertoire des tumeurs de l'Institut Smithsonian montre que sur quelques quatre mille cinq cent rapports d'autopsies de requins, publiés par environ trois mille établissements spécialisés dans l'étude de cet animal, on n'a relevé que trente diagnostics de cancers dont quinze étaient erronés. En fait l'ensemble des autopsies de cadavre de requins pratiquées par les chercheurs montrent que le total des tumeurs cancéreuses chez les requins monte à moins de 1% du total des tumeurs diagnostiquées chez l'ensemble d'autres poissons. La fréquence du cancer chez cet animal est de un sur un million (Sidney et Boubekry, 1994). Le cancer est particulièrement rare chez cet animal, cent fois plus rare que chez les autres poissons (Voir le site internet de Biogassendi).

### **II. Le requin et le cartilage.**

#### **II.1 Quelle spécificité possèdent les requins ?**

Afin de pouvoir expliquer ce faible taux de cancer chez les requins, des chercheurs ont voulu découvrir les particularités de l'organisme des squales que ne possédaient ni les autres poissons ni les mammifères marins.

Ils se sont alors penchés sur le squelette des requins et ont ainsi pu remarquer que leur squelette était entièrement constitué de cartilage et il n'y a pas un seul os, à l'inverse de

tous les animaux terrestres aériens ou marins à la seule exception des raies et des poissons scies et bien sur des invertébrés. Le cartilage constitue environs 6% de leur poids total.

## II.2 Le cartilage.

Le cartilage est un tissu conjonctif. Il est constitué par une substance non calcifiée, translucide et élastique qui se forme à partir de cellules du sang qui se différencient et se spécialisent pour se transformer en cartilage et ceci dès la croissance de l'embryon. La particularité du cartilage est qu'au contraire des os, il ne comporte ni canaux, ni vaisseaux, ni fibres nerveuses et pas non plus de système lymphatique. La nutrition du cartilage ne se fait donc ni au moyen du sang ni au moyen de la lymphe. En revanche, l'un des principaux constituants du cartilage est l'eau. C'est au moyen des éléments nutritifs transportés par l'eau que les cartilages se nourrissent. En effet, les mouvements même du corps provoquent des compressions et des dilatations des cartilages au cours desquels ces tissus, par un phénomène semblable à celui de la respiration cellulaire, échangent leur eau interne dont ils ont absorbés les nutriments contre l'eau du corps. Sans mouvement, le flux de l'eau dans le cartilage va se ralentir, voir cesser, donc le cartilage ne sera plus nourri, les cellules du cartilage ne recevront plus de nutriments, les sels de calcium intercellulaires vont progressivement gélifier et durcir le cartilage ce qui va entraîner la destruction des cartilages (Sidney et Boubekry, 1994).

## II.3 Cartilage de veau et cartilage de requin : début de l'efficacité.

Les premières expériences qui avaient pour but de déceler une efficacité et menées sur le cartilage ont été réalisées sur du cartilage de veau, cependant, ces expériences étaient limitées par le manque de ce cartilage.

C'est ainsi qu'analysant les protéines contenues dans le cartilage des squales le docteur Luer, du Mote Marine Laboratory de Sarasota, avait fini par en isoler une demie douzaine qui avaient la faculté de bloquer la croissance des capillaires et des vaisseaux sanguins.

Dans une publication ultérieure, faite dans la revue Science, (vol 221 numéro 4616 pages 1185-1187) le 16 septembre 1983, sous le titre : « Le cartilage de requin contient des inhibiteurs de l'angiogenèse des tumeurs », les docteurs Langer et Lee (auteurs de cette

revue), et chercheurs au Massachusetts Institute of technology écrivait : « le cartilage de l'épaule de veau contient une substance qui inhibe la vascularisation des tumeurs solides.

Quand on introduit cette substance chez des lapins et des souris, on n'observe aucun effet toxique, en revanche la croissance de nouveaux vaisseaux sanguins en direction de la tumeur cesse ainsi que la croissance de la tumeur. Le seul facteur qui limite des études ultérieures de cette substance est de se la procurer. Les quantités de cartilage disponibles chez les mammifères sont faibles » (Sidney et Boubekry, 1994).

#### II.4 Lien entre cancer et cartilage.

Afin de déterminer les liens qui existent entre le cancer et le cartilage, des expériences ont été mises au point :

##### A. Sur les animaux.

Il faut savoir que les requins constituent une source possible de cartilage puisqu'au contraire des mammifères, leur squelette est entièrement constitué de cartilage. Celui-ci constitue 6% de leur poids total pour 0,6 % chez le veau.

Dans leur article, les deux praticiens Langer et Lee disaient encore s'être procuré des requins de plus de six mètres et de plus de quatre cent kilogrammes de la Fresh Water Compagny de Boston. Les animaux avaient été dépecés et on avait récupéré leur cartilage, conservé à -20 degrés celsius. Ils avaient pu ainsi récupérer un milligramme d'extrait de cartilage pour le traitement de cinq cent milligrammes de cartilage brut.

Ayant fait une préparation d'extrait de cartilage de requin, ils en avaient implanté de petites boulettes derrière la cornée de lapins blancs de Nouvelle Zélande et pour contrôler l'expérience ils avaient fait la même chose sur d'autres lapins blancs mais avec des boulettes qui ne contenaient pas d'extraits de cartilage de requin.

Après quoi ils avaient inoculé aussi bien aux animaux de l'expérience qu'aux animaux témoins un produit hautement cancérigène et particulièrement virulent en les plaçant derrière les boulettes. Le résultat de l'expérience a été spectaculaire : les animaux témoins équipés de boulettes sans cartilage ont développé de grosses tumeurs entourées par des vaisseaux sanguins de six millimètres de long en moyenne alors que les lapins de l'expérience équipés

de boulettes emplies d'extraits de cartilage de requin ne présentaient aucun développement de tumeurs cancéreuses et aucun développement de vaisseaux sanguins.

De plus, le développement des vaisseaux sanguins chez les lapins témoins avait pris quatorze jours, c'est alors qu'avait commencé l'expansion des tumeurs qui s'étaient développées d'une façon spectaculaire en cinq jours (Sidney et Boubekry, 1994).

Dans une seconde expérience réalisée par le docteur Ghanem Atassi, il s'agissait de démontrer que le produit n'était pas toxique, ceci a été démontré sans difficulté en faisant absorber à des rats de très fortes doses de cartilage qu'ils ont très bien supporté.

Il s'agissait également de démontrer l'efficacité du produit dans le traitement de la leucémie. Il avait donc inoculé des cellules leucémiques à deux groupes de souris préparées dès leur naissance de manière à ce qu'elles soient dépourvues de système immunitaire. Un groupe de souris était traité par du cartilage de requin à des doses de cinquante à trois cent milligrammes administrés par voie orale, l'autre groupe pas n'était pas traité.

Les souris traitées au cartilage avaient une durée de vie moyenne supérieure d'environ un tiers à celles inoculées mais qui n'avaient pas reçu le cartilage (Sidney et Boubekry, 1994).

Dans une autre expérience, le docteur Atassi inocula des cellules de mélanome provenant de tumeurs humaines à quarante souris. La moitié d'entre elles a été traitée par du cartilage de requin.

On leur administrait par voie orale une solution de cartilage à raison de mille deux cent milligrammes par kilo c'est-à-dire par exemple qu'une souris pesant deux cent cinquante grammes recevait chaque jour trois cent milligrammes de la solution. Les animaux de contrôle ne recevaient aucun traitement. On mesurait l'état des tumeurs toutes les trois semaines. Au bout des trois premières semaines, les souris traitées par la solution de cartilage présentaient des tumeurs réduites de 17% par rapport à leur taille initiale alors que les tumeurs des animaux de contrôle avaient doublé de volume dans le même temps. Il a également été observé que chez les animaux de contrôle qui n'avaient pas été traités au cartilage, les tumeurs ne se développaient que plus de deux semaines après l'inoculation et que c'est au cours de ces deux semaines que la tumeur fabriquait le réseau de vaisseaux sanguins nécessaire à son développement.

Le cartilage administré par voie orale avait pour effet d'enrayer la croissance des tumeurs et il faisait même diminuer les tumeurs de 40% en vingt et un jours tandis que les tumeurs des

animaux non traités augmentaient de deux fois et demie leur volume (Sidney et Boubekry, 1994).

## B. Sur les humains.

En 1985, une étude publiée par le Dr Prudden (chirurgien pionnier dans l'utilisation du cartilage dans la cicatrisation des blessures) montre pour la première fois trente et un patients cancéreux et atteints de tumeurs diverses, traités avec succès par du cartilage utilisé comme stimulant immunitaire et inhibiteur léger d'angiogenèse. L'effet inhibiteur majeur du cartilage de requin a été alors démontré et les patients ont été suivis sur onze ans, afin de mesurer le succès à long terme du traitement. Le docteur Prudden avait commencé son étude en 1972 sur des patients pour lesquels on estimait que l'irradiation et la chimiothérapie n'avaient plus aucune utilité.

Le docteur Prudden a pu démontrer une régression tumorale sans les effets indésirables de la chimiothérapie, de l'irradiation ou de la chirurgie.

45% de réponse complète au traitement avec guérison probable ou possible, ainsi donc onze cas sur trente et un dont :

- une patiente avec un cancer du col de l'utérus, sans récurrence de la maladie depuis plus de 7 ans
- un patient atteint d'un carcinome pancréatique, sans récurrence depuis 8 ans.
- un patient atteint d'un cancer squameux du nez, sans récurrence depuis 5 ans.

26% de réponse complète avec rechute (nouvelles lésions ou réapparition d'anciennes)

19% de réponse partielle (régression de 50% de la taille des lésions ou des marqueurs de tumeurs)

3% de progression de la maladie (augmentation de 25% en taille de n'importe quelle lésions ou marqueur de la tumeur

7% sans changement

Le docteur Prudden en conclut que le cartilage avait « un effet inhibiteur majeur sur un large spectre de cancers » (Voir le site internet de Biogassendi).

### **III. Essais du cartilage sur les tumeurs.**

#### **III.1 Tumeurs abdominales.**

A la fin des années 1980 au Costa Rica, le docteur C. Alpizar de l'hôpital de la Sécurité Sociale, a traité un patient souffrant d'une tumeur abdominale inopérable de dix centimètres de diamètre dans l'abdomen. Le malade ne faisait plus l'objet d'aucun traitement classique. Il était donc nécessaire de trouver une autre alternative. Le traitement consistait à faire absorber au patient par voie orale avant chacun des trois repas (petit déjeuner, déjeuner et dîner) quatre grammes de cartilage séché soit au total douze grammes par jour. En même temps qu'on administrait le traitement, on mesurait l'évolution de la tumeur. Au début, aucun changement notable, mais au bout d'un mois, la tumeur avait cessé de croître.

Après six mois de traitement constant à base de cartilage de requin, la taille de la tumeur avait diminuée de moitié. Le patient a retrouvé l'appétit, et a pu, au terme de ces six mois, mener une vie normale (Sidney et Boubekry, 1994) (Voir le site internet de Biogassendi).

#### **III.2 Cancer du sein.**

Au Mexique, les résultats d'études cliniques conduites par le Dr Van Zandt ont été rendus public en mai 1992. Des femmes atteintes d'un cancer avancé du sein avaient été traitées à raison de trente à soixante grammes par jour de cartilage de requin. Après six à huit semaines de traitement, les tumeurs avaient été réduites en volume et le tissu interne s'était nécrosé. Dans trois cas, les tumeurs avaient été encapsulées, et dans les deux cas où les tumeurs s'étaient attachées à la cage thoracique, ce qui habituellement en érode l'os, elles s'étaient dans ce cas détachées. Outre ces huit cas de cancer du sein, deux femmes atteintes de fibromes utérins ont témoigné de la disparition de leur tumeur (Voir le site internet de Biogassendi).

### III.3 Cancer du poumon.

Une équipe panaméenne, dirigée par Ella Ferguson, a également étudié l'effet du cartilage de requin sur le cancer du poumon. Un homme de quarante trois ans atteint d'un cancer du poumon au stade terminal et de métastases aux os et au cerveau, a prit des gélules de cartilage de requin à partir de novembre 1991. Aucune autre thérapie n'a été utilisée. De novembre 1991 à janvier 1992 on a pu observer une amélioration évidente de la capacité respiratoire, une cessation de la douleur dans la poitrine et les hanches. Cependant, les métastases cérébrales ont continué et la dose de cartilage de requin a été augmentée à trente grammes par jour, administrée par voie rectale. Mi février 1992, le patient s'est plaint de maux de tête et de troubles de la vision. Soixante-douze heures après la prise de dose passée à soixante grammes par jour, la douleur a diminué, les troubles de la vision se sont calmés et les symptômes ne sont pas réapparues (Voir le site internet de Biogassendi).

Les résultats d'une étude sans placebo publiée en 2003 et effectuée auprès de quarante-huit patients atteints d'un cancer du poumon inopérable, indiquent qu'à un dosage élevé (180 ml et plus par jour), le Néovastat® peut allonger la durée de vie des patients de six semaines environs (Voir le site internet de Passeport Santé).

Une étude a été menée, au North Central Cancer Treatment Group trial, afin de déterminer l'efficacité du cartilage de requin chez des patients atteints d'un cancer respiratoire. L'étude randomisée a été menée en double aveugle, contrôlée sous placebo. Les patients ont tous reçu des soins standards et ont ensuite soit un produit à base de cartilage de requin, soit un placebo trois ou quatre fois par jour. Les résultats ont montré que sur quatre-vingt-trois patients évalués, il n'y avait aucune différence en terme d'amélioration clinique et de qualité de vie entre les patients ayant reçu du cartilage de requin et ceux ayant reçu le placebo (Loprinzi C *et al.*, 2005).

### III.4 Cancer du foie.

Dans un autre cas, une patiente atteinte d'une tumeur avancée du foie a reçu soixante grammes par jour de cartilage de requin par lavement, sur huit semaines et sans aucun autre traitement que le cartilage de requin, la patiente a pu observer une rémission complète de la tumeur (Voir le site internet de Biogassendi).

Un essai clinique conduit à Cuba début 1993 a été effectué sur vingt-sept patients cancéreux en phase terminale ayant subi initialement actes chirurgicaux, de la radiothérapie, de la chimiothérapie, sans succès.

Chacun a reçu par lavement puis par voie orale une solution de soixante grammes par jour de cartilage de requin pur à 100%. La dose optimale pour un cancéreux en phase terminale était estimée à un gramme de cartilage de requin par kilo de poids de corps. Les tumeurs ont commencé à se réduire, la douleur à diminuer. Au terme de seize semaines, le premier essai clinique était terminé. 40% des sujets ont pu observer une amélioration significative de leur maladie (Voir le site internet de Biogassendi).

### III.5 Cancer du col de l'utérus.

Une patiente de quarante-huit ans atteinte d'un cancer inopérable du col de l'utérus avec des métastases dans la vessie avait été d'abord traitée par radiothérapie qui avait été sans effet. Elle présentait des ulcérations de la tumeur.

Après sept semaines de traitement par du cartilage de requin, la tumeur était réduite de 80% et après onze semaines de traitement, la tumeur était réduite de 100% c'est-à-dire qu'il ne restait de la tumeur qu'un tissu cicatrisé (Sidney et Boubekry, 1994).

Une femme de trente-deux ans atteinte d'un cancer du col de l'utérus accompagné d'un blocage des reins. On devait maintenir en permanence un cathéter dans l'urètre. Après sept semaines de traitement par du cartilage de requin, la tumeur avait diminué d'au moins

40% et le cathéter n'était plus nécessaire. Au bout de onze semaines, la tumeur avait diminué de 60% (Sidney et Boubekry, 1994).

Une patiente, âgée de trente-huit ans, était atteinte d'une tumeur résiduelle du col de l'utérus après hystérectomie. La radiothérapie n'avait donné aucun résultat. La patiente était dans un état général altéré et souffrait. Après six semaines de traitement par du cartilage de requin, elle présentait des signes subjectifs d'amélioration. La malade ne souffrait plus et la plupart des symptômes avaient disparu. La patiente a alors décidé d'arrêter le traitement après la septième semaine. Mais au bout de onze semaines, des tumeurs ont été découvertes dans les deux poumons. Il a donc été conclu que le traitement devait être poursuivi jusqu'à disparition totale des signes de la tumeur (Sidney et Boubekry, 1994).

### III.6 Adénocarcinome du rectum.

Un patient âgé de quarante-neuf ans atteint d'un adénocarcinome du rectum sans métastase, diagnostiqué le 27 juin 1994 devait subir à partir de juillet un traitement à base de cartilage de requin à raison de cent vingt grammes par jour. Le 26 août, le patient avait repris du poids et mangeait de nouveau, il ne souffrait plus et son état énergétique était redevenu excellent. Le 29 septembre 1994, la tumeur avait complètement disparu (Sidney et Boubekry, 1994).

### III.7 L'expérience de La Havane.

En 1993, une équipe de chercheurs et de médecins cubains et américains conduisaient une expérience à Cuba. Vingt-sept patients tous gravement atteints de divers cancers en phase terminale ont été sélectionnés.

Pour tenter de les sauver, les médecins avaient déjà eu recours à tout l'arsenal de la médecine traditionnelle : ablation chirurgicale des tumeurs, chimiothérapie, radiothérapie et rien n'y avait fait. Le cancer s'était de nouveau développé. Tous étaient condamnés à plus ou moins brève échéance. Les patients cancéreux souffraient également de carences alimentaires d'un déficit en vitamines et sels minéraux. Le protocole devait être scrupuleusement respecté afin que les résultats obtenus soient parfaitement significatifs, ainsi, les patients étaient sous

surveillance permanente des médecins, des appareils de contrôle modernes avaient été installés pour la surveillance des malades.

Les chercheurs avaient décidé d'administrer à chaque patient une dose quotidienne de soixante grammes de cartilage de requin. Le protocole prévoyait l'administration par lavement d'abord puis, dans un deuxième temps, par voie orale pour certains patients ainsi qu'une augmentation ultérieure des doses.

Les résultats n'étaient malheureusement pas aussi concluant que ceux qu'espéraient les chercheurs sans doute dus au très mauvais état général des patients qui n'étaient pas convenablement nourris.

Néanmoins, une amélioration significative a été notée dans 40% des cas. Les médecins ont conclu, pour cette expérience, que le cartilage de requin ne guérissait pas les malades mais il améliorait de façon spectaculaire leur condition de vie et jouait de toute façon un rôle adjuvant. Pour dix-huit des vingt-sept patients les résultats cas par cas étaient les suivants :

- Chez le premier patient de quatre-vingt-deux ans, souffrant d'un cancer de la prostate avec métastase dans les os, en deux semaines, la douleur avait été supprimée et en quatre mois la tumeur était réduite de 58%.

- Chez le deuxième patient de cinquante-six ans, atteint d'un cancer du cerveau et dont la tumeur avait fait l'objet d'une ablation chirurgicale, suivi d'une radiothérapie et d'une chimiothérapie, la tumeur avait cessé d'augmenter au bout de quatre mois de traitement mais le malade éprouvait des difficultés à parler. Son état général semblait cependant nettement amélioré.

- Chez le troisième patient de soixante-treize ans, atteint d'un cancer de la langue qui l'empêchait de s'alimenter, la tumeur avait diminué de 53 % au bout de quatre mois de traitement, le malade pouvait de nouveau manger puis la tumeur avait recommencé à se développer.

- Chez le quatrième patient de soixante-douze ans, atteint d'un cancer de l'œsophage, avec un blocage de la gorge qui l'empêchait de s'alimenter, la tumeur avait d'abord diminué puis repris son développement.

- Chez la cinquième patiente de quarante-sept ans, atteinte d'une tumeur des ovaires de quatre vingt dix centimètres, au bout de six semaines de traitement, on avait observé une réduction de cinq centimètres de la tumeur qui s'était détachée de la paroi pelvienne et qui était devenue opérable. La tumeur a pu être éliminée par chirurgie.

- Chez la sixième patiente de quarante-deux ans, atteinte d'un cancer du sein avec des métastases aux poumons et au foie, la tumeur n'avait pas régressé et la patiente devait décéder avant la fin du quatrième mois de traitement.

- Chez la septième patiente de soixante ans, atteinte d'un cancer du sein avec des métastases dans les os, au bout de quatre mois de traitement, le cancer des os semblait continuer de se développer sans aucune amélioration visible.

- Chez la huitième patiente de soixante-trois ans, atteinte d'un cancer des ovaires avec des métastases au poumon droit et au foie, (la radiographie avait montré que le poumon contenait deux litres de liquide produit par la tumeur), au bout de six semaines de traitement le liquide avait disparu du poumon ce qui, de l'avis des médecins pouvait être attribué à l'absorption de diurétiques. Mais la patiente devait décéder avant la fin du traitement.

- Chez la neuvième patiente de cinquante-sept ans, atteinte d'un cancer du sein associé à des métastases au poumon, le traitement devait faire diminuer la douleur de manière notable mais la patiente devait décéder avant le quatrième mois.

- Chez la dixième patiente de quatre-vingt-un ans, atteinte d'un cancer du sein avec des métastases aux os, au bout de six semaines de traitement, la tumeur avait régressé de soixante cinq sur quarante-neuf millimètres à vingt-quatre sur trente-deux millimètres mais au bout de quatre mois, on n'avait plus observé de guérison.

- Chez la onzième patiente de soixante-dix ans, atteinte d'un cancer du colon avec des métastases au foie, au bout de six semaines de traitement, la tumeur initiale de trente-trois sur

quarante-neuf millimètres avait régressé à vingt-quatre sur trente-deux millimètres mais, au bout de six semaines la tumeur du foie avait empiré.

- Chez la douzième patiente de soixante-trois ans, atteinte d'un cancer du sein et qui avait subi une mastectomie à la suite de laquelle la tumeur avait engendré des métastases sur la paroi thoracique, au bout de six semaines de traitement, les symptômes avaient disparu et la patiente a choisi d'arrêter le traitement.

- Chez le treizième patient, de quarante-neuf ans, atteint d'un cancer du foie qui s'était étendu à la peau au bout de six semaines de traitement, les douleurs avaient disparu mais on observait un dysfonctionnement du foie. Au bout de treize semaines, le patient ne souffrait toujours plus mais le foie avait grossi. Toutefois, les médecins estimèrent que l'amélioration obtenue permettait une transplantation du foie.

- Chez le quatorzième patient de vingt-deux ans, atteint d'un cancer du cerveau sans métastase et qui avait déjà fait l'objet d'une ablation chirurgicale, au bout de seize semaines de traitement, il n'y avait aucun signe de croissance de la tumeur.

- Chez le quinzième patient, de cinquante-neuf ans atteint d'un cancer du cerveau qui avait fait l'objet d'une ablation chirurgicale, la pression intracrânienne pendant le traitement était telle qu'une nouvelle opération fut jugée nécessaire. L'intervention chirurgicale faisait apparaître d'une part, une nouvelle tumeur qui s'était développée et d'autre part, une masse tumorale nécrosée dont la nécrose résultait selon toute vraisemblance du traitement.

- Chez le seizième patient de dix-huit ans, atteint d'un cancer du cerveau, la tumeur avait été éliminée par une intervention chirurgicale à la suite de laquelle le patient ayant perdu le sens de l'équilibre était incapable de marcher. Au bout de six mois de traitement, l'amélioration des centres nerveux se poursuivait.

- Chez le dix septième patient de soixante-dix ans, atteint d'un cancer de la prostate avec des métastases aux os du bassin au bout de quatre semaines de traitement, l'examen radiologique faisait apparaître que le cartilage de requin avait vraisemblablement permis la formation d'un nouvel os du bassin là où la tumeur avait rongé le précédent. Malheureusement, le patient est décédé avant la fin du traitement d'une occlusion sans relation avec le cancer.

- La dix huitième patiente de quarante-sept ans, atteinte d'un cancer d'une amygdale qui s'était étendu au système lymphatique, a survécu six semaines grâce au traitement. Les médecins estimaient cette prolongation comme significative mais elle devait décéder dans la septième semaine (Sidney et Boubekry, 1994).

Dans certains cas l'absorption par voie orale de fortes doses de la solution avaient provoqué des troubles gastriques mineurs et la formation de gaz. L'administration par voie rectale n'a pas provoqué de troubles gastriques ni intestinaux et elle n'avait pas non plus provoqué de modifications de la muqueuse intestinale. Comme les doses administrées à chaque patient étaient variables, les chercheurs ont donc pu noter que la dose optimale à administrer est de un gramme par kilo et par jour.

C'est la dose qui permet la régression la plus rapide de la tumeur et le cas échéant la disparition des symptômes d'autres maladies comme le psoriasis, l'arthrite ... (Sidney et Boubekry, 1994).

Les résultats de l'expérience étaient loin de démontrer que la solution de cartilage de requin est capable de faire régresser les tumeurs de manière significative voire de les faire disparaître. Toutefois il s'agissait de cas « désespérés » de patients qui se trouvaient en phase terminale. Deux de ces patients étaient âgés de plus de quatre-vingt ans, trois de soixante dix ans ou plus, quatre de soixante ans ou plus. Pour les autres, trois patients étaient âgés de plus de cinquante ans, quatre de plus de quarante ans et enfin, on comptait deux jeunes patients de dix-huit et vingt-deux ans (Sidney et Boubekry, 1994).

### III.8 Etude de phase I-II.

Soixante patients atteints de divers cancers ont été inclus dans cette étude de phase I-II.

- cancer respiratoire : seize patients
- cancer colorectal seize patients
- cancer du poumon : quatorze patients
- cancer de la prostate : huit patients

- lymphome non hodgkinien : huit patients
- cancer du cerveau : un patient
- tumeurs primaires non connues : deux patients

La dose a été administrée en sous-cutanée à raison de 1 g/kg/j divisée en trois doses. Les résultats ont montré que dix des soixante patients ont stoppé l'étude après six semaines d'évaluation et n'ont donc pas pu être pris en compte dans l'efficacité du produit. Trois autres patients ont abandonné l'étude. Sur les quarante-sept patients restant, cinq ont arrêté l'étude du fait de l'apparition, au cours de l'étude, de douleurs gastrointestinales. Une progression de la maladie est apparue chez vingt-sept patients, cinq patients sont décédés durant l'étude. 16,7% des soixante patients inclus dans l'étude ont obtenu une stabilité de leur maladie pendant quelques mois. Vingt et un effets indésirables ont été observés dont quatorze concernaient des troubles gastroentérologiques (nausées, vomissements et constipation). En conclusion, l'administration en sous-cutanée de cet agent n'est pas efficace et n'améliore pas la qualité de vie des patients atteints de cancers. Le résultat obtenu ici, (16,7%) est le même résultat obtenu pour des patients qui sont traités par des soins intensifs mais sans thérapie anticancéreuse (Miller *et al.*, 1998).

## IV. Quel mécanisme d'action ?

### IV.1 Rappel sur le rôle des vaisseaux sanguins dans le développement des tumeurs.

Les tumeurs cancéreuses ont besoin, pour se développer d'une quantité abondante de nutriments et notamment de beaucoup d'oxygène qui sont véhiculés par le sang et par la lymphe. De plus, le développement des tumeurs massives s'accompagne toujours d'une néovascularisation, plus vigoureuse et plus continue que celles qui accompagnent une blessure ou une inflammation. Il existe une interaction étroite entre la croissance des cellules d'une tumeur et celle des vaisseaux sanguins. En effet, les cellules de la tumeur stimulent la prolifération des cellules endothéliales (les cellules des vaisseaux sanguins) et ces cellules endothéliales peuvent avoir un effet sur la prolifération des cellules tumorales (Voir le site internet de Biogassendi).

### IV.2 Rappel sur l'angiogénèse.

L'angiogénèse se réfère à la formation de nouveaux vaisseaux sanguins pendant le développement ou la croissance d'un individu, ou le remplacement de vaisseaux endommagés dans un tissu existant.

Chez un adulte normal, le réseau sanguin est définitivement établi. L'angiogénèse ne se produit qu'à de rares occasions : pendant l'ovulation et la grossesse et par exemple au cours de la guérison de blessures et de fractures (Voir le site internet de Biogassendi).

### IV.3 Pourquoi le cartilage est il anti angiogénique ?

Dans les embryons de poulet, le « bouton embryonnaire » est nourri par des capillaires. Un de ces capillaires près du centre s'élargit et forme une artère majeure. Près de cette artère, dans le cœur du limbe embryonnaire, les capillaires restant disparaissent.

Au quatrième jour du développement de l'embryon, plus aucun capillaire ne demeure dans le cœur du limbe. A son pourtour, l'artère principale devient un réseau capillaire complexe.

Les cellules situées au centre même du limbe, produisent probablement une substance qui inhibe la vascularisation. Ces cellules finissant par se transformer en cartilage.

La substance qui inhibe la vascularisation, semble être présente dans le cartilage pendant toute la vie du tissu et est probablement la raison pour laquelle le cartilage est anti angiogénique (Voir le site internet de Biogassendi).

### IV.4 Comment le cartilage induit il l'apoptose ?

Le cartilage de requin empêche la prolifération des cellules endothéliales en provoquant l'apoptose de ces cellules spécifiquement. Or comme nous l'avons déjà précisé, la prolifération des cellules endothéliales est la première étape dans la construction des vaisseaux sanguins.

Par ailleurs, le cartilage inhibe la croissance de certaines enzymes qui permettent d'ouvrir une brèche dans la paroi d'un vaisseau existant afin de lancer une nouvelle ramification en direction de la tumeur, ces enzymes appelées métallo protéases (MMP) désagrègent l'écorce du vaisseau sanguin (la matrice extracellulaire) ce qui ouvre la voie à la migration des cellules endothéliales qui formeront un nouveau vaisseau en direction de la tumeur.

Lorsque la tumeur cancéreuse manque d'oxygène, elle réclame la formation de nouveaux vaisseaux sanguins et signale sa demande en relâchant des messagers chimiques.

Ces signaux rejoignent les récepteurs couvrant la paroi interne des vaisseaux sanguins et leur association à ces récepteurs induit la production des MMP, ces enzymes qui entaillent la paroi des vaisseaux afin de permettre la croissance d'une nouvelle branche destinée à alimenter la tumeur.

Tous ces processus préviennent la construction de nouveaux vaisseaux sanguins et « affament » la tumeur cancéreuse qui finit par étouffer et manquer d'oxygène. Exsangue et asphyxiée, la tumeur régresse. Si la tumeur est réduite à une petite taille et ne peut plus croître, elle n'est plus nocive (Voir le site internet Le devoir .com).

Il existerait une molécule de cartilage qui serait l'inhibiteur de l'angiogénèse. L'efficacité de certains composants du cartilage en tant qu'inhibiteur de l'angiogénèse est fonction de leur degré de purification. Plus les macromolécules isolées (en l'occurrence les protéines spécifiques du cartilage) étaient purifiées et plus l'inhibition était importante.

Des analyses d'extraits protéiques de cartilage de requin indiquent la présence de six ou sept protéines ayant la propriété d'inhiber la croissance des vaisseaux sanguins (Sidney et Boubekry, 1994).

## **V. Les utilisations thérapeutiques.**

### **V.1 Effet anti-inflammatoire.**

Il y a des possibilités que le cartilage de requin possède des effets anti-inflammatoires efficaces dans le soulagement de l'arthrite rhumatoïde. Des études ont démontré que les animaux qui avaient reçu lors d'expériences une injection de produits irritants souffrait moins et présentaient une diminution de l'inflammation après l'absorption d'extraits de cartilages de requin. Le cartilage de requin est une excellente source de calcium, de phosphore et contient des hydrates de carbone de la famille des mucopolysaccharides qui jouent un rôle critique dans la viscosité, la structure et la perméabilité de la substance de base tissulaire des cavités articulaires. L'acide hyaluronique qui contient de la glucosamine et de l'acide glucuronique

est un mucopolysaccharide critique parce qu'il prédomine au niveau de la surface articulaire et demeure un composant important du fluide synovial.

Le cartilage fournirait des constituants naturels qui aident à la reconstruction des parties articulaires atteintes en apportant des composés directement utilisables par l'organisme (du collagène, de la glucosamine et de la chondroïtine) (Voir le site internet [Ma santé naturelle.com](http://Ma_santé_naturelle.com)).

## V.2 Psoriasis.

Le cartilage serait efficace contre le psoriasis qui se caractérise par de l'inflammation et une prolifération de vaisseaux sanguins au niveau de la peau. Des études menées au Canada donnent des résultats encourageants.

Le cartilage de requin fait l'objet de beaucoup d'indications thérapeutiques chez l'Homme mais également chez les animaux à l'exemple du chien dans le traitement de l'arthrose. Il ne faut cependant pas oublier que son mécanisme d'action spécifique ne lui confère pas tous les bienfaits du monde.

Aucune toxicité n'a été repérée à l'heure actuelle cependant il ne devrait pas être utilisé chez la femme enceinte et chez des personnes souffrant d'infarctus ou ayant des antécédents cardiovasculaires.

## **VI. Conclusion sur le cartilage de requin.**

Le cartilage de requin n'empêchera pas la nécessité d'une intervention chirurgicale dans le cas de tumeurs fortement développées. Mais le principe de l'anti-angiogénèse en tant qu'inhibiteur du développement des tumeurs est bien établi. Et d'autre part, cette thérapie est la seule qui ne soit pas toxique et qui ne produise aucun effet secondaire ce qui n'est pas le cas de la chimiothérapie et la radiothérapie.

Des publications de chercheurs scientifiques en ont fait, on l'a vu, la démonstration évidente et toujours dans des cas désespérés. Dans ces cas où, les tumeurs étaient fortement développées avec, le plus souvent, des métastases, on n'a bien sûr, pas obtenu cent pour cent de remissions mais les résultats ont tout de même été spectaculaires. On peut donc penser que si le cartilage est administré dans le cas de petites tumeurs, dépistées dès le début de leur formation et non encore développées, l'effet anti angiogénique pourrait être maximal. Naturellement, le traitement pourra également être efficace dans les cas de récurrences après ablation de la tumeur, voir, le cas échéant, remplacer la chimiothérapie et la radiothérapie si parfaitement dommageables pour le reste de l'organisme.

Partie 3  
Les organismes  
producteurs

## Partie 3 : Les organismes producteurs

### I. Les tuniciers.

#### I.1 *Aplidium albicans* : DDB.

#### I.2 *Ecteinascidia turbinata* : ET 743.



#### A. Présentation générale.

Les tuniciers ou les uruchordés (la queue est soutenue par une fine baguette semi rigide, la chorde dorsale = chordée) doivent leur nom à leur tégument plus ou moins épais qui englobe et protège leur corps et que l'on nomme la tunique. Cette tunique est composée de tunicine (Voir le site internet de Mer et littoral).

Les tuniciers sont des animaux filtreurs, solitaires ou coloniaux, de quelques centimètres de long et qui vivent soit fixés à un substrat, soit sous forme pélagique c'est-à-dire en nage libre. Ce sont des animaux exclusivement marins qui peuplent toutes les mers du globe qu'elles soient polaires, tempérées et tropicales. On en connaît actuellement environs mille cinq cent espèces réparties inégalement en deux ou trois classes suivant les auteurs :

- la classe des larvacées.
- la classe des ascidiacés.
- la classe des thaliacés (Voir le site internet de Mer et littoral).

Au dessous de la tunique se situe le manteau, recouvrant les organes internes et qui possède deux ouvertures : une ouverture antérieure fermée par des valves par où pénètrent l'eau et les aliments, et une seconde ouverture : l'orifice de sortie dont la particularité est de pouvoir se fermer. Une ascidie de trois centimètres filtre un litre d'eau par heure (Voir le site internet cosmovisions).

Les tuniciers possèdent une bouche très large, placée au fond de la cavité respiratoire. Ils possèdent également un œsophage cilié qui conduit à un estomac suivi lui-même d'un tube intestinal.

L'appareil circulatoire se réduit à un cœur simple et à deux vaisseaux importants qui partent du cœur et par leurs contractions ils fonctionnent à la fois comme des artères et comme des veines.

Le système nerveux est représenté par un ganglion et par des nerfs particulièrement fins (Voir le site internet cosmovisions).

Par ailleurs, les uruchordés ont la faculté de stocker les oligo-éléments par exemple le vanadium (Kornprobst, 2005).

## B. La reproduction.

Toutes les ascidies sont hermaphrodites.

Ainsi, dans le cas de la reproduction sexuée : les testicules et les ovaires forment une masse glandulaire situés de chaque côté du corps, par conséquent les produits sont expulsés soit à l'état d'œuf soit à l'état de larve.

Dans le cas d'une reproduction agame : elle se fait par bourgeonnement externe ou interne d'où il résulte la formation de colonies ou d'agrégation d'individus (Voir le site internet cosmovisions).

### C. L'appareil digestif.

Les tuniciers ont, comme les bryozoaires, un tube digestif généralement recourbé en forme d'anse. Ce dernier se compose d'un œsophage cilié, d'un estomac, un foie et un intestin (Voir le site internet cosmovisions ; voir le site internet de Mer et littoral).

## **II. Les mollusques.**

### II.1 *Dolabella auricularia*: dolastatine 10, cématodine, synthadotine.



#### A. Présentation générale.

Le *Dolabella* est un mollusque opisthobranch (branchies sur l'arrière du cœur), herbivore, de l'océan indien, qui a pour origine l'Indonésie. Il est apparenté aux aplysies des côtes atlantiques et méditerranéennes.

Leur taille varie de huit à quinze centimètres.

L'embranchement des mollusques contient plus de cent trente mille espèces dont certaines sont très fréquemment consommées par l'Homme.

## B. Evolution.

Les mollusques descendraient d'une organisation type « vers ». On estime leur apparition à au moins cinq cent millions d'années.

Les mollusques possèdent deux caractéristiques spécifiques propres à leur fonctionnalité : la radula : organe fonctionnant comme une sorte de râpe porteuse de dents chitineuses qui permet à l'animal de se nourrir plus efficacement. La radula permet en fait d'arracher de la nourriture sur des proies telles que des éponges, ou des algues.

Leur deuxième caractéristique est le « blindage » permettant de se protéger de prédateurs actifs ils ont en effet des plaques calcaires protégeant leur dos (Voir le site internet Wikipedia mollusques).

## C. Description.

Tous les mollusques ont un corps non segmenté (invertébrés) à symétrie bilatérale.

Leur tégument est mou, il contient de nombreuses glandes qui secrètent du mucus.

Leur corps se subdivise en quatre parties :

- La tête qui contient les organes sensoriels et la bouche.
- Le pied est un organe musculeux, typique des mollusques, destiné à la locomotion. Il revêt des formes très diverses suivant les espèces.
- La masse viscérale contient des viscères, elle est contenue dans une mince tunique qu'on appelle le manteau. C'est le manteau qui secrète la coquille des mollusques qui leur sert de protection (Voir le site internet Wikipedia mollusques).

Les mollusques possèdent des organes développés leur permettant d'assurer des fonctions physiologiques souvent complexes. Il existe un système digestif avec une bouche, un œsophage, un estomac et un anus. Il existe également un système circulatoire avec un cœur et du sang à base d'hémocyanine, et un système reproducteur avec des gonades, la reproduction étant toujours sexuée.

Il existe enfin un système nerveux.

La circulation est incomplète : du cœur partent de courtes artères mais il n'y a ni veines, ni capillaires.

Le sang est incolore ou légèrement coloré par de l'hémocyanine ou de l'hémoglobine dissoute. (Voir le site internet Wikipedia mollusques).

#### D. Alimentation.

Les mollusques peuvent être détritivores, suspensivores (microphages), herbivores ou carnivores et l'on retrouve souvent, parmi leurs métabolites, des substances provenant directement ou indirectement de leur régime alimentaire.

Les mollusques dépourvus de coquille ou d'autre protection mécanique imprègnent leur manteau avec des substances toxiques ou répulsives qui sont en général prélevées sur d'autres invertébrés, les exemples les plus connus et les plus étudiés sont, à cet égard, ceux des relations entre les aplysies (herbivores) et les algues (rouges ou brunes) et ceux des relations entre les nudibranches (carnivores) avec les éponges et les hydrozoaires (Kornprobst, 2005).

#### E. Caractères généraux de l'ordre des *anaspidea*.

Cet ordre ne comporte que la superfamille des *aplysioidea* dans laquelle se trouve la famille des *aplysiidae* qui regroupe les aplysies (lièvre de mer ou sea hare).

Les aplysies ont le corps entièrement mou et sont pourvues d'un moyen très rudimentaire de locomotion, en fait, une extension du manteau qui leur permet de ramper sur le substrat ou de se déplacer en pleine eau (Kornprobst, 2005).

Ces mollusques sont strictement herbivores et consomment souvent une catégorie particulière d'algues rouges et ou brunes mais également des cyanobactéries. Ainsi, les aplysies qui consomment préférentiellement les algues brunes contiennent les diterpènes souvent caractéristiques de celles-ci, en particulier les diterpènes du dolabellane dont le nom fait également référence au genre *Dolabella* où ces diterpènes ont été isolés pour la première fois. Le genre *Dolabella* est également connu pour une série de peptides et de dispeptides cycliques, les dolastatines et autres molécules apparentées (Kornprobst, 2005).

L'isolement à partir de micro-organismes aquatiques (bactéries, micro-algues) de molécules similaires ou identiques à celles isolées des organismes marins (éponges, mollusques...) suggère que ces derniers ne sont pas toujours les réels producteurs de ces métabolites, mais qu'ils les accumulent en ingérant les bactéries productrices, c'est ainsi que la dolastatine 10 isolée du mollusque *Dolabella auricularia* a également été isolée de la cyanobactérie *Symploca hydroides* VP 642 et l'on observe des analogies entre la symplostatine 1 et les D10/D12 (Proksch *et al.*, 2002).

## II.2 *Elysia rufescens* : Kahalalide F.



### A. Présentation générale.

L'ordre des sacoglosses se différencie très nettement de celui des opisthobranches par quelques aspects fondamentaux.

Le premier concerne le régime alimentaire : contrairement aux nudibranches carnivores, la plupart des sacoglosses sont herbivores avec une préférence pour les algues et beaucoup d'entre eux ont la faculté d'emmagasiner dans leur tissus des chloroplastes fonctionnels afin de les utiliser pour produire des allomones de défense qu'ils ne peuvent acquérir par la consommation d'autres invertébrés. Certains sacoglosses peuvent ainsi être considéré comme « photosynthétique ».

Un autre aspect distingue nettement les sacoglosses des nudibranches est la synthèse de polypropionates qui n'ont pas encore été observés chez un nudibranche.

Enfin, dernière différence d'ordre morphologique : les sacoglosses peuvent avoir une véritable coquille, une coquille réduite, ou être totalement dépourvus de coquille comme les nudibranches (Voir le site internet de la Reserve Naturelle marine de Cerbère-Banyuls).

### III. Les bryozoaires, *bugula neritina* : bryostatine 1.



Culture de *Bugula*

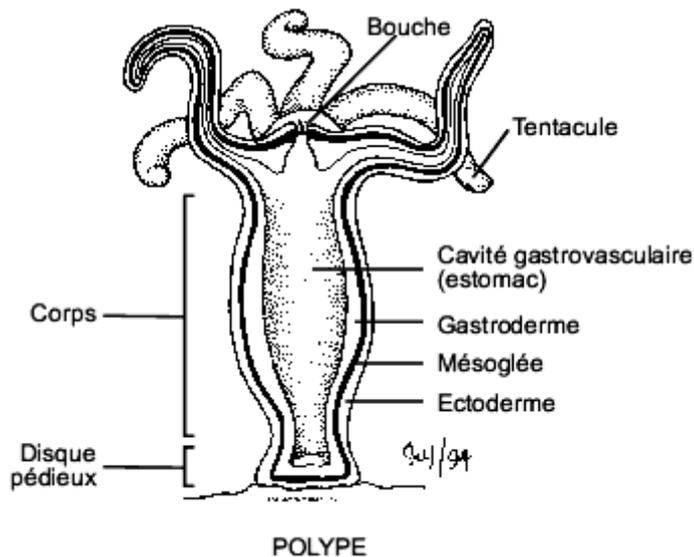
#### A. Présentation générale.

Le terme bryzoaire vient du grec *bruon* = mousse et *zoon* = animal.

Les bryozoaires sont des animaux fixes, vivant en colonies, il existe actuellement cinq mille espèces de bryozoaires répartis sur tous types de substrats : roche, sable, animaux et à toutes les profondeurs.

Les colonies sont très diversifiées selon les espèces : la moyenne est de l'ordre de quelques centimètres mais certaines colonies peuvent aller jusqu'à quelques mètres (Voir le site internet [bishopmuseum](http://bishopmuseum.org), *bugula neritina*).

## B. Morphologie.



On appelle colonie, la partie visible et englobe plusieurs centaines d'individus. Chaque individu (appelé également zoïde) a une taille de l'ordre du millimètre. La forme générale d'un zoïde est similaire d'une espèce à une autre (Voir le site internet les bryozoaires).

La présence d'un lophophore chez les zoïdes est une caractéristique importante des bryozoaires. Le lophophore est la couronne de tentacules qui entoure la bouche et qui permet au zoïde de se nourrir et de respirer (Voir le schéma ci-dessus).

Le zoïde est séparé en deux parties : le cystide et le polypide. Le cystide partie secrétée par la colonie englobe le polypide. Le polypide est composé de tous les organes du zoïde.

Les bryozoaires ont montré une avancée dans l'évolution anatomique : en effet, cet animal possède des organes évolués tels que l'estomac, une bouche, un anus séparé et une communication nerveuse entre les êtres d'une même colonie (Voir le site internet les bryozoaires).

Ces animaux se nourrissent par l'intermédiaire du lophophore, en effet, l'activation des muscles pariétaux crée une augmentation de la pression interne du polypide, faisant ainsi sortir le lophophore.

Le mouvement du lophophore crée un courant d'eau permettant ainsi à l'animal de se nourrir. La rétractation du lophophore est réalisée par des muscles puissants et plus rapides que la propulsion (Voir le site internet les bryozoaires).

Toutes les espèces de bryozoaires ont des zoïdes autonomes, ces zoïdes sont présents à la naissance d'une colonie et servent à la nutrition.

Les bryozoaires se répartissent en trois classes :

- les phylactolèmes : uniquement les espèces d'eau douce.
- les sténolèmes : les espèces fossiles.
- les gymmolèmes : les espèces à squelette.

### C. La nutrition.

Les bryozoaires sont des animaux filtreurs. Ils se nourrissent de petits organismes planctoniques capturés et transportés jusqu'à la bouche grâce au lophophore.

Leur équipement enzymatique digestif étant davantage adapté à la digestion de protéines végétales qu'animales.

En colonie, les algues, éponges, oursins et petits crustacés sont les principaux prédateurs des bryozoaires (Voir le site internet les bryozoaires).

### D. La reproduction.

Les bryozoaires sont caractérisés par une reproduction sexuée et asexuée.

Le mode principal est la reproduction asexuée. Elle s'effectue par bourgeonnement : en premier, création du cystide puis création du polypide par le cystide.

Le second mode de reproduction est asexuée : les bryozoaires sont hermaphrodites. Ils émettent des gamètes mâles et femelles, l'union de ces deux gamètes se fait en pleine eau et crée un œuf qui va se déplacer avant de se fixer sur un substrat dur et commencer la création d'une nouvelle colonie.

Les gamètes sont émis dans le milieu par deux orifices situés à l'extrémité de deux tentacules sexuels (Voir le site internet les bryozoaires).

La taille souvent modeste des colonies, pourrait expliquer l'intérêt modéré des chimistes pour l'étude des bryozoaires. Fin 2003, une cinquantaine d'espèces seulement avaient été étudiées pour leurs métabolites et deux cent nouvelles molécules environ ont été découvertes. La chimie des bryostatines se caractérise par deux ensembles importants de métabolites : d'une part, une famille de polyethers cycliques, les bryostatines aux propriétés antitumorales exceptionnelles, et d'autre part les alcaloïdes qui sont très nombreux et pour la plupart d'entre eux originaux (Kornprobst, 2005).

## **IV. Les éponges, les démosponges.**

### IV.1 *Halichondria okadai* : E 7389.



### IV.2 *Cymbastela* : HTI 286.

#### A. Les éponges : morphologie.

Les éponges sont des animaux fixés, elles sont généralement colorées en jaune, brun, rose ou violet mais elles peuvent aussi être blanches ou blanc grisâtre. La coloration peut être due à des pigments mais aussi à des sels métalliques (de fer), elle peut également être due à des algues ou des bactéries symbiotes.

Les éponges forment l'organisation la plus simple, ce sont des colonies de cellules peu différenciées. Ces animaux ne possèdent ni appareil respiratoire, ni appareil excréteur ou génital. Le système nerveux est très primitif, elles ne possèdent ni bouche, ni anus ni aucun organe différencié.

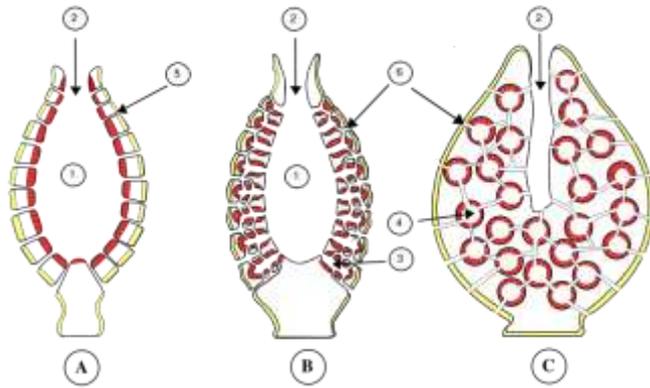
Les différents groupes d'éponge se caractérisent par la nature du squelette interstitiel (spicule) que les colonies utilisent pour acquérir une structure rigide : calcaire, chitine ou silice. L'avantage d'une structure rigide est dans la protection qu'elle apporte mais à long terme ce sont les structures souples capables de mouvements qui ont primé et que l'on retrouve avec les cnidaires.

La texture de leur surface dépend de la présence ou non de spicules en surface de l'animal. Une surface lisse correspond à l'absence de spicules en surface alors qu'une surface hirsute est généralement due à la présence de spicules en surface (Voir le site internet de Wikipedia porifera).

### B. Anatomie des éponges.

Les éponges sont des organismes diploblastiques, ne présentant pas d'éléments de symétrie. Il est possible de reconnaître trois formes corporelles (Voir le schéma ci-dessous)

- La forme asconoïde : la plus simple, ne se rencontre que chez les plus petites éponges.
  
- La forme syconoïde, elle représente une évolution par rapport à la première forme car il existe une multitude de canaux radiaires qui ont pour but d'augmenter la surface de contact entre l'eau et les cellules de l'animal permettant une plus grande absorption de nourriture.
  
- La forme leuconoïde est la plus complexe, on rencontre cette forme chez les plus grosses éponges coloniales (Voir le site internet de Wikipedia porifera).



**Figure 1**

**A : asconoide**

**B : syconoide**

**C : leuconoide**

1. spongocoele ou atrium

2. oscule

3. tube vibratile ou tube radiaire

4. corbeille vibratile

5. pore inhalant

6. canal inhalant

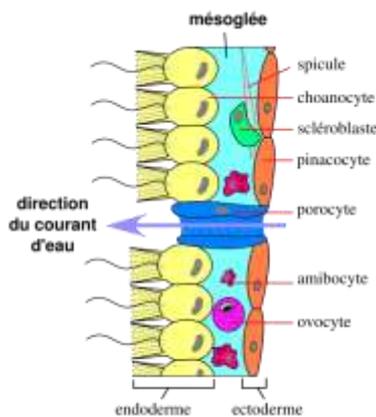
### C. Structure histologique des éponges.

Les éponges sont constituées de deux couches de cellule :

- l'ectoderme est constitué de cellules épidermiques appelées pinacocytes, elles forment un épithélium semi stratifié à une seule couche, elles sont plates, jointives et recouverte d'une très fine cuticule.

- l'endoderme est constitué de cellules à collerette appelées choanocytes qui ont un rôle direct dans la nutrition.

Ces deux couches cellulaires sont séparées par une couche sans réelle structure, semblable à de la gelée : la mesoglée qui contient différents types de cellules.



#### D. Alimentation des éponges.

La grande majorité des éponges sont suspensivores et consomment principalement des bactéries, des débris organiques et des algues unicellulaires. Une éponge d'un volume de 10 cm<sup>3</sup> peut filtrer vingt-deux litres d'eau par jour. Seules les particules de diamètre inférieur à 50 µm seront aspirées. Celles dont le diamètre varie entre un et cinquante micromètre seront phagocytées par des amibocytes, celles dont le diamètre est inférieur à 1 µm seront phagocytées par des choanocytes (Voir le site internet de Wikipedia porifera).

Les éponges sont capables de se régénérer même si elles sont écrasées, râpées, tamisées : les cellules sont capables de se réassocier spontanément pour former de nouveaux individus.

Elles peuvent aussi subir une déshydratation importante pendant plusieurs années (être hors de l'eau) et revivre une fois replongées dans leur biotope naturel. En revanche elles ne supportent pas les variations de salinité.

Les éponges peuvent atteindre des âges très avancés surtout celles vivant dans les océans froids et qui ont une croissance très lente. On estime ainsi l'âge des éponges de grandes tailles à environs mille cinq cent cinquante ans et celles des plus grandes à au moins treize mille ans (Voir le site internet de Wikipedia porifera).

Environ 95% des éponges actuelles sont des démosponges et la quasi-totalité des cinq mille molécules isolées des éponges proviennent de cette classe. Leur principale caractéristique est de ne pas posséder de spicules calcaires. Le squelette des démosponges est le plus souvent constitué de spicules de silice et de fibres de spongine (Kornprobst, 2005).

## E. Observation physique concernant les démosponges.

### Taille.

Toutes les possibilités existent, il n'y a pas de forme type, la forme globale pouvant varier avec les conditions du milieu environnant. Les tailles sont également très variables (Kornprobst, 2005)

### Couleur et odeur.

La couleur d'une éponge n'est pas un critère de classification mais peut néanmoins apporter des indications. Les éponges de la famille des *Halichondriidae* sont toujours ternes (beige, gris), comme *Halichondria panicea* qui doit son nom à la couleur de la mie de pain. Quelques espèces ont des pigments sensibles à l'oxygène de l'air et noircissent rapidement dès qu'elles sortent de l'eau d'où le terme *aerophoba* (qui a peur de l'air) associé à certains genres comme *Verongia (Aplysina)* (Voir le site internet de cosmovisions spongiaires).

## F. Reproduction des démosponges.

Les démosponges sont le plus souvent vivipares : après la fécondation, l'œuf se développe dans la mésogée puis devient une larve nageuse recouverte de flagelles qui sont libérés dans le milieu extérieur.

Les démosponges peuvent aussi se reproduire de façon asexuée : des fragments détachés peuvent reformer une éponge entière (Voir le site internet de Wikipedia porifera).

## V. Le requin, *sphyrna lewini*, *squalus acanthias* : La squalamine, le Néovastat®.



*Sphyrna lewini*



*Squalus acanthias*

### A. Présentation générale.

Aussi connu sous le nom d'aiguillat ou de spiny dog fish, dog fish ou grayfish du fait de sa grande épine située dans une nageoire dorsale. C'est un requin de petite taille, habituellement quatre-vingt centimètres à un mètre trente, vivant en profondeur.

Petite mais agressive espèce de requin. L'aiguillat commun est le représentant le plus courant des squales regroupant plus de cent espèces de différentes tailles, possédant la même forme hydrodynamique.

## B. Distribution.

L'aiguillat se trouve entre les eaux fraîches et peu profondes des zones tempérées et subarctiques de l'hémisphère nord, dans les océans atlantique et pacifique.

Il vit à des profondeurs de dix à deux cent mètres mais on l'a déjà vu dans les profondeurs de plus de neuf cent mètres.

C'est un poisson migrant au rythme des saisons, se tenant dans des eaux à des températures entre cinq et seize degrés celsius et qui va se reproduire au large (Voir le site internet de Wikipedia requins).

## C. Description.

Leur surnom de « chien de mer » provient du fait que ces requins se déplacent et chassent souvent en groupes nombreux, comme les chiens.

Leur corps fusiforme s'allonge sur près de quatre vingt cinq centimètres et pèse environ quatre kilogrammes.

L'aiguillat commun est généralement gris ardoise ou brunâtre avec des tâches blanches sur le dos et des taches grises pâles puis blanches sur le ventre.

La femelle plus grande que le mâle peut atteindre plus d'un mètre.

Caractéristiques chez les squales : l'œil est grand, ovale et blanc à la pupille noire.

Les deux nageoires dorsales de l'aiguillat commun sont chacune précédées d'une épine forte, fixe, pointue et venimeuse quoique mortelle, pouvant décourager d'éventuels prédateurs. La queue hétérocerque, sa tête aplatie au museau obtus ainsi que l'absence de nageoire anale, contribuent grandement à son hydrodynamisme

Ses mâchoires sont symétriques garnies de petites dents coupantes à une pointe, orientée vers les commissures de la bouche.

## D. Biologie.

La fécondation a lieu dans les oviductes entre février et juin. Les femelles portent ordinairement quatre à six chiots pendant dix-huit à vingt-quatre mois (c'est une période de gestation la plus longue connue chez les vertébrés).

Les chiots naissent en hiver dans les zones plus chaudes au large vers le sud.

Les mâles sont matures à l'âge de quatre ou cinq ans et les femelles de sept à huit ans.

La croissance de l'aiguillat commun est lente et sa longévité surpasse celle de la plupart des requins, il peut vivre jusqu' à vingt-cinq ou trente ans. Les anneaux visibles sur les épines des nageoires dorsales permettent de mesurer l'âge et la vitesse de croissance des requins.

L'aiguillat possède une alimentation très diversifiée, le chiot se tient dans les eaux de surface où à des profondeurs moyennes dévorant méduses et autres organismes planctoniques. Lorsqu'il atteint quarante centimètres environ, il descend graduellement à de plus grandes profondeurs. Il se nourrit de poissons, tels le capelan, maquereau, morue, saumon, merlu, mollusques, calamars et crustacées.

#### E. Pêche et alimentation.

En Norvège, on pêche l'aiguillat toute l'année à l'aide de palangres et de filets. Dans le golf Saint Laurent, il fait partie des espèces qu'on trouve souvent parmi les prises accidentelles.

Pendant la seconde guerre mondiale, on pêchait l'aiguillat pour en extraire la vitamine A contenue dans l'huile de son foie.

Ce poisson s'est révélé comme ayant une bonne chair pour la cuisine. Elle est généralement vendue en filet à l'état frais ou congelé (Voir le site internet de Wikipedia requins).

# Conclusion

**Conclusion.**

Ce travail a permis d'actualiser les connaissances dans le domaine des anticancéreux d'origine marine. En effet, onze molécules anticancéreuses se sont distinguées par leur avancée dans les essais de phase II ou III. Il en ressort donc un bilan positif malgré quelques difficultés rencontrées au début. En effet, ce travail me paraissait titanesque, il fallait passer en revue plus de cinq cent molécules et rechercher une information crédible en vérifiant sur plusieurs supports, dont les informations fournies étaient souvent contradictoires. Au fil du travail, je me suis rendue compte qu'une majorité de molécules n'avaient même pas atteint les essais pré cliniques. Finalement, neuf molécules ont été retenues en phase II il s'agit de la dehydrodidemnine B, de la dolastatine 10, du cématodine et synthadotine, de la bryostatine 1, du kahalalide F, E 7389, HTI 286 et enfin de la squalamine. Seulement deux molécules en essai clinique de phase III ont été développées, il s'agit du Yondelis® et du Néovastat® et leur arrivée sur le marché est imminente.

La mer est donc source de trésors garants de la vie mais le monde marin n'est pas le seul à nous livrer ses secrets, il reste donc à exploiter d'autres sources possibles d'anticancéreux, et espérer ainsi, qu'un jour, ce problème de santé publique puisse être éradiqué.

# Bibliographie

## **Bibliographie.**

**ADY-VAGO N, LOPEZ-LARAZO L, FAIVRE S, LACROIX C, LUBER NAROD J et  
ADAMS D.**

L carnitine as a protector against Aplidin induced skeletal muscle toxicity.

Cancer research 2001;**20**:545.

**AJANI J, JIANG Y, FAUST J, CHANG B, HO L, YAO J, ROUSEY S, DAKHIL S, CHERNY R, CRAIG C et BLEYER A.**

A multi center phase II study of sequential paclitaxel and bryostatin 1 (NSC 339555) in patients with untreated, advanced gastric or gastroesophageal junction adenocarcinoma.

Invest New Drug 2006;**24**(4):353-7.

**AMADOR M, JIMENO J, PaZ T et ARES L.**

Progress in the development and acquisition of anticancer agent from marine sources.

Ann oncol 2003;**14**(11):1607-15.

**ANN JORDAN M, KAMATH K, MANNA T, OKOUNEVA T, MILLER H, DAVIS C, LITTLEFIELD B et WILSON L.**

The primary antimitotic mechanism of action of the synthetic halichondrin E7389 is suppression of microtubule growth.

Mol Cancer Ther 2005;**4**:1086-1095.

**ARRUDA M, COCCHIARO C, NELSON C, GRINNELL C, JANSSEN B, HAUPT A et BARLOZZARI T.**

LU 103793 (NSC D-669356): a synthetic peptide that interacts with microtubules and inhibits mitosis.

Cancer Research 1995;**55**(14):3085-92.

**BARUCHEL S, BLANEY S, HERSHON L, KRAILO M, SEIBEL N et GUZMAN C.**

A phase I study of ET 743 in pediatric refractory solid tumors: a children's oncology group study.

Proc Am Soc Clin Oncol 2002;**21**:96 a.

**BATIST G, PATENAUDE F, CHAMPAGNE P, CROTEAU D, LEVINTON C, HARITON C, ESCUDIER B et DUPONT E.**

Neovastat (AE 941) in refractory renal cell carcinoma patients: report of a phase II trial with two dose levels.

Ann Oncol 2002;**13**(8):1259-63.

**BECERRO M, GOETZ G, PAUL V et SCHEUER P.**

Chemical defenses of the sacoglossan mollusk *Elysia rufescens* and its host *Alga bryopsis* sp.  
J Chem Ecol 2001;**27**(11):2287-99.

**BEDIKIAN A, PLAGER C, STEWART J, O'BRIAN C, HERDMAN S, ROSS M, PAPAPOPOULOS N, ETON O, ELLERHORST J et SMITH T.**

Phase II evaluation of bryostatine 1 in metastatic melanoma.

Melanoma Research 2001;**11**(2):183-188.

**BHARGAVA P, MARSHALL J, DAHUT W, RIZVI N, TROCKY N, WILLIAMS J, HAIT H, SONG S, HOIROYD K et HAWKINS M.**

A phase I and pharmacokinetic study of squalamine, a novel antiangiogenic agent, in patients with advanced cancers.

Clin Cancer Res 2001;**7**(12):3912-9.

**BIARD JF.**

Les antitumoraux d'origine marine : sources, développement et perspectives.

Oceanis, 2001 vol **27** numéro 3-4.

**BIARD JF.**

Les médicaments de la mer : l'actualité.

Pathologie Biologie 2004;**52**(1) :1-3.

**BLACKHALL F, RANSON M, RADFORT J, HANCOCK B, SOUKOP M, Mc GOWN A, ROBBINS A, HALBERT G et JAYSON G.**

A phase II trial of bryostatin 1 in patients with non-Hodgkin's lymphoma.

Br J Cancer 2001;**84**(4):465-9.

**BLAY J, LE CESNE A, VERWEIJ J, SCURR M, SEYNAEVE C, BONVALOT S, HOGENDOORN P, JIMENO J, EVRARD V, VAN GLABBEKE M et JUDSON I.**

A phase II study of ET 743/TRABECTIN(YONDELIS) for patients with advanced gastrointestinal stromal tumours.

Eur J Cancer 2004;**40**(9):1327-31.

**BLUM J, FORERO M, HEISKALA K, MENESES N, CHANDRAWANSA K, FANG F, SHAPIRO G, FIELDS S, SILBERMAN S et VAHDAT L.**

E 7389, a novel anti-tubulin, in patients with refractory breast cancer.

Journal of clinical oncology 2006;**18**(24):653.

**BLUM J, PRUITT C, FABIAN R, RIVERA R, SHUSTER E, MENESES N, CHANDRAWANSA K, FANG F, FIELDS S et VAHDAT L.**

Phase II study of eribulin mesylate (E7389) halichondrin b analog in patients with refractory breast cancer.

Journal of clinical oncology 2007;**18**(25):1034.

**BONATE P, BEYERLEIN D, CRAWFORD J, ROTH S, KRUMBHOLZ R et SCHMID S.**

Pharmacokinetics in mice implanted with xenografted tumors after intravenous administration of tasidotin (ILX 651) or its carboxylate metabolite.

AAPS J 2007;**9**(3):E378-87.

**BONNARD I, MANZANARES I et RINEHART K.**

Stereochemistry of Kahalalide F.

J Nat Prod 2003;**66**(11):1466-70.

**BRANDON E, SPARIDANS R, VAN OOIJEN R, MEIJERMAN I, LAZARO L, MANZANARES I, BEIJNEN J et SCHELLENS J.**

In vitro characterization of the human biotransformation pathways of aplidine, a novel marine anti-cancer drug.

Invest New Drug 2007;**25**(1):9-19.

**BROGGINI M, MARCHINI S, GALLIERA E, BORSOTTI P, TARABOLETTI G, ERBA E, SIRONI M, JIMENO J, FAIRCLOTH G, GIAVAZZI R et D'INCALCI M.**

Aplidine, a new anticancer agent of marine origin, inhibits vascular endothelial growth factor (VEGF) secretion and blocks VEGF- VEGFR-1(flt-1) autocrine loop in human leukaemia cells MOLT-4.

Leukemia 2003;**17**(1):52-9.

**BUKOWSKI R.**

AE 941, a multifunctional antiangiogenic compound : trials in renal cell carcinoma.

Expert Opin Investig Drugs 2003;**12**(8):1403-11.

**CONSUELO G, FEIYUN A et MOLLINEDO F.**

Rapid and selective apoptosis in human leukemic cells induced by Aplidin through a fas/CD95 and mitochondrial mediated mechanism.

Clinical Cancer Research 2003;**9**:1535-1545.

**CREWS C, COLLINS J, LANE W, SNAPPER M et SCHREIBER S.**

GTPdependent binding of the antiproliferative agent didemnin to elongation factor 1 alpha.

Biol chem 1994;**269**(22):15411-15414.

**CUADRADO A, GARCIA-FERNANDEZ L, GONZALES L, SUAREZ Y, LOSADA A, ALCAIDE D, MARTINEZ T, FERNANDEZ-SOUSA J, SANCHEZ-PUELLES J et MUNOZ A.**

Aplidin induces apoptosis in human cancer cells via glutathione depletion and sustained activation of the epidermal growth factor receptor, Src, JNK and p38 MAPK.

J Biol Chem 2003;**278**(1):241-50.

**CUNNINGHAM C, APPLEMAN L, KIRVAN-VISOVATTI M, RYAN D, REGAN E, VUKELJA S, BONATE P, RUVUNA F, FRAM R, JEKUNEN A, WEITMAN S, HAMMOND L et EDER J Jr.**

Phase I and pharmacokinetic study of the Dolastatin 15 analogue tasidotin (ILX 651) administered intravenously on days 1, 3 et 5 every 3 weeks in patients with advanced solid tumors.

Clin Cancer Res 2005;**11**(21):7825-33.

**DAS A, SPIRA A, LANNOTTI N, SAVIN M, ZANG E, DATTA K, SHAPIRO G, PATTURAJAN M et SILBERMAN S.**

A phase II study of a novel anti tubulin, E7389, in patients with advanced non small lung cancer.

Journal of Clinical Oncology 2006;**24**(18):7106.

**DEPENBROCH H, PETER R, FAIRCLOTH G, MANZANARES I, JIMENO J et HANAUSKE A.**

In vitro activity of Aplidine, a new marine derived anti cancer compound, on freshly explanted clonogenic human tumor cells and hematopoietic precursor cells.

Br J cancer 1998;**78**(6):739-744.

**EBBINGHAUS S, RUBIN E, HERSH E, CRANMER L, BONATE P, FRAM R, JEKUNEN A, WEITMAN S et HAMMOND L.**

A phase I study of the dolastatin 15 analogue tasidotin (ILX 651) administered intravenously daily for 5 consecutive day every 3 weeks in patients with advanced solid tumors.

Clin Cancer Res 2005;**11**(21):7807-16.

**ERBA E, BASSANO L, DI LIBERTI G, MURADORE I, CHIORINO G, UBEZIO P, VIGNATI S, CODEGONI A, DESIDERIO MA, FAIRCLOTH G, JIMENO J et D'INCALCI M.**

Cell cycle phase perturbations and apoptosis in tumour cells induced by aplidine.

Br J Cancer 2002;**86**(9):1510-7.

**ESCUDIER B, VENNER P, BUCKOWSKI R, SZCZYLIK C, OUDARD S, CHAMPAGNE P, HARITON C et DUPONT E.**

Phase III trial of neovastat in metastatic renal cell carcinoma patients refractory to immunotherapy.

Proc Am Soc Clin Oncol 2003;**22**:844.

**FAIRCLOTH G, HANAUSKE A, DEPENBROCH H, PETER R, CREWS C, MANZANARES I, MEELY K, GRANT W et JIMENO J.**

Preclinical characterization of Aplidine, a new marine anticancer depsipeptide.

Proc Am Assoc Cancer Res 1997;**38**:103.

**FAIVRE S, CHIEZE S, DELBALDO C, ADY-VAGO N, GUZMAN C, LOPEZ LARAZO L, LOZAHIC S, JIMENO J, PICO F, ARMAND J, MARTIN J et RAYMOND E.**

Phase I and pharmacokinetic study of Aplidine, a new marine cyclodepsipeptide in patients with advanced malignancies.

J Clin Oncol 2005;**23**(31):7871-80.

**FALARDEAU P, CHAMPAGNE P, POYET P, HARITON C et DUPONT E.**

Neovastat, a naturally occurring multifunctional antiangiogenic drug, in phase III clinical trials.

Semin. Oncol. 2001;**28**(6):620-5.

**FAYETTE J, COQUARD I, ALBERTI L, RANCHERE D, BOYLE H et BLAY J.**

ET 743: a novel agent with activity in soft tissue sarcomas.

Oncologist 2005;**10**(10):827-32.

**FUSETANI N.**

Drugs from the sea 2000;120-133, ed Fusetani N, Tokyo.

**GARCIA CARBONERO R, SUPKO J, MAKI R, MANOLA J, RYAN D, HARMON D, PUCHALSKI T, GOSS G, SEIDEN M, WAXMAN A, QUIGLEY M, LOPEZ T, SANCHO M, JIMENO J, GUZMAN C et DEMETRI G.**

Ecteinascidin 743 (ET 743) for chemotherapy naive patients with advanced soft tissue sarcomas: multicenter phase II and pharmacokinetic study.

J Clin Oncol 2005;**23**(24):5420-3.

**GELDOF A, MASTBERGEN S, HENPAR R et FAIRCLOTH G.**

Cytotoxicity and neurotoxicity of new marine anticancer agent evaluated using in vitro assays.

Cancer Chemother pharmacol 1999;**44**(4):312-318.

**GINDRAS D, RENAUD A, MOUSSEAU N et BELIVEAU R.**

Shark cartilage extracts as antiangiogenic agents : smart drinks or bitter pills ?

Cancer Metastatic Revue 2000;**19**(1-2):83-6.

**GINDRAS D, BATIST G et BELIVEAU R.**

AE 941: a novel multifunctional antiangiogenic compound.

Expert Rev Anticancer Ther 2001;**1**(3):341-7.

**GINDRAS D, BOIVIN D, DECKERS C, GENDRON S, BARTHOMEUF C et BELIVEAU R.**

Neovastat a novel antiangiogenic drug for cancer therapy.

Anticancer drug 2003;**14**(2):91-6.

**GOETZ G, NAKAO Y et SCHEUER P.**

American Society of pharmacognosy.

J Nat Prod 1997;**60**(6):562-567.

**GOMEZ S, BUEREN J, FAIRCLOTH G, JIMENO J et ALBELLA B.**

In vitro toxicity of three new antitumoral drugs (trabectin, aplidin et kahalalide F) on hematopoietic progenitors and stem cells.

Exp Hematol 2003;**31**(11):1104-11.

**HAAS N, SMITH M, LEWIS N, LITTMAN L, YESLOW G, JOSHI I, MURGO A, BRADLEY J, GORDON R, WANG H, ROGATKO A et HUDES G.**

Weekly bryostatins 1 in metastatic renal cell carcinoma: a phase II study.

Clin Cancer Res 2003;**9**(1):109-14.

**HADASCHIK B, ADOMAT H, FAZLI L, FRADET Y, RAYMOND J, MARTIN E, GLEAVE F et SO A.**

Intravesical chemotherapy of high-grade bladder cancer with HTI 286, a synthetic analogue of the marine sponge product hemiasterlin.

Clinical Cancer Research 2008;**10**(1158):1078-0432.

**HAO D, HAMMOND L, ECKHARDT S, PATNAIK A, TAKIMOTO C, SCHWARTZ G, GOETZ A, TOLCHER A, Mc CREERY H, MAMUN K, WILLIAMS J, HOLROYD K, ROWINSKY E.**

A phase I and pharmacokinetic study of squalamine, an aminosterol angiogenesis inhibitor.

Clin Cancer Res 2003;**9**(7):2465-71.

**HERBST R, HAMMOND L, CARBONE D, TRAN H, HOLROYD K, DESAI A, WILLIAM J, BEKELE B, HAIT H, ALLGOOD V, SOLOMON S et SCHILLER J.**

A phase I/IIA trial of continuous five day infusion of squalamine lactate (MSI 1256F) plus carboplatin and paclitaxel in patients with advanced non small lung cancer.

Clinical Cancer Research 2003;**15**:9(11):4108-15.

**HU M et HUANG W.**

Synthesis and cytostatic properties of structure simplified analogs of dolastatin 15.  
J Pept Res 1999;**54**(6):460-7.

**JANMAAT M, RODRIGUEZ J, JIMENO J, KRUYT F et GIACCONE G.**

Kahalalide F induces necrosis like cell death that involves depletion of ErbB3 and inhibition of Akt signaling.  
Mol Pharmacol 2005;**68**(2):502-10.

**JIMENO J.**

Marine Anticancer Drugs, new cellular targets for therapeutic intervention.  
Scientific developpement, Pharmamar, SAU Madrid Spain, 2004.

**JIMENO J, LOPEZ MARTIN J, RUIZ CASADO A, IZQUIERDO M, SCHEUER P et RINEHART K.**

Progress in the clinical development of new marine derived anticancer compounds.  
Anti cancer drug 2004;**15**(4):321-9.

**JORDAN M, WALKER D, DE ARRUDA M, BARLOZZARI T et PANDA D.**

Suppression of microtubule dynamics by binding of cematodin to tubulin : possible mechanism for its antitumor action.  
Biochemistry 1998 15;**37**(50):17571-8.

**KERBRAT P, DIERAS V, PAVLIDIS N, RAVAUD A, WANDERS J et FUMOLEAU P.**

Phase II of study of LU103793 (dolastatin analogue) in patients with metastasic breast cancer.  
Eur J cancer 2003;**39**(3):317-20.

**KINDLER H, TOTHY P, WOLFF R, MCCORMACK R, ABBRUZZESE J, MANI S, WADE OLIVER K et VOKES E.**

Phase II of dolastatin 10 in advanced pancreatobiliary cancers.  
Invest New Drugs 2005;**23**(5):489-93.

**KORNPROBST JM.**

Substances naturelles d'origine marine : chimiodiversité, pharmacodiversité, biotechnologie.  
Octobre 2005, Vol 1:1-598, ed TEC et DOC.

**KRASNER C, McMEEKIN D, CHAN S, BRALY P, RENSHAW F, KAYE S, PROVENCHER D, CAMPOS S et GORE M.**

A phase II study of trabectedin single agent in patients with recurrent ovarian cancer previously treated with platinum-based regimens.

Br J Cancer 2007;**97**(12):1618-24.

**LANSIAUX A, BAILLY C.**

Les dolastatines.

Bulletin du cancer 1999;**11**(86):897-901.

**LANSIAUX A, BAILLY C.**

L'ecteinascidine 743

Bulletin du cancer 1999;**2**(86):139-41.

**LAU L, SUPKO J, BLANEY S, HERSHON L, SEIBEL N, KRAILO M, QU W, MALKIN D, JIMENO J, BERNSTEIN M et BARUCHEL S.**

A phase I and pharmacokinetic study of ecteinascidin 743 (Yondelis) in children with refractory solid tumors. A Children's Oncology Group Study.

Clin Cancer Res 2005;**11**(21):672-7.

**LAVERDIERE C, KOLB E, SUPKO J, GORLICK R, MEYERS P, MAKI R, WEXLER L, DEMETRI G, HEALEY J, HUVOS A, GOORIN A, BAGATELL R, RUIZ CASADO A, GUZMAN C, JIMENO J et HARMON D.**

Phase II of study of ET 743 in heavily pretreated patients with recurrent osteosarcoma.

Cancer 2003;**98**:832-840.

**LE CESNE A, BLAY J, JUDSON I, VAN OOSTEROM A, VERWEIJ J, RADFORD J, LORIGAN P, RODENHUIS S, RAY-COQUARD I, BONVALOT S, COLLIN F, JIMENO J, DI PAOLA E, VAN GLABBEKE M et NIELSON O.**

Phase II study of ET 743 in advanced soft tissue sarcomas : a European Organisation for the Research and Treatment of Cancer (EORTC) soft tissue and bone sarcoma group trial.

J Clin Oncol 2005;**23**(22):5276.

**LOBO C, GARCIA-POZO S, NUNEZ DE CASTRO I et ALONSO F.**

Effect of dehydrodidemnin B on human colon carcinoma cell lines.

Anticancer Res 1997;**17**(1A):333-6.

**LOGANZO F, DISCAFANI C, ANNABLE T, BEYER C, MUSTO S, HARI M, TAN X, HARDY C, HERNANDEZ R, BAXTER M, SINGANALLORE T, KHAFIZOVA G, PORUCHYNSKY M, FOJO T, NIEMAN J, AYRAL-KALOUSTIAN S, ZASK A, ANDERSEN R et GREENBERGER L.**

HTI 286, a synthetic analogue of the tripeptide hemiasterlin, is a potent antimicrotubule agent that circumvents P glycoprotein-mediated resistance in vitro and in vivo.

Cancer Res 2003;**63**(8):1838-45.

**LOGANZO F, HARI M, ANNABLE T, TAN X, MORILLA D, MUSTO S, ZASK A, KAPLAN J, MINNICK A, MAY M, AYRAL –KALOUSTIAN S, PORUCHYNSKY M, FOJO T et GREENBRGER L.**

Cells resistant to HTI 286 do not overexpress P-glycoprotein but have reduced drug accumulation and a point mutation in alpha-tubulin.

Mol Cancer Ther 2004;**3**(10):1319-27.

**LOPRINZI C, LEVITT R, BARTON D, SLOAN J, ATHERTON P, SMITH D, DAKHIL S, MOORE D, KROOK J, ROWLAND K, MAZURCZAK M, BERG A et KIM G.**

Evaluation of shark cartilage in patients with advanced cancer: a North Central Cancer Treatment Group Trial.

Cancer 2005;**104**(1):176-82.

**(a) LUESCH H, HARRIGAN G, GOETZ G et HORGEN F.**

The cyanobacterial origin of potent anticancer agents originally isolated from sea hares.

Curr Med Chem 2002;**9**(20):1791-806.

**(b) LUESCH H, MOORE R, PAUL V, MOOBERRY S et CORBETT T.**

Isolation of Dolastatin 10 from the marine cyanobacterium *Symploca* species VP642 and total stereochemistry and biological evaluation of its analogue symplostatatin 1.

J Nat Prod 2001;**64**(7):907-10.

**MADDEN T, TRAN H et BECK D.**

Novel marine-derived anticancer agents : a phase I clinical, pharmacological, and pharmacodynamic study of dolastatin 10 (NSC 376128) in patients with advanced solid tumors.

Clin Cancer Resarch 2000;**6**(4):1293-1230.

**MADHUSUDAN S, PROTHEROE A, PROPPER D, HAN C, CORRIE P, EARL H, HANCOCK B, VASEY P, TURNER A, BALKWILL F, HOARE S et HARRIS A.**

Br J Cancer 2003;**89**(8):1418-22.

**MARGOLIN K, LONGMATE J, SYNOLD T, GANDARA DR, WEBER J, GONZALES R, JOHANSEN M, NEWMANN R, BARATTA T et DOROSHOW J.**

Dolastatin 10 in metastatic melanoma : a phase II and pharmokinetic trial of the California Cancer Consortium.

Invest New Drugs 2001;**19**(4):335-40.

**MARKS R, GRAHAM D, SLOAN J, HILLMAN S, FISHKOFF S, KROOK J, OKUNO S, MAILLARD J, FITCH T et ADDO F.**

A phase II study of the dolastatin 15 analogue du LU 103793 in the treatment of advanced non small lung cancer.

Am J clin Oncol 2003;**26**(4):336-7.

**MAROUN J, BELANGER K, SEYMOUR L, MATTHEWS S, ROACH J, DIONNE J, SOULIERES D, STEWART D, GOEL R, CHARPENTIER D, GOSS G, TOMIAK E, YAU J, JIMENO J et CHIRITESCU G.**

Phase I study of Aplidine in a daily x5 one-hour infusion every 3 weeks in patients with solid tumors refractory to standard therapy. A National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group study : NCIC CTD IND 115.

Ann oncol 2006;**17**(9):1371-8.

**MILLER D, ANDERSON G, STARK J, GRANICK J et RICHARDSON D.**

Phase I/II trial of the safety and efficacy of shark cartilage in the treatment of advanced cancer.

Clin Oncol 1998;**16**(11):3649-55.

**MIRSALIS J, SCHINDLER – HORVAT J, HILL J, TOMASZEWSKI J, DONOHUE S et TYSON C.**

Toxicity of Dolastatin 10 in mice, rats and dogs and its clinical relevance.

Cancer Chemother Pharmacol 1999;**44**(5):395-402.

**MITA A, HAMMOND L, BONATE P, WEISS G, McCREERY H, GARRISON M, CHU Q, DEBONO J, JONES C, WEITMAN S, ROWINSKY E.**

Phase I and pharmacokinetic study of tasidotin hydrochloride (ILX 651), a third generation dolastatin 15 analogue administered weekly for 3 weeks every 28 days in patients with advanced solid tumors.

Clin Cancer Res 2006;**12**(17):5207-15.

**MROSS K, BERDEL W, FIEBIG H, VELAGAPUDI R, VON BROEN I et UNGER C.**

Clinical and pharmacologic phase I study of cematodin HCl, a novel antimetabolic peptide given as 24 hour infusion in patients with advanced cancer.

Ann Oncol 1998;**9**(12):1323-30.

**NEWMANN D, CRAGG G.**

Marine natural products and related compounds in clinical and advanced preclinical trials.

Am Chem Soc, J Nat Prod 2004;**67**(8):1216-38.

**PAGLIARO L, DOLIANI D, AMATO R, TU S, JONES D, SMITH T, LOGOTHETIS C et MILLIKAN R.**

A phase II trial of bryostatins 1 for patients with metastatic renal cell carcinoma.

Cancer 2000;**89**(3):615-8.

**PARDO B, PAZ-ARES L, TABERNERO J, CIRUELOS E, GARCIA M, SALAZAR R, LOPEZ A, BLANCO M, NIETO A, JIMENO J, IZQUIERDO M et TRIGO J.**

Phase I clinical and pharmacokinetic study of Kahalalide F administered weekly as a 1 hour infusion to patients with advanced solid tumors.

Clin Cancer Res 2008;**14**(4):1116-23.

**PAZ ARES L, RIVERA HERREROS F, DIAZ RUBIO E, GARCIA M, CASADO E, CUBEDO R, GRAVALOS C, ALFARO V, GOMEZ J, IZQUIERDO M et TABERNERO J.**

Phase II study of trabectedin in pretreated patients with advanced colorectal cancer.

Clin Colorectal Cancer 2007;**6**(7):522-8.

**PEREZ E, HILLMAN D, FISHKIN P, KROOK J, TAN W, KURIKIAKOSE P, ALBERTS S et DAKHIL S.**

Phase II trial of Dolastatin 10 in patients with advanced breast cancer.

Invest new drugs 2005;**23**(3):257-61.

**PITOT H, Mc ELROY E, REID J, WINDEBANK A, SLOAN J, ERLICHMAN C, BAGNIEWSKI P, WALKER D, RUBIN J, GOLDBERG R, ADJEI A et AMES M.**

Phase I trial of dolastatin 10 (NSC 376128) in patients with advanced solid tumors.

Clin Cancer Res 1999;**5**(3):525-531.

**PROKSCH P, EDRADA R et EDEL R.**

Novel chromone derivatives from fungus *Aspergillus*.

Application Microbiology Biotechnology 2002;**59**:125-134.

**RADEMAKER-LAKHAI J, HORENBLAS S, MEINHARDT W, STOKVIS E, DE REIJKE T, JIMENO J, LOPEZ-LAZARRO L, LOPEZ MARTIN J, BEIJNEN J et SCHELLENS J.**

Phase I clinical and pharmacokinetic study of Kahalalide F in patients with advanced androgen refractory prostate cancer.

Clin Cancer Res 2005;**11**(5):1854-62.

**RATAIN J, UNDEVIA S, JANISH L, ROMAN P, MAYER M, BUCKWALTER M, FOSS D, HAMILTON B, FISHER J et BUKOWSKI M.**

Phase 1 and pharmacological study of HTI 286, a novel antimicrotubule agent : correlation of neutropenia with time above a threshold serum concentration.

Clin Oncol 2003;**22** (abstract 516).

**RAWAT, DIVAN.**

Marine peptides and related compounds in clinical trial.

Anticancer agents in medicinal chemistry 2006;**6**:33-40.

**RAY A, OKOUNEVA T, MANNA T, MILLER H, SCHMID S, ARTHAUD L, LUDUENA R, JORDAN M et WILSON L.**

Mechanism of action of the microtubule targeted antimetabolic depsipeptide tasidotin (formely ILX 651) and its major metabolite tasidotin C carboxylate.

Cancer Res 2007;**67**(8):3767-76.

**ROYLANCE R, SEDDON B, McTIERNAN A, SYKES K, DANIELS S et WHELAN J.**

Experience of the use of trabectedin in 21 patients with pre treated advanced sarcoma from a single centre.

Clin Oncol 2007;**19**(8):572-6.

**RYAN D, PUCHALSKI T, SUPKO J, HARMON D, MAKI R, GARCIA CARBONERO R, KUHLMAN C, WINKELMAN J, MERRIAM P, QUIGLEY T, JIMENO J, MANOLA J, DEMETRI G.**

A phase II and pharmacokinetic study of ecteinascidin 743 in patients with gastrointestinal stromal tumors.

Oncologist 2002;**7**(6):531-8.

**RYAN D, SUPKO J, EDER J, SEIDEN M, DEMETRI G, LYNCH T, FISCHMAN A, DAVIS J, JIMENO J et CLARK J.**

Phase I and pharmacokinetic study of ecteinascidin 743 administered as a 72 hour continuous infusion in patients with solid malignancies.

Clin Cancer Res 2001;**7**(2):231-42.

**SAAD E, KRAUT E, MOORE D, JONES D, PAZDUR R et ABBRUZESE J.**

Phase II study of dolastatin 10 as first treatment for advanced colorectal cancer.

Am J clin Oncol 2002;**25**(5):451-3.

**SCHWARTSMANN G, BRONDANI DA ROCHA A, MATTEI J et MARTINS LOPES R.**

Marine derived anticancer agents in clinical trials.

Expert opin investg drug 2003;**12**(8):1367-1383.

**SESSA C, DE BRAUD F, PEROTTI A, BAUER J, CURIGLIANO G, NOBERASCO C, ZANABONI F, GIANNI L, MARSONI S, JIMENO J, D'INCALCI M, DALLO E et COLOMBO N.**

Trabectin for women with ovarian carcinoma after treatment with platinum and taxanes fails.

J Clin Oncol 2005;**23**(9):1867-74.

**SEWELL J, MAYER I, LANGDON S, SMYTH J, JODRELL D et GUICHARD S.**

The mechanism of action of Kahalalide F : variable cell permeability in human hepatoma cell lines.

Eur J Cancer 2005;**41**(11):1637-44.

**SIDNEY F, BOUBEKRY N.**

Pas de cancer chez les requins.

Octobre 1994.

Ed Montorgeuil, Paris.

**SILLIS A, WILLIAMS J et TYLER B.**

Squalamine inhibits angiogenesis and solid tumor growth in vivo and perturbs embryonic vasculature.

Cancer Res 1998;**58**:2784-2792.

**SIMMONS T, ANDRIANOSOLO.**

Marine natural product as anticancer drug.  
Molecular Cancer therapeutic 2005;**4**(2):333-342.

**SMYTH J, BONNETERRE M et SCHELLENS J.**

Activity of the dolastatin analogue, LU103793, in malignant melanoma.  
Ann Oncol 2001;**12**(4):509-511.

**SPARIDAN R, STOKVIS E, JIMENO J, LOPEZ-LAZARO L, SCHELLENS J et BEIJNEN J.**

Chemical and enzymatic stability of a cyclic depsipeptide, the novel, marine-derived, anti-cancer agent kahalalide F.  
Anticancer drugs 2001;**12**(7):585-82.

**STRAIGHT A, OAKLEY K, MOORES R, BAUER A, PATEL A, TUTTLE M, JIMENO J et FRANCIS G.**

Aplidin reduces growth of anaplastic thyroid cancer xenografts and the expression of several angiogenic genes.  
Cancer chemotherapy and pharmacology 2006;**57**(1):7-14.

**SUAREZ Y, GONZALEZ L, CUADRADO A, BERCIANO M, LAFARGA M et MUNOZ A.**

Kahalalide F, a new marine derived compound induces oncosis in human prostate and breast cancer cells.  
Mol Cancer Ther 2003;**2**:863-872.

**SUPKO J, LYNCH T, CLARK J, FRAM R, ALLEN L, VELAGAPUDI R, KUFÉ D et EDER J.**

A phase I clinical and pharmacokinetic study of the dolastatin analogue cematodin administered as a 5 day continuous intravenous infusion.  
Cancer Chemother Pharmacol 2000;**46**(4):319-28.

**TARABOLETTI G, POLI M, DOSSI R, MANENTI L, BORSOTTI P, FAIRCLOTH G, BROGGINI M, D'INCALCI M, RIBATTI D et GIAVAZZI R.**

Antiangiogenic activity of aplidine, a new agent of marine origin.

Br J Cancer 2004;**90**(12):2418.

**TOZER R, BURDETTE RADOUX S, BERLANGER K, DAVIS M, LOHMANN R, RUSTHOVEN J, WAINMAN N, ZEE B et SEYMOUR L.**

A randomized phase II study of two schedules of bryostatin 1(NSC339555) in patients with advanced malignant melanoma: a National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group study.

Invest New drug 2002;**20**(4):407-12.

**VAISHAMPAYAN U, GLODE M, DU W, KRAFT A, HUDES G, WRIGHT J et HUSSAIN M.**

Phase II study of Dolastatin 10 in patients with hormone refractory metastatic prostate adenocarcinoma.

Clin Cancer Res 2000;**6**(11):4205-8.

**VAN KESTEREN C, CVITKOVIC E, TAAMMA A, LOPEZ LAZARO L, JIMENO JM, GUZMAN C, MATH T R, SCHELLENS J, MISSET J, BRAIN E, HILLEBRAND M, ROSING H et BEIJNEN J.**

Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the novel marine derived anticancer agent ecteinascidin 743 in a phase I dose finding study.

Clin Cancer Res 2000;**6**(12):4725-32.

**VARTRASIAN M, MOHAMMAD R, SHURUFA M, HULBURD K, PEMBERTON P, RODRIGUEZ D, SPADONI V, EILENDER D, MURGO A, WALL N, DAN M et AL-KATIB A.**

Phase II trial of bryostatin 1 in patients with relapsed low grade non hodgkin's lymphoma and chronic lymphocytic leukaemia.

Clin Cancer Research 2000;**6**(3):825-8.

**VASHIST Y, TIFFON C, STOUPIS C et REDAELLI C.**

Inhibition of hepatic tumor cell proliferation in vitro and tumor growth in vivo by taltobulin, a synthetic analogue of the tripeptide hemiassterlin.

World J Gastroenterol 2006;**12**(42):6771-8.

**VILLALONA CALERO M, BAKER S, HAMMOND L, AYLESWORTH C, ECKHARDT S, KRAYNAK M, FRAM R, FISCHKOFF S, VELAGAPUDI R, TOPPMEYER D, RAZVILLAS B, JAKIMOWICZ K, VON HOFF D et ROWINSKY E.**

Phase I and pharmacokinetic study of the water soluble dolastatin 15 analog LU 103793 in patients with advanced solid malignancies.

J Clin Oncol 1998;**16**(8):2770-9.

**VILLALONA CALERO M, ECKHARDT S, WEISS G, HIDALGO M, BEIJNEN J, VAN KESTEREN C, ROSING H, CAMPBELL E, KRAYNAK M, LOPEZ LAZARO L, GUZMAN C, VON HOFF D, JIMENO J et ROWINSKY E.**

A phase I and pharmacokinetic study of ecteinascidin 743 on a daily x 5 schedule in patients with solid malignancies.

Clin Cancer Res 2002;**8**(1):75-85.

**WILSON S, JORDAN M.**

Microtubule dynamic : taking aim at a moving target.

Chem biol num 1995;**2**(9):569-573.

**WINEGARDEN J, MAUER A, GAJEWSKI T, HOFFMAN P, KRAUSS S, RUDIN C et VOKES E.**

A phase II study of bryostatins 1 and paclitaxel in patients with advanced non small cell lung cancer.

Lung Cancer 2003;**39**(2):191-6.

**YAO L.**

Aplidin Pharmamar.

IDrugs 2003;**6**(3):246-50.

**YOVINE A, RIOFRIO M, BLAY J, BRAIN E, ALEXANDRE J, KAHATT C, TAAMMA A, JIMENO J, MARTIN C, SALHI Y, CVITKOVIC E et MISSET J.**

Phase II study of ecteinascidin 743 in advanced pretreated soft tissue sarcoma patients.

J Clin Oncol 2004;**22**(5):890-9.

**ZASK A, KAPLAN J, MUSTO S et LOGANZO F.**

Hybrids of the hemiasterlin analogue taltobulin and the dolastatins are potent antimicrotubule agents.

J Am Chem Soc 2005;**127**(50):17667-71.

**ZELEK L, YOVINE A, BRAIN E, TURPIN F, TAAMMA A, RIOFRIO M, SPIELMANN M, JIMENO J et MISSET J.**

A phase II study of Yondelis as a 24H continuous intravenous infusion in pretreated advanced breast cancer.

Br J Cancer 2006;**94**(11):1604-4.

**ZONDER J et PHILIP P.**

Pharmacology and clinical experience with bryostatin 1: a novel anticancer drug

Expert Opin Invest Drugs 1999;**8**(12):2189-2199.

**ZONDER J, SHIELDS A, ZALUPSKI M, CHAPLEN R, HEILBRUN L, ARLAUSKAS P et PHILIP P.**

A phase II trial of bryostatin 1 in the treatment of metastatic colorectal cancer.

Clin Cancer Res 2001;**7**(1):38-42.

# Références internet

## Références internet.

Aeterna Zentaris.

<http://www.aeternazentaris.com/fr> , consulté le 10/11/07

Biogassendi.

<http://biogassendi.ifrance.com/requincancer.htm> , consulté le 10/11/07

Bugula neritina, introduced Marine species of Hawaii Guidebook.

<Http://www.bishopmuseum.org/HBS/invertguide/species/bugula> , consulté le 07/12/07

Clincancerres.

<http://clincancerres.aacrjournals.org/content/abstract/7/3/724> , consulté le 10/11/07

Clinicaltrials.gov.

<http://clinicaltrials.gov/ct/show> , consulté le 07/12/07

CUA : Neovastat's safety/dose-related activity for Prostate Cancer Confirmed.

<http://www.pslgroup.com/dg> . , consulté le 10/11/07

Eisei announces change in US submission Schedule for E7389.

<http://www.fiercebiotech.com/press-releases/eisei-announces-change> , consulté le 01/01/08

EMA, European Medicines Agency.

<http://www.emea.europa.eu> , consulté le 01/01/08

FDA : Food Drug Administration.

<http://www.fda.gov/cder> , consulté le 07/12/07

FierceBiotech.

Eisei announces change in US submission schedule fort E7389 new drug application.

<http://www.fiercebiotech.com/press-releases/eisei-annouces-change> , consulté le 10/11/07

Imago Mundi, les spongiaires ou porifères (éponges).

<http://www.cosmovisions.com/spongiaires.htm> , consulté le 07/12/07

La terre du future, la Squalamine, ou en est on ?

<http://www.laterredufutur.com> , consulté le 10/11/07

Le DEVOIR.com.

Du cartilage de requin pour soigner le cancer de Pauline Gravel.

<http://www.ledevoir.com> , consulté le 25/03/08

Le Monde Vivant : les tuniciers.

<http://www.cosmovisions.com/tuniciers.htm> , consulté le 25/03/08

Les bryozoaires.

<http://antonysub.media.free.fr/bio/doc> , consulté le 10/11/07

Lièvre de mer Aplysia.

[http://www.marine-life.biz/catalog/product\\_info.php](http://www.marine-life.biz/catalog/product_info.php) , consulté le 25/03/08

Marine Natural Products under clinical trials.

<http://www.bioaqua.net/mnp> , consulté le 10/11/07

Ma sante naturelle.com.

<http://www.masantenaturelle.com/chronique> , consulté le 10/11/07

Mer et littoral, la biologie des tuniciers.

<http://www.mer-littoral.org/> , consulté le 04/04/08

Newsire.

Kahalalide F commence les essais de phase II pour le cancer du poumon.

<http://www.prnewswire.co.uk/cgi/news/release> , consulté le 25/02/08

Nutranews : Science, nutrition, prévention et santé.

[www.nutranews.org/IMG/pdf](http://www.nutranews.org/IMG/pdf) , consulté le 01/06/08

Passport.sante.

<http://www.passeportsante.net/fr> , consulté le 25/03/08

PharmaMar.

[http://www.pharmamar.es/en/press/news\\_release.cfm](http://www.pharmamar.es/en/press/news_release.cfm) , consulté le 25/03/08

Reserve Naturelle Marine de Cerbère-Banyuls.

[http://www.cg66.fr/environnement/espaces\\_naturels/reserve\\_marine](http://www.cg66.fr/environnement/espaces_naturels/reserve_marine) , consulté le 04/04/08

Squalamine Lactate plus carboplatin in treating patients with recurrent or refractory stage III or stage IV ovarian cancer.

<http://clinicaltrials.gov/show> , consulté le 25/03/08

The freelibrary.

<http://www.thefreelibrary.com/ilex> , consulté le 25/03/08

Wikipedia mollusques.

<http://fr.wikipedia.org/wiki/Mollusque> , consulté le 05/05/08

Wikipedia porifera.

<http://fr.wikipedia.org/wiki/porifera> , consulté le 05/05/08

Wikipedia requins.

<http://fr.wikipedia.org/wiki/requin> , consulté le 05/05/08

**Résumé de la thèse :**

La prévalence du cancer chez l'Homme connaît une forte augmentation ces dernières années. L'arsenal thérapeutique déjà mis en place depuis plusieurs années reste efficace et fiable mais au vu de la progression de ce problème de santé public il devenait urgent d'exploiter d'autres sources possibles d'anticancéreux.

La mer est peuplée d'organismes producteurs de molécules actives qui ont prouvé leur efficacité dans le domaine du cancer et qui se retrouvent, pour neuf d'entre elles, dans des essais cliniques de phase II; il s'agit de la dehydrodidemmine B, la dolastatine 10, la cématodine, la synthadotine, la bryostatine 1, le kahalalide F, l'E 7389, l'HTI 286 et la squalamine. Deux autres molécules font l'objet d'essais cliniques de phase III ; il s'agit du Yondelis® et du Néovostat®.

Chacune de ces onze molécules a été étudiée dans le détail depuis son organisme producteur marin, en passant par les différents essais cliniques mis en œuvre jusqu'aux perspectives d'avenir.

La mer est également peuplée de poissons cartilagineux comme le requin dont le cartilage est exploité pour son action anti angiogénique. En effet, son efficacité a été démontrée à plusieurs reprises, une molécule issue du cartilage : le Néovostat® est aujourd'hui en essai clinique de phase III dans le traitement du cancer rénal et du cancer du poumon non à petites cellules.

---

**MOTS CLES : PRODUITS MARINS – CANCERS - ESSAIS CLINIQUES –  
CARTILAGE DE REQUIN.**

---

**JURY**

**Présidente : Mme Nicole GRIMAUD, Maître de Conférences de Pharmacologie  
Faculté de Pharmacie de Nantes**

**Membres du Jury : M. Jean-François BIARD, Professeur de Pharmacognosie  
Faculté de Pharmacie de Nantes  
Mme Martine FOREAU-COUDERT, Pharmacien  
2 rue de la pépinière 44880 SAUTRON**

---

**Adresse de l'auteur :  
5 chemin des noisetiers, 44700 Orvault**