

## Recherche de molécules bioactives produites par des micro-organismes isolés d'une éponge de l'Océan Indien, *Scopalina Hapalia*

**LE LOARER Alexandre**, FOUILLAUD Mireille, DUFOSSE Laurent, GAUVIN-BIALECKI Anne

Laboratoire de Chimie et de Biotechnologie des Produits Naturels (CHEMBIOPRO)  
Université de la Réunion - Faculté des Sciences et Technologies  
15 Avenue René Cassin, CS 92003, 97744 Saint Denis Messag Cedex 9

Le doctorat réalisé par M. Le Loarer Alexandre s'inscrit dans le cadre d'un projet FEDER intitulé PHAR « Valorisation PHARmacologique de la biodiversité terrestre et marine du Sud-Ouest de l'Océan Indien par voies chimique et biotechnologique » porté par le laboratoire CHEMBIOPRO. Les objectifs de cette thèse sont la découverte de nouvelles molécules bioactives produites par des microorganismes marins et leurs valorisations par voie biotechnologique en industrie pharmaceutique.

La première étape des travaux a été consacrée la sélection des micro-organismes prometteurs. 9 souches microbiennes d'origine marines appartenant à différents genres tels que *Micromonospora*, *Salinispora*, *Bacillus* ou *Chaetomium* ont été mises en culture au laboratoire. Les composés produits ont été extraits grâce à un solvant organique, afin d'obtenir des extraits bruts microbiens. Ces extraits ont fait l'objet d'un criblage chimique et biologique afin d'évaluer la présence de molécules bioactives. Le criblage chimique a été réalisé grâce à deux types d'analyses chromatographiques. La première réalisée par CLHP-CAD/UV a permis de donner une idée générale de la richesse des extraits en métabolites microbiens ; la seconde réalisée par CLUHP-SM<sup>2</sup> (Institut des Sciences Pharmaceutiques, Université de Genève) a permis de construire des réseaux moléculaires (représentations graphiques des molécules présentes et de leur proximité spectrale) et d'identifier l'éventuelle présence de composés d'intérêt. Les activités ciblées pour le criblage biologique ont été l'activité anticancéreuse (tests réalisés à l'ICSN-CNRS) et l'activité antipaludique (tests réalisés à l'Institut de Pharmacognosie de l'Université de Liège). Les criblages effectués ont permis d'attribuer à chaque micro-organisme, des scores, basés sur les résultats obtenus lors des criblages chimiques et biologiques. Un troisième score de « nouveauté » a été calculé en fonction du nombre de molécules décrites dans la littérature pour l'espèce. Ces trois critères (Profil Chimique, Activité Biologique, Nouveauté des molécules) ont permis de classer les micro-organismes de façon à sélectionner les plus prometteurs pour la suite des travaux.

La seconde étape a été de déterminer l'influence des paramètres de culture sur la production en métabolites microbiens. Pour 3 micro-organismes, un plan d'expérience faisant varier les paramètres *durée de la culture* (7, 14, 21j), *type de support* (milieu de culture solide ou liquide) ou encore *composition du milieu* (A1/MB), a été réalisé. Cette étape a permis de déterminer les paramètres de culture optimaux pour chacune des souches.

Les travaux menés aux étapes 1 et 2, ont conduit à la sélection de deux souches prometteuses, *Micromonospora fluostatini* et *Micromonospora echinospora*. Une grande quantité de leurs extraits a été produite afin d'effectuer l'isolement et la purification des métabolites microbiens. Pour cela deux techniques séparatives ont été utilisées : une chromatographie semi-préparative et un microfractionnement. Les métabolites microbiens ont ensuite été identifiés par Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) et par spectrométrie de masse haute résolution (Institut des Sciences Pharmaceutiques, Université de Genève). Onze (11) métabolites microbiens dont 3 n'ayant encore jamais été décrits dans la littérature ont ainsi été identifiés.

En parallèle de l'isolement, de nouveaux extraits microbiens ont été produits, issus de la co-culture de différents micro-organismes. Les co-cultures sont réalisées dans le but d'induire la production de nouveaux métabolites bioactifs. D'autres paramètres de culture ont également été étudiés, comme l'utilisation d'amberlite, une résine permettant de capter certains métabolites afin d'en optimiser la production. Ce travail est toujours en cours.