

Valorisation phytochimique et biologique du bois de pin blanc

Christina Thibeault, Vakhtang Mshvildadze, Jean Legault et André Pichette

UQAC

Université du Québec
à Chicoutimi

Laboratoire d'Analyse et de Séparation des Essences Végétales, Département des Sciences Fondamentales,
Université du Québec à Chicoutimi, Chicoutimi, Québec, Canada, G7H 2B1



01. INTRODUCTION

Comme le montre le contexte sanitaire actuel, il existe encore un fort besoin de découverte de nouveaux médicaments pouvant agir sur un éventail de pathologies. Dans cette perspective, il faut admettre que les plantes demeurent une source privilégiée de composés bioactifs utiles. En effet, bien qu'on estime que plus de 60 % des médicaments ont une origine végétale, il existe encore une grande proportion de plantes non étudiées ou non valorisées [1]. À ce titre, la forêt boréale représente une banque potentielle de produits naturels pouvant faire l'objet de nouvelles voies de valorisation fine. Le pin blanc (*Pinus strobus*), qui est le plus grand conifère de l'est du Canada, démontre un intérêt en raison de l'activité antifongique et antibactérienne qui le caractérise. À ce jour, peu d'études ont été réalisées sur ce dernier bien qu'il soit utilisé depuis longtemps dans la médecine amérindienne pour le traitement de la douleur, des infections et de l'inflammation [2]. Il est donc opportun de se pencher sur sa composition et ses propriétés pharmacologiques. Ce travail se penchera sur l'étude des composants bioactifs du bois de pin blanc, la caractérisation structurale des composés purs ainsi que l'évaluation de leurs activités biologiques.



02. MÉTHODOLOGIE

Extraction séquentielle assistée par les ultrasons



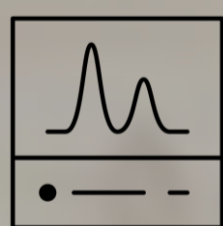
Premier solvant : Hexanes (deux extractions) Durée : 1h par extraction
Deuxième solvant : Éthanol (trois extractions) Température : 40°C
Ratio solide-liquide : 1 pour 7

Fractionnement et isolation



- Criblage phytochimique et révélateurs spécifiques
- Techniques chromatographiques sur silice et sur basse pression
- Séparation en phase inverse sur colonne C-18 par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) semi-préparative

Analyse et caractérisation



- Évaluation de la pureté sur HPLC analytique couplée à un détecteur UV à barrette de diodes (DAD)
- Caractérisation complète par résonance magnétique nucléaire (RMN) et spectrométrie de masse (MS)

Activité biologique



Antibactérien : tests sur *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* [3]
Antifongique : tests sur *Candida albicans* [3]
Cytotoxique : tests sur des lignées cellulaires cancéreuses (A-549 et DLD-1) ainsi que sur des lignées saines (WS-1) [4]

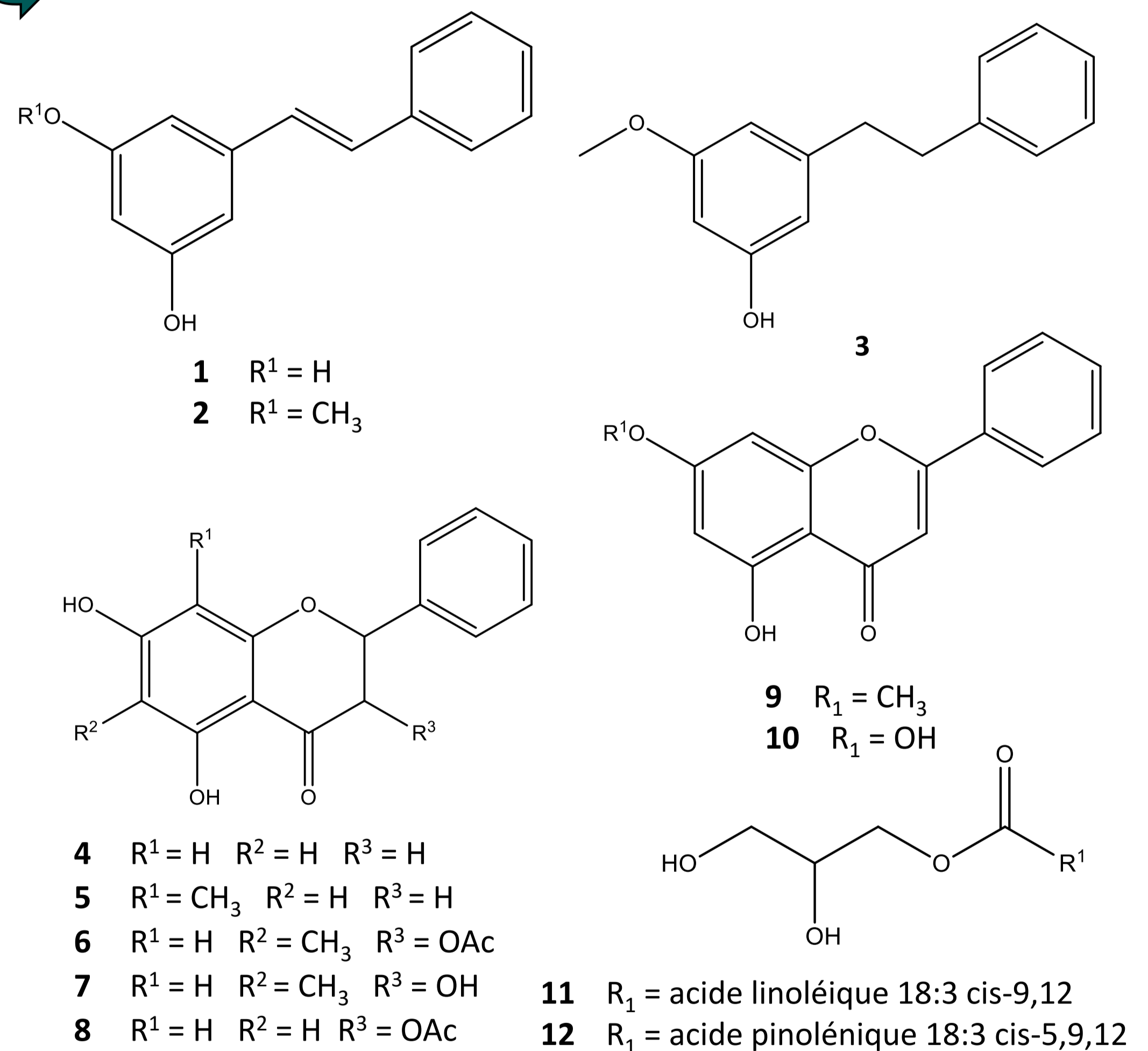
REMERCIEMENTS

Ce projet est soutenu par le programme Alliance du Conseil de Recherches en Sciences Naturelles et Génie du Canada (CRSNG) et par le Ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs (MFFP). Nous remercions également Catherine Dussault et Karl Girard-Lalancette pour les tests d'activités biologiques.

03. RÉSULTATS

Le fractionnement bioguidé de l'extrait éthanolique (rendement de 5%) a permis l'obtention de six fractions enrichies en composés polyphénoliques. Les deux fractions actives ont mené à l'isolation de douze composés pour l'instant : le pinosylvin (**1**), le pinosylvin monométhyl éther (**2**), le dihydropinosylvin monométhyl éther (**3**), la pinocembrine (**4**), le cryptostrobin (**5**), le (2R,3R)-3-acetoxy-5,7-dihydroxy-6-méthylflavanone (**6**), le (2R,3R)-3,5,7-trihydroxy-6-méthylflavanone (**7**), la pinobanksine 3-acétate (**8**), la tectochrysin (**9**), la chrysin (**10**), un monoglycéride d'acide linoléique (**11**) et un d'acide pinolénique (**12**). Tous les composés isolés ont déjà été identifiés chez d'autres espèces du genre *Pinus*. En revanche, c'est la première fois que l'on décrit l'acide pinolénique sous forme de monoglycéride biosynthétique.

La fraction contenant les composés **1**, **2**, **3**, **4**, **5** et **6** montre une forte activité antifongique contre *Candida albicans* (IC50 = 24,8 ± 0,4 µg/ml) ainsi qu'une cytotoxicité contre des cellules cancéreuses du poumon, A-549 (IC50 = 89 ± 4 µg/ml), et du côlon, DLD-1 (IC50 = 67 ± 3 µg/ml). En revanche, elle montre une toxicité contre des cellules saines (IC50 = 76 ± 6 µg/ml). À ce stade, aucune activité antibactérienne n'a été mesurée. Néanmoins, les données de la littérature font ressortir des propriétés pharmacologiques pour plusieurs des composés identifiés : anti-inflammatoire, anti-oxydant, neuroprotectif, antitumoral, antibactérien, antiviral, antiasthmatique, vasorelaxateur et anti-glycation [5-8]. Il est donc possible d'émettre l'hypothèse que les criblages sur les composés purs donneront de bons résultats.



04. CONCLUSION

- ✓ Douze composés isolés du bois de pin blanc, dont certains sont décrits dans la littérature pour leurs activités biologiques intéressantes.
- ✓ Une fraction démontrant une forte activité antifongique contre *Candida albicans*, ce qui est relativement rare.
 - ✓ Un composé jamais décrit (**12**).

RÉFÉRENCES

- [1] Newman DJ et Cragg GM. 2020. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. *Journal of natural products*, 83 : 770-803. [2] Sasseville D. 2012. Médecine traditionnelle amérindienne et dermatologie. *Progrès en dermato-allergologie: Besançon 2012*, 18 : 95.[3] Banfi E, Scialino G et Monti-Bragadin C. 2003. Development of a microdilution method to evaluate *Mycobacterium tuberculosis* drug susceptibility. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 52 : 796-800.[4] O'Brien J, Wilson I, Orton T et Pognan F. 2000. Investigation of the Alamar Blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity. *European journal of biochemistry*, 267 : 5421-5426. [5] Potipiranun T, Adisakwattana S, Worawalai W, Ramadhan R et Phuwapraisirisan P. 2018. Identification of pinocembrin as an anti-glycation agent and α-glucosidase inhibitor from fingerroot (*Boesenbergia rotunda*): The tentative structure-activity relationship towards MG-trapping activity. *Molecules*, 23 : 3365.[6] Sayre CL, Takemoto JK, Martinez SE et Davies NM. 2013. Chiral analytical method development and application to pre-clinical pharmacokinetics of pinocembrin. *Biomedical Chromatography*, 27 : 681-684. [7] Mani R et Natesan V. 2018. Chrysin: Sources, beneficial pharmacological activities, and molecular mechanism of action. *Phytochemistry*, 145 : 187-196.[8] Lee SK, Lee HJ, Min HY, Park EJ, Lee KM, Ahn YH, Cho YJ et Pyee JH. 2005. Antibacterial and antifungal activity of pinosylvin, a constituent of pine. *Fitoterapia*, 76 : 258-260.