

Marie Frissard, Jean Legault, Vakhtang Mschildadze, André Pichette.

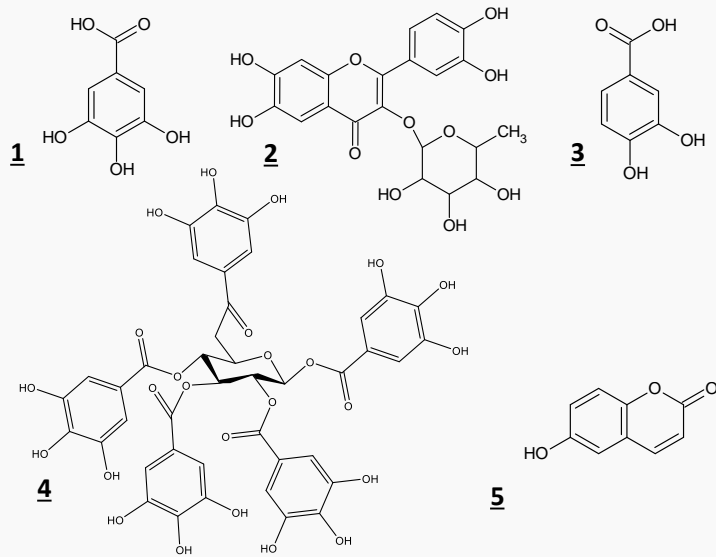
Laboratoire d'Analyse et de Séparation des Essences Végétales, Département des Sciences Fondamentales,
Université du Québec à Chicoutimi, Chicoutimi, Québec, Canada, G7H 2B1.

Introduction

L'étude de produits naturels bioactifs issus de plantes souvent utilisées en médecine traditionnelle est encore aujourd'hui une voie privilégiée pour la découverte de nouveaux médicaments. Ainsi quatre plantes de la forêt boréale utilisées par les Premières Nations pour leurs propriétés antibactériennes ont été sélectionnées pour ce projet. Il s'agit du *Cornus sericea* L., la *Monarda didyma*, le *Rhododendron groenlandicum* et le *Rhus typhina*. À la suite d'un criblage chimique et d'une activité antibactérienne marquée, le *Rhus typhina* a été retenu pour l'isolation de composés ¹⁻⁴. L'objectif de ce travail est d'identifier le ou les composés responsables de l'activité antibactérienne en procédant à un fractionnement guidé par l'activité.

Méthodes

Les plantes ont été récoltées à l'été 2019 au Saguenay, séchées et broyées. L'extrait méthanolique a été séparé par partition entre l'eau et l'acétate d'éthyle. La fraction acétate d'éthyle (AcOEt), la plus active, a été soumise à une série de purifications chromatographiques bioguidées jusqu'à obtention des fractions enrichies en polyphénols 1 (tannins, acides phénoliques) et 2 (coumarines, flavonoïdes) à partir desquelles des composés purs ont été isolés. Ces composés ont été analysés par chromatographie liquide haute performance couplée à la spectrométrie de masse (HPLC-MS) ainsi que par différentes expériences en résonance magnétique nucléaire (RMN 1D et 2D) afin de déterminer leur structure chimique. L'activité cytotoxique contre WS-1 (lignée saine de fibroblaste cutané humains) a été déterminée par un test de la réduction de la résazurine et un dosage d'ADN par Hoechst. Les tests antifongique et antibactérien ont été réalisés sur des microplaques 96 puits et lecture de l'absorbance. L'activité antioxydante est déterminée par le test ORAC.



Résultats

Les composés identifiés appartiennent aux familles des tannins, des flavonoïdes, des coumarines, des acides phénoliques et des triterpènes dont l'acide gallique **1**, la quercitrine **2**, l'acide 3,4-dihydroxybenzoïque **3**, le 1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl-beta-D-glucose **4** et la 6-hydroxycoumarine **5**. Des fractions enrichies en tannins de *Rhus typhina* ont montré une activité antibactérienne contre *Escherichia coli* ($IC_{50} < 20 \mu\text{g/mL}$) et *Staphylococcus aureus* ($IC_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$) (Tableau 1). Une fraction enrichie en acides phénoliques et en coumarines a également montré un potentiel antibactérien significatif contre *Escherichia coli* ($IC_{50} < 10 \mu\text{g/mL}$) et *Staphylococcus aureus* ($IC_{50} < 35 \mu\text{g/mL}$) (Tableau 1). Plusieurs fractions enrichies en polyphénols montrent une activité antioxydante sur WS-1 et ORAC proches de ceux du contrôle (Tableau 1). Ces différentes fractions ne montrent pas de cytotoxicité contre WS-1 par rapport au témoin (Tableau 1).

Tableau 1 : Caractérisation de l'activité biologique des fractions enrichies en tannins et composés phénoliques de *Rhus typhina*.

Échantillons	Activité antibactérienne		Antioxydant cellulaire		Cytotoxicité	
	IC_{50} <i>E.coli</i>	IC_{50} <i>S.aureus</i>	IC_{50} WS1	ORAC	Resazurine WS-1	Hoechst WS-1
Fraction AcOEt	7,7 ± 0,9 µg/ml	31 ± 8 µg/ml	0,100 ± 0,006 µg/ml	2,2 ± 0,2 µmol TE/mg	102 ± 14 µg/ml	58 ± 7 µg/ml
Fraction 1	12 ± 1 µg/ml	38 ± 9 µg/ml	0,095 ± 0,009 µg/ml	3,3 ± 0,5 µmol TE/mg	44 ± 7 µg/ml	44 ± 8 µg/ml
Fraction 2	5,2 ± 0,6 µg/ml	33 ± 6 µg/ml	0,0024 ± 0,0008 µg/ml	3,2 ± 0,4 µmol TE/mg	42 ± 5 µg/ml	45 ± 3 µg/ml
Gentamycine	0,0091 ± 0,0004 µg/ml	0,0101 ± 0,0004 µg/ml				
Quercétine			0,08 ± 0,01 µg/ml	23 ± 3 µmol TE/mg		
Etoposide					43 ± 20 µM	11 ± 4 µM

Conclusion

Plusieurs composés polyphénoliques ont été isolés dans les fractions 1 et 2 enrichies en polyphénols de type tannins, acides phénoliques, flavonoïdes et coumarines ayant des activités antibactériennes. L'activité antioxydante des fractions est significativement supérieure à celle du contrôle. De plus, l'activité antibactérienne pour chaque fraction est proche de celui du contrôle. Enfin ces fractions ne montrent pas de cytotoxicité. L'activité de chacun de ces composés sera analysée afin de déterminer leur rôle dans l'activité biologique des fractions.

Remerciements

Ce projet est soutenu par le Conseil de Recherches en Sciences Naturelles et Génie du Canada (CRSNG) ainsi que 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.

Références

- Popescu, R., Kopp, B. (2013) The genus *Rhododendron*: An ethnopharmacological and toxicological review. *J. Ethnopharmacol.*, 147(2): 42-62.
- Ricci, D., Epifano, F., Fraternali, D. (2017) The Essential Oil of *Monarda didyma* L. (Lamiaceae) Expert Phytotoxic Activity In Vitro against Various Weed Seeds. *Molecules*, 22(2): 222.
- Kossah, R., Zhang, H., Chen, W. (2011) Antimicrobial and antioxidant activities of Chinese sumac (*Rhus typhina* L.) fruit extract. *Food Control.*, 22(1):128-132.
- Dufour, D., & al. (2007) Antioxidant, anti-inflammatory and anticancer activities of methanolic extracts from *Ledum groenlandicum* Retzius. *J. Ethnopharmacol.*, 111(1): 22-28.