

Étude phytochimique et biologique d'une plante médicinale algérienne : *Carthamus Caeruleus L*

Naziha Bendou, Yacine Boumghar¹, Vakhtang Mshvildadze², Jean Legault², André Pichette².

¹Centre d'études des procédés chimiques du Québec (CÉPROCQ), Montréal, Québec, Canada, H1N 1C1

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



INTRODUCTION

Une plante endémique connue dans le nord algérien, notamment en Kabylie sous son nom vernaculaire « Mersgess » [1].

Carthamus



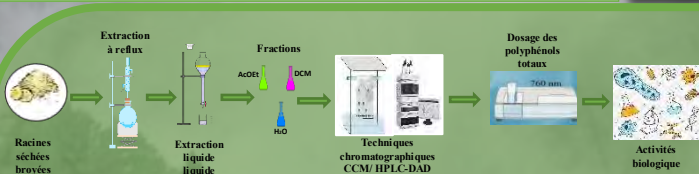
Caeruleus

Dans la médecine traditionnelle, ses racines sont largement utilisées, sous une forme semi-solide, particulièrement dans le traitement des brûlures cutanées et la cicatrisation.

Une espèce rencontrée en Méditerranée dans les clairières humides des forêts, les plaines, les bords des ruisseaux et surtout dans les terrains argileux [2].

L'objectif de cette recherche vise l'analyse phytochimique (portions polyphénolique et terpénique) et l'évaluation biologique (activités cytotoxique, anti-inflammatoire, antibactérienne, antifongique et antioxydant) afin de mieux rationaliser les propriétés anti-brûlures de cette plante.

MÉTHODE



Extraction et séparation

Une extraction à reflux (méthanol et 70 % méthanol aqueux) a été effectuée sur la poudre des racines séchées, l'extrait brut a été fractionné par une série d'extraction liquide-liquide successive avec différents solvants de polarité croissante : dichlorométhane, acétate d'éthyle et eau.

Analyse

Analyse de l'extrait et des fractions sur couche mince (CCM) en complément d'un système de chromatographie liquide haute performance, couplé à un détecteur UV-DAD afin d'identifier, plus précisément, la nature des marqueurs chimiques et biologiques présents dans les échantillons.

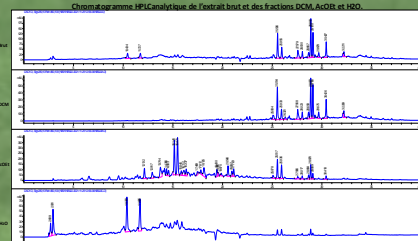
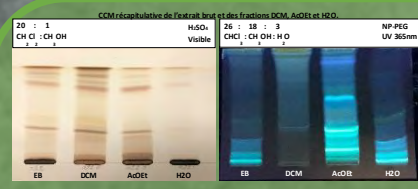
Dosage

Le dosage des polyphénols a été réalisé selon la méthode de Folin-Ciocalteu.

Activités biologiques

Le potentiel anticancéreux a été évalué grâce à un test mesurant la cytotoxicité des échantillons contre trois lignées cellulaires d'origine humaine, soient des cellules de carcinome pulmonaire A549, d'adénocarcinome colorectal DLD-1, ainsi que des fibroblastes de peau WS-1. La mesure de la cytotoxicité s'effectue en combinant deux tests utilisant deux fluorochromes distincts : la résazurine et le Hoechst [3]. L'activité anti-inflammatoire a été effectuée au moyen d'un test mesurant l'inhibition de la production de monoxyde d'azote (NO) [4]. L'activité antibactérienne a été mesurée en utilisant la méthode de microdilution [5].

RÉSULTATS



L'extrait brut (EB) a un rendement de 9,24%. Les analyses chromatographiques (CCM et HPLC-DAD) ont montré la présence des composés polyphénoliques et terpéniques.

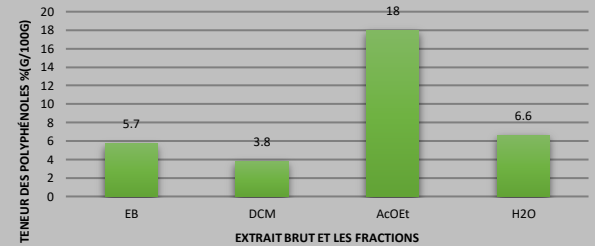
L'analyse des CCM dans un milieu apolaire révélée avec H₂SO₄ a confirmé la présence des terpènes apolaires dans la fraction DCM.

Des CCM réalisés dans un milieu plus polaire révélée avec NP-PEG montre que la fraction AcOEt est riche en composés phénoliques moyennement polaires.

Des composés phénoliques très polaires ont été observés dans les plaques révélées avec NP-PEG.

L'analyse HPLC-UV analytique a confirmé la présence des composés phénoliques et terpéniques à différentes longueurs d'onde (210 à 365nm).

Dosage des polyphénols totaux



Les résultats de dosage des polyphénols totaux montrent que la fraction d'acétate d'éthyle des racines de *Carthamus Caeruleus L* est plus riche en polyphénols avec teneur de (18 ± 2% g/100g) en comparaison des deux autres fractions.

L'évaluation de l'activité cytotoxique sur les cellules cancéreuses a révélé que les fractions DCM et AcOEt sont cytotoxiques pour les lignes cancéreuses (A-549, DLD-1). Contrairement aux fractions DCM et AcOEt, l'extrait aqueux ne montre pas de cytotoxicité.

Échantillons	Resazurine			Hoechst		
	A-549	DLD-1	WS-1	A-549	DLD-1	WS-1
EB	>200 µg/ml	>200 µg/ml	>200 µg/ml	>200 µg/ml	148 ± 14 µg/ml	122 ± 36 µg/ml
DCM	108 ± 7 µg/ml	59 ± 2 µg/ml	62 ± 3 µg/ml	75 ± 9 µg/ml	32 ± 9 µg/ml	35 ± 7 µg/ml
AcOEt	>200 µg/ml	126 ± 7 µg/ml	135 ± 11 µg/ml	191 ± 18 µg/ml	69 ± 9 µg/ml	77 ± 8 µg/ml
H2O	>200 µg/ml	>200 µg/ml	>200 µg/ml	>200 µg/ml	>200 µg/ml	>200 µg/ml
Etoposide	>50 µM	24 ± 4 µM	6,0 ± 0,4 µM	3,7 ± 0,8 µM	7 ± 1 µM	1,1 ± 0,3 µM

Les fractions DCM et AcOEt ont montré une activité anti-inflammatoire significative avec une inhibition de NO de 100% à 40 µg/ml et de 80% à 40 µg/ml, respectivement.

L'évaluation de l'activité antibactérienne a démontré que les fractions DCM et AcOEt sont actives avec des IC₅₀ de 17±9 µg/ml et 62±14 µg/ml contre *E.coli* et de 18±4 µg/ml et 85±1 µg/ml contre *S.aureus*, respectivement.

Échantillons	Activité anti-bactérienne		Anti-inflammatoire sur RAW264.7		Toxique à partir de...
	IC50	IC50	IC50	% inhibition à concentration maximale non toxique	
EB	83 ± 3 µg/ml	118 ± 3 µg/ml	-	<0% @ 80 µg/ml	160 µg/ml
DCM	17 ± 9 µg/ml	18 ± 4 µg/ml	13 ± 3 µg/ml	100% @ 40 µg/ml	80 µg/ml
AcOEt	62 ± 14 µg/ml	85 ± 1 µg/ml	18 ± 2 µg/ml	89% @ 40 µg/ml	80 µg/ml
H2O	>200 µg/ml	>200 µg/ml	>160 µg/ml	15% @ 160 µg/ml	NA
Gentamycine	0,0124 ± 0,0003 µg/ml	0,018 ± 0,001 µg/ml	-	-	-
Quercétin	-	-	L-NAME 250 µM	41 ± 5%	-
Catechin	-	-	L-NAME 1 mM	75 ± 9%	-

CONCLUSION

Les composés phénoliques et terpéniques ont été identifiés dans les extraits de différente polarité de *Carthamus Caeruleus*.

La fraction d'AcOEt présente une teneur plus élevée en polyphénols totaux.

Les fractions DCM et AcOEt possèdent des activités anti-cytotoxiques, anti-inflammatoire et anti-bactériennes significatives.

REMERCIEMENT

Ce travail est une partie intégrante du programme de recherche de la chaire de recherche industrielle du CRSNG dans les collèges sur les extractibles agroforestiers dont le titulaire est Dr Yacine Boumghar. Nous remercions Karl Lalancette, Catherine Dusseault pour tous les essais biologiques.

RÉFÉRENCES

- Quezel P, Santa S. (1963): Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tomes 2, ED. Centre national de la recherche scientifique, Paris.
- Pastrikos, G., 2018. *Carthamus Caeruleus* L. (Cardueae, Asteraceae), a new record for rodos island, greece. *Parnassiana archives* 6: 11-13.
- 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.
- Legault J, Girard-Lalancette K, Grenon C, Dussault C et Pichette A. 2010. Antioxidant activity, inhibition of nitric oxide overproduction, and in vitro antiproliferative effect of maple sap and syrup from *Acer saccharum*. *J Med Food*, 13: 460-468.
- Bañfi E, Scialino G et Monti-Bragadin C. 2003. Development of a microdilution method to evaluate *Mycobacterium tuberculosis* drug susceptibility. *Antimicrob Chemother. England*, p. 796-800.