



UNIVERSITE D'ANTANANARIVO

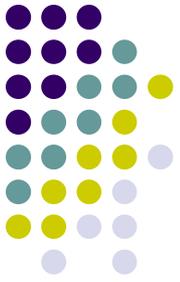


# EVALUATION DES ACTIVITES ANTIRADICALAIRE, ANTIMICROBIENNE ET CONSERVATION *EX-SITU* DE *Catharanthus lanceus* Pichon. (Apocynaceae)

LABORATOIRE DE PHYSIOLOGIE VEGETALE  
DBEV - UNIVERSITE D'ANTANANARIVO  
&  
LABORATOIRE DE BIOTECHNOLOGIE VEGETALE  
INSTITUT MALGACHE DE RECHERCHES APPLIQUEES

Présenté par : Fidson William ANDRIANANJAVELO

# INTRODUCTION



- Les *Catharanthus* ou «*vonenina*», plantes médicinales en usages thérapeutiques traditionnelles et modernes
- *Catharanthus roseus* : plus connue, source de médicaments anticancéreux.
- Source principale de la vinblastine et la vincristine (Schmelzer et al., 2008)
- Ce genre : 8 espèces dont 7 sont endémiques de Madagascar

# INTRODUCTION



- *Catharanthus lanceus* ou «Tsipelana»: plante endémique malgache
- Production des remèdes traditionnels améliorés (phytomédicaments)
- Contre les maux de dents ou la fièvre, purgatif et vermifuge (Schmelzer 2008)

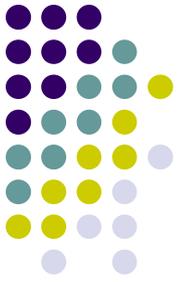
## Problématiques :

- ❖ dégradation de leur habitat naturel (culture, feu de brousse), récolte libre pour les usages thérapeutiques

## Objectifs :

- ❖ valorisation par les tests antiradicalaire et antimicrobienne et conservation *ex situ* de *C. lanceus*

# GENERALITES



**Famille** : APOCYNACEAE

**Genre** : *Catharanthus lanceus* Pichon

**Nom vernaculaire** : Tsipelana

## Description botanique

- Feuilles subsessiles, forme de lance
- Tiges quadrangulaires, rougeâtres
- Racine est charnue et pivotante
- Fleurs roses ou violettes
- Fruits apocarpes, bifolliculaires

Jeune plante de *C.lanceus*



# GENERALITES



## Composition chimique

- 21 alcaloïdes : ajmalicine, tetrahydroalstonine, yohimbine, lanceine  
cathalaceine, pérycyclivine , péryformyline, ...

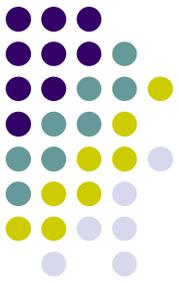
## Intérêt pharmacologique

- Alcaloïdes : contre la leucémie (Andriamanantsara, 1987)
- Extrait aqueux lyophilisé : activité antitumorale, (Schmelzer et al., 2008).

# MATERIEL ET METHODES

## Collecte des explants

### - Sites de collecte

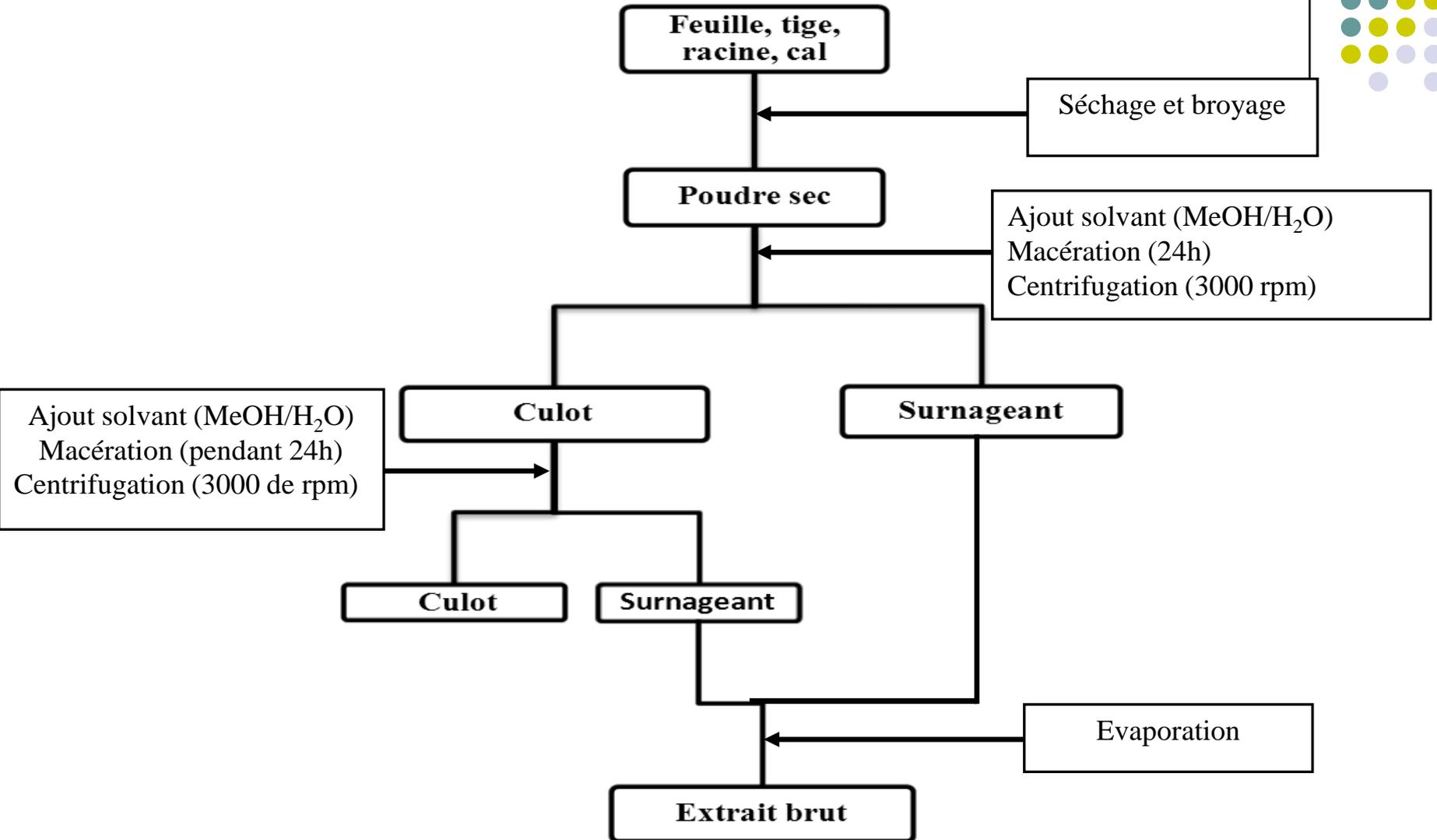


Accessions	Localisation géographique			
	Commune	Fokontany	Coordonnées GPS	Altitude (m)
A1	Ambalavao Ambatofotsy	Amboniandrefana	Lat. Sud 19° 06'	1 360
			Long. Est 47°31'	
A2	Ambanitsena	Ambanitsena	Lat. Sud 18°51'	1 367
			Long. Est 47°40'	
A3	Talata Volonondry	Ambohitrabiby	Lat. Sud 18°44'	1 421
			Long. Est 47°39'	
A4	Sabotsy Imeritsiatosika	Antongona	Lat. Sud 18°56'	1 348
			Long. Est 47°18'	
A5	Mahitsy	Mahitsy	Lat. Sud 18°45'	1 361
			Long. Est 47°21'	

- Paramètres évalués : Biomasse (Poids en matière sèche pour 10 échantillons)

# MATERIELS ET METHODES

## EXTRACTION DES PRODUITS



$$\text{Rendement} = \frac{\text{Poids des extraits obtenus}}{\text{Poids de la poudre au départ}} \times 100$$

# MATERIELS ET METHODES

## VALORISATION DE *C. lanceus*

### EVALUATION D'ACTIVITE ANTIRADICALAIRE DE *C. lanceus*



#### **1. Criblage sur chromatographie sur couche mince**

(détermination de l'existence des produits actifs après la révélation en utilisant le DPPH)

#### **2. Test sur spectrophotomètre**

(évaluation de la concentration du DPPH réduit à moitié)

#### **3. Test d'activité antimicrobienne**

(détermination de l'activité antimicrobienne des extraits sur *Staphylococcus aureus* ; *Streptococcus fecalis* ; *Citrobacter frundii* ; *Pseudomonas aeuginosa* ; *Escherischia coli* ; *Salmonella typhii* ; *Candida albicans*)

# MATERIELS ET METHODES



## *Culture in vitro*

	GERMINATION	MICROBOUTURAGE	INDUCTION CALS
EXPLANTS	Graines	Boutures	Feuilles, bourgeons, racines
MILIEU	Muraschige et Skoog (MS)		
PHYTOHORMONE		BA : 0,5 et 1mg/l TDZ : 0,1 et 0,5mg/l	2,4-D : 1 et 2mg/ml 2,4-D + BA : 1,5 et 0,5mg/ml TDZ : 0,5 et 1mg/ml
DESINFECTANTS	Hypochlorite de Calcium (5%) et rinçage		

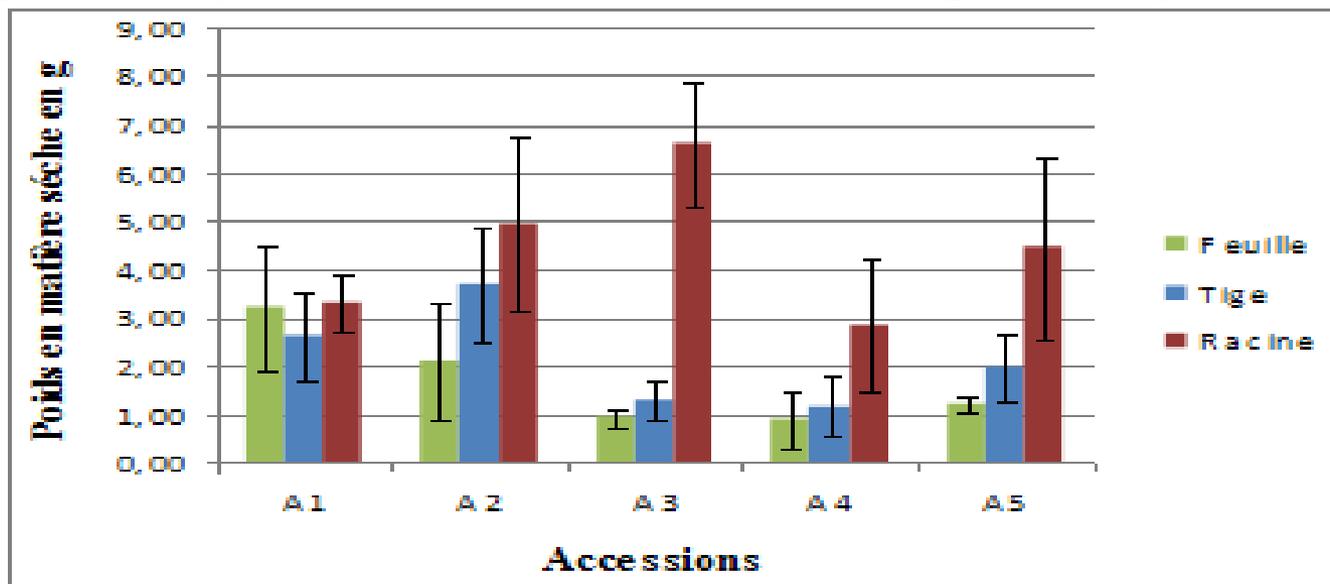
### *Autre conservation ex situ de C. lanceus*

#### **Banque de semences**

(Test de viabilité des graines par 2,3,5-Triphenyl-Tetrazolium Chloride ou TTC)

## RESULTATS ET DISCUSSIONS

**Figure** : quantité moyenne de matière sèche (biomasse) exprimée en gramme



Augmentation de biomasse : partie souterraine

**Tableau** : rendement moyen des extraits bruts (A1) et (A2) de *C. lanceus*

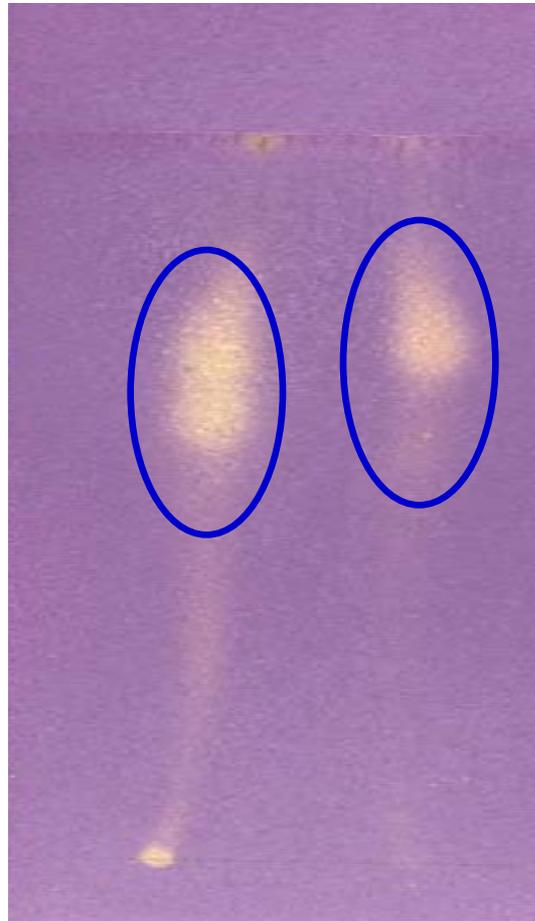
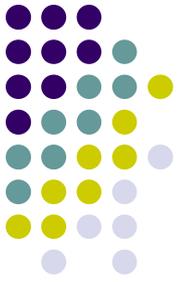
Poudre	Feuille	Tige	Racine	Cal
Poids (g)	6,14 ± 0,76	3,25 ± 0,35	5,45 ± 1,62	0,014 ± 0,006
Rendement moyen (%)	<b>30,7</b>	<b>20,75</b>	<b>27,25</b>	<b>44,19</b>

Variation de pourcentage : cal plus riche en extraits bruts

# RESULTATS ET DUSCUSSIONS

## Effet antiradicalaire de *C. lanceus*

### Activité par CCM



Zone contenant les  
produits antioxydants

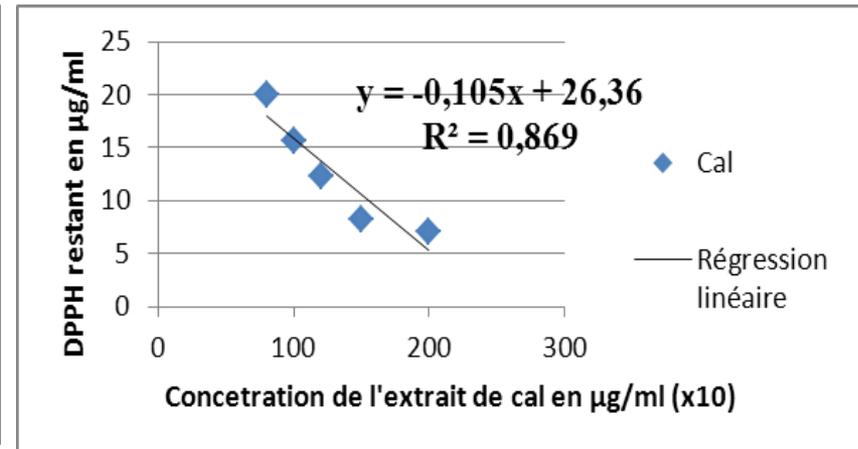
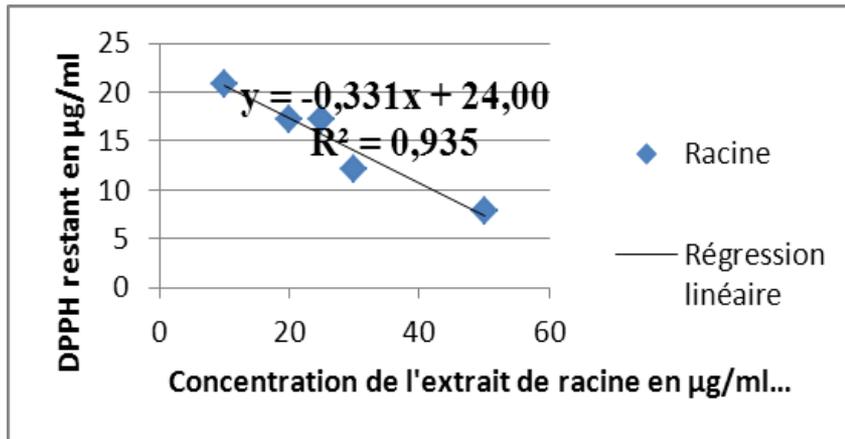
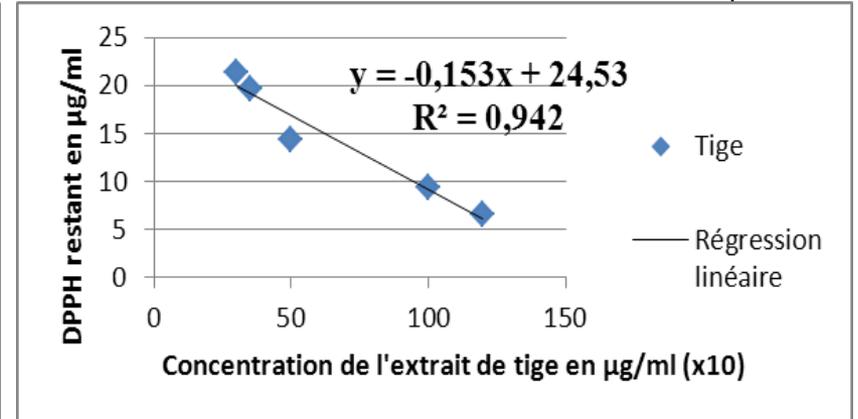
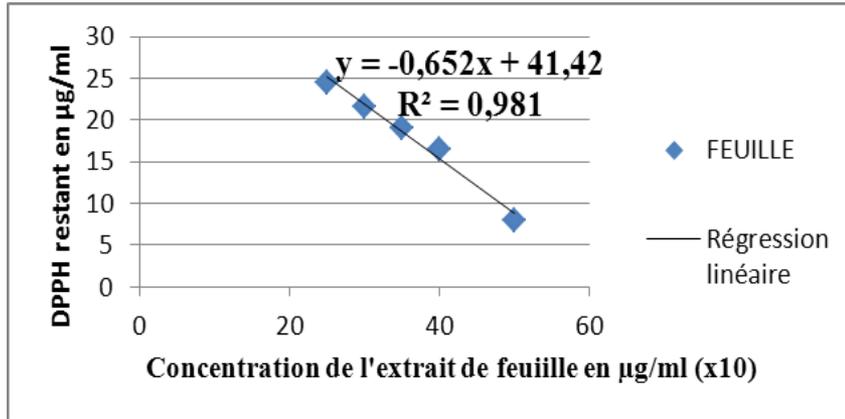
**Figure** : révélation sur plaque de silice des extrais de feuilles (à gauche) et de racines (à droite) de *C. lanceus*

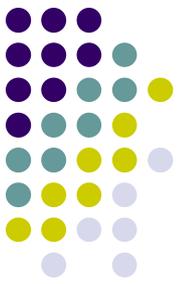
# RESULTATS ET DUSCUSSIONS

## Activité antiradicalaire par spectrophotométrie



Courbe de réduction de DPPH sur les extraits de feuilles, tiges, racines et cals





## RESULTATS ET DUSCUSSIONS

**Tableau** : effets antiradicalaires de l'acide gallique et des extraits bruts de *C. lanceus*

Matériel	CE <sub>50</sub> (µg/ml)
Acide gallique	400
Feuille	540
Tige	780
Racine	640
Cal	1320

Forte activité : feuille, plus faible pour le cal

- *Ebenus pinnata* avec CE50 = 1000µg/ml (Pedro et al., 2007)

# RESULTATS ET DUSCUSSIONS



## Activité antibactérienne de *C. lanceus*

**Tableau:** diamètre des zones d'inhibition des différents extraits de *C. lanceus*.

Produits Testés	Diamètre de zone d'inhibition (mm)						
	Bactéries gram positif		Bactéries gram négatif				Champignon unicellulaire
	<i>S. a.</i>	<i>S. f.</i>	<i>E. c.</i>	<i>P. a.</i>	<i>S. t.</i>	<i>C. f.</i>	<i>C. a.</i>
Streptomycine	-	7.4	12.2	9.5	7.5	8.0	7.2
Feuille	<b>9.7</b>	7.0	8.5	8.0	<b>14.9</b>	7.5	<b>9.0</b>
Tige	6.6	8.0	8.9	<b>10</b>	8.2	<b>9.2</b>	<b>9.5</b>
Racine	7.0	8.0	<b>10</b>	7.9	7.8	8.0	7.0

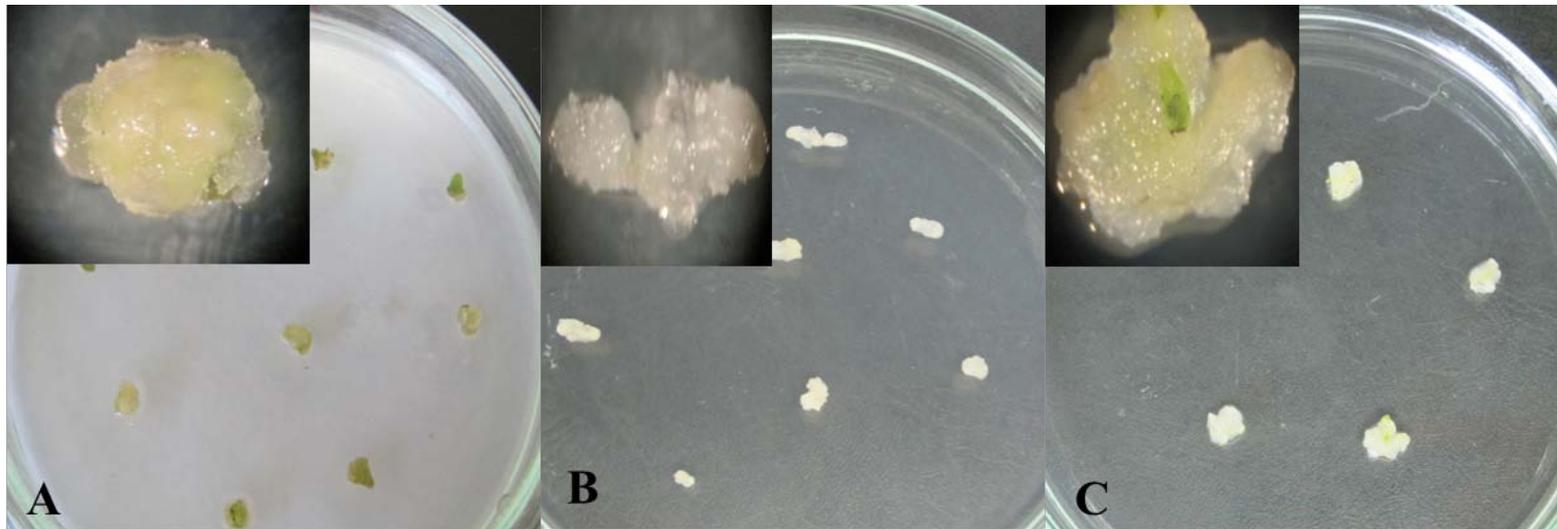
Extraits de feuilles : contre *S. aureus* et *S. thyphii*

Extraits de racines : *E. coli*, *C. frundii* et *P. aeroginosa*

# RESULTATS DUSCUSSIONS

**Tableau** : taux de germination et induction de cals

	Taux (%)	
Germination	Sans traitement	: 52,8
	Abrasion	: 60
	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	:15,2
Induction de cals	Bourgeons	: 100
	Racine	: 100
	Feuilles	: 25



**Figure** : Cals issus de *C. lanceus* cultivé sur milieu MS/2 additionné de 2,4D à 1,5mg/l + BA. 0,5mg/l  
A. Feuille ; B. Racine ; C. Bourgeon

# RESULTATS DUSCUSSIONS



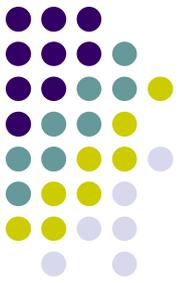
**Tableau** : nombre et longueur des pousses selon les phytohormones

Traitements	Teneur en phytohormones (mg/l)	Nombre de bourgeons	Longueur de pousses en cm	Formation Cal/Racine
MS/2 témoin	-	$2,00 \pm 0,21$	$3,40 \pm 1,01$	Cal
MS/2+BA	0,5	$3,00 \pm 1,22$	$4,36 \pm 1,38$	Cal
	1	$4,00 \pm 0,00$	$1,83 \pm 0,70$	Cal
	2	$8,00 \pm 1,35$	$0,80 \pm 0,31$	-
MS/2+TDZ	0,1	$1,00 \pm 1,41$	$9,96 \pm 0,86$	Cal
	0,5	$1,00 \pm 0,70$	$5,40 \pm 0,85$	Cal

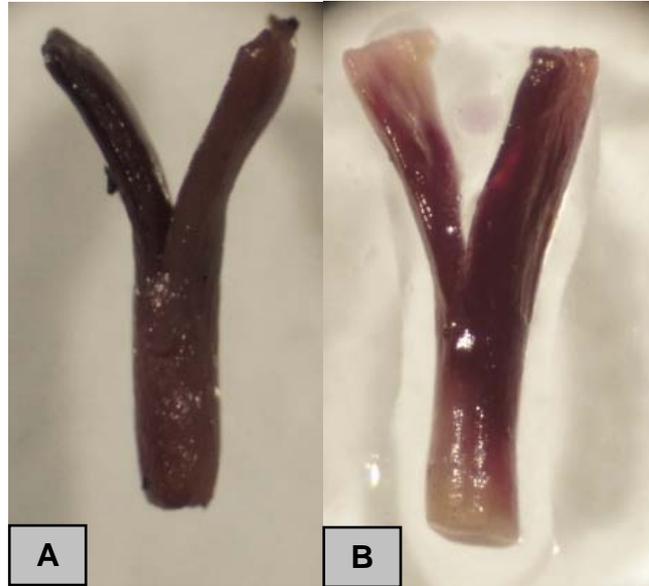


**Figure:** bourgeonnement des microboutures de *C. lanceus*:  
(A): BA 0,1mg/ml; (B): BA, 1mg/ml;(C): BA, 2mg/ml;  
(C): TDZ 0,5mg/ml et (E): TDZ 0,5mg/ml

# RESULTATS ET DUSCUSSIONS



## Conservation des graines



**Figure** : embryons issus de *C. lanceus* testé par TTC  
(**A**) : embryon non viable ; (**B**) : embryon viable

Un taux de viabilité : 90% (1mois), 60% (12 mois) et 34% (24 mois)

# CONCLUSION

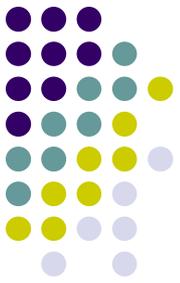


- Activité antiradicalaire : une forte antioxydante des feuilles ( $CE_{50}=540\mu\text{g/ml}$ )
- Présence des substances actives contre *S. Thyphii* dans les feuilles
- Validation de recherche et l'utilisation traditionnelle contre la diarrhée de cette plante, en particulier les feuilles
- Méthodes de culture *in vitro* utilisées : permis de maintenir cette ressource au laboratoire
- Renforcement la conservation *in vitro* par conservation des semences

# PERSPECTIVES



- Isolement et d'identification des molécules responsables contre *S. thyphii*
- Détermination de toxicité, la CMI, la CMB
- Autres méthodes de valorisation: activité cicatrisante, activité antipelliculaire
- *Culture in vitro*: phase d'enracinement et acclimations des plantes
- Création des graines artificielles avec un pouvoir germinatif plus élevé en utilisant la cryoconservation



**MERCI DE VOTRE AIMABLE ATTENTION!**