

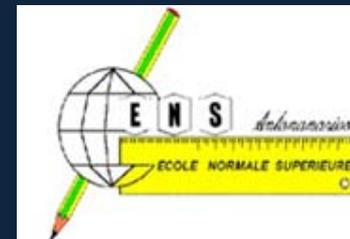


Université d'Antananarivo

Les iridoïdes de deux *Anthospermum* endémiques de Madagascar et leurs activités antibactériennes

Par RALAMBONIRINA R. T. Sylvia

SYMPOSIUM BIOMAD AVRIL 2011



RUBIACEAE, ANTHOSPERMUM ET IRIDOÏDES

Rubiaceae : Famille végétale comprenant 13200 espèces incluses dans 650 genres, connues pour la biosynthèse des iridoïdes.

Anthospermum : genre très peu étudié, aucune donnée phytochimique ni biologique disponible dans la littérature.

Anthospermum emirnense et *Anthospermum perrieri*

Herbacées endémiques de Madagascar

utilisées en **médecine traditionnelle** pour leurs propriétés
dépurative, stomachique, béchique, antiseptique et vulnéraire.



***A. emirnense* (AE)**

Hazonorana,
Kisanga,
Alaivana...



***A. perrieri* (AP)**

Hazonorana,
kofehimamy,
hazomamy

Nos travaux sur *A. emirnense* et *A. perrieri* : Premières données chimiques et biologiques sur le genre *Anthospermum*.

- Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of *Anthospermum emirnense* and *Anthospermum perrieri* (Rubiaceae).

Chemistry and Biodiversity, 2011, 8, 145-154.

S. T. Ralambonirina, R. Grougnet, P. Vérité, M. Lecsö, M.-J. Butel, F. Tillequin, C. Rakotobe Guillou, B. Deguin

60 molécules identifiées dans chacune des huiles essentielles ; 13 espèces bactériennes sensibles.

- 28 molécules isolées et identifiées des extraits non volatils, appartenant à des familles chimiques variées (iridoïdes, quinones, flavonoïdes, lignanes, coumarines, acides phénols, phytostérols).

➔ Un article publié, 3 articles en cours de rédaction.

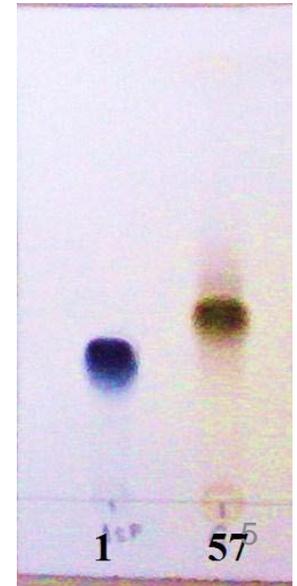
➔ 4 communications orales ou par affiche.

Criblage phytochimique, isolement des iridoïdes

Détection d'iridoïdes dans les parties aériennes et les racines de chaque espèce.
Isolements par diverses méthodes chromatographiques (MPLC, FC, OPLC, CL)

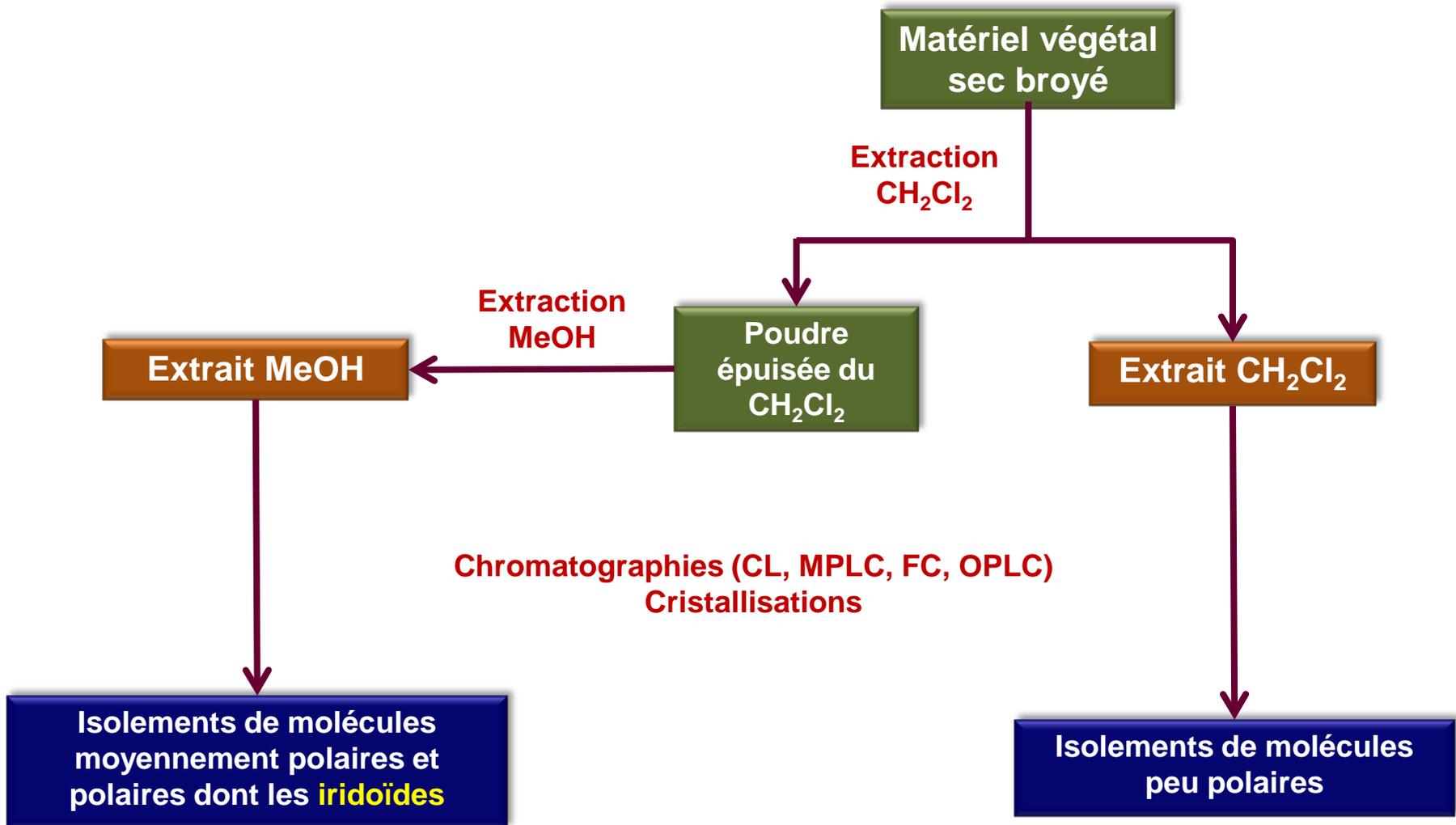


Exemple de CCM
d'iridoïdes



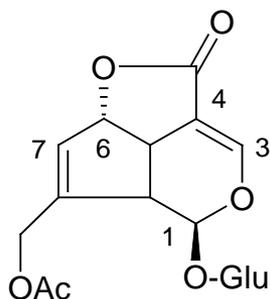
ISOLEMENT DES IRIDOÏDES

Schéma d'isolement appliqué aux parties aériennes et aux racines de chaque espèce

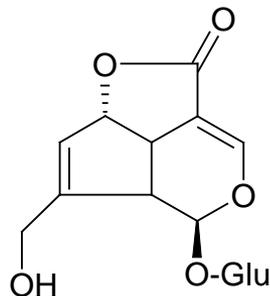


ETUDE STRUCTURALE DES IRIDOÏDES ISOLÉS PAR SPECTROSCOPIE UV, IR, SM, RMN ¹H, ¹³C, ET A 2 DIMENSIONS (COSY, COSY-LR, HSQCed, HMBC, NOESY)

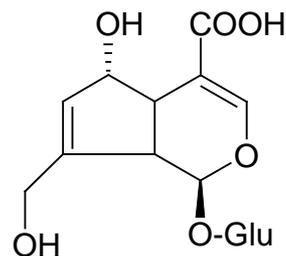
Identification de 7 IRIDOÏDES caractéristiques des Rubiaceae



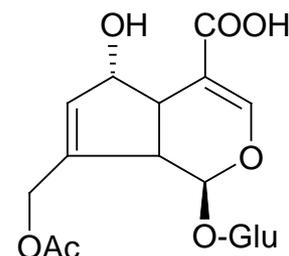
Aspéruloside
AE et AP



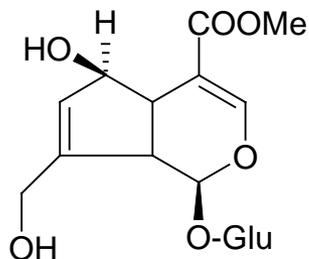
Désacétyl-aspéruloside
p. a. de AE



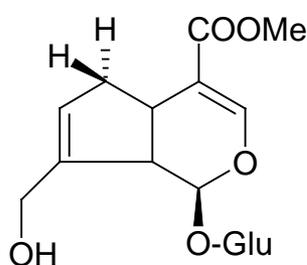
Acide désacétyl-aspérulosidique
p. a. de AE



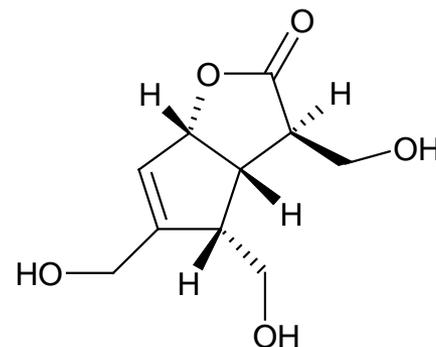
Acide aspérulosidique
Racine de AP



Féretoside
p. a. de AE



Géniposide
p. a. de AE



Borrériagine
p. a. de AE

Nouveau glucoside d'iridoïde isolé des p.a. de *AE*

10-O- β -D-glucosylborrériagénine

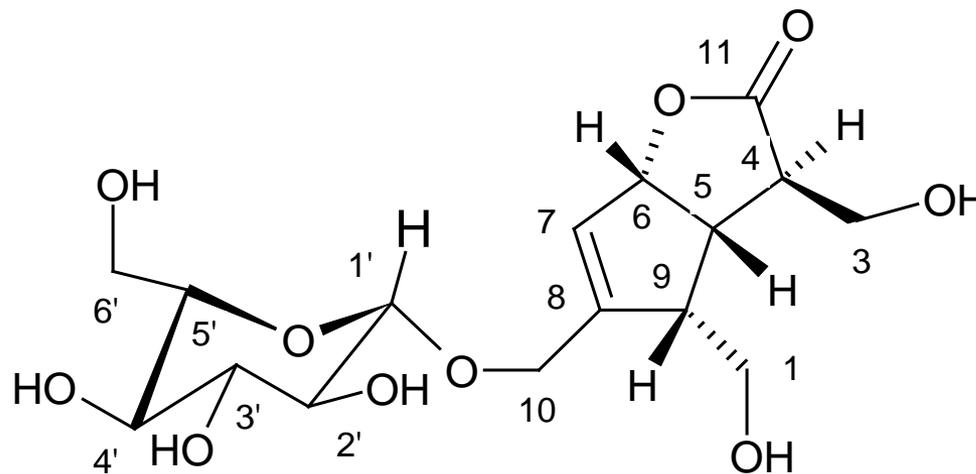
SPECTRE DE MASSE

(ESI +) : m/z 381 = $[M+Na]^+$

$M = 358,3$ g/mol

Formule brute :

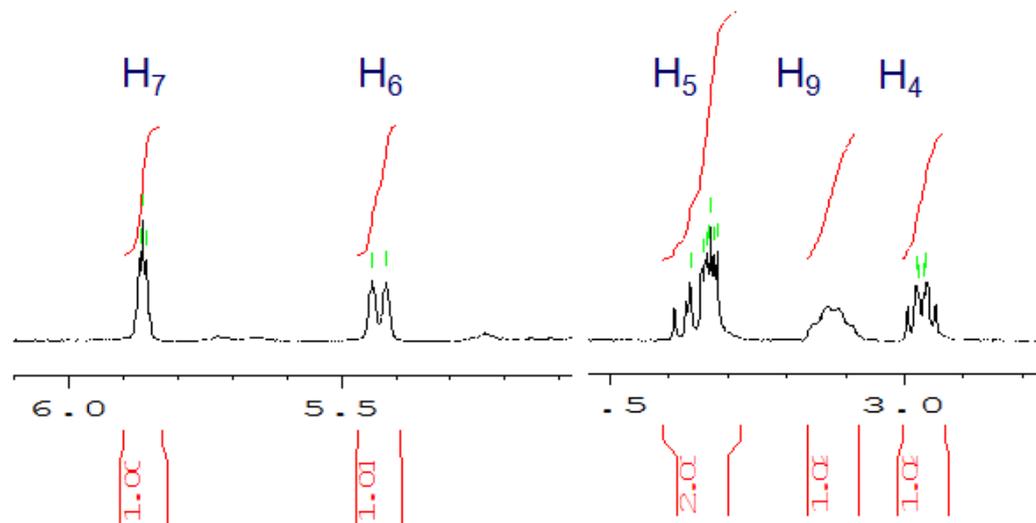
$C_{16} H_{22} O_9$



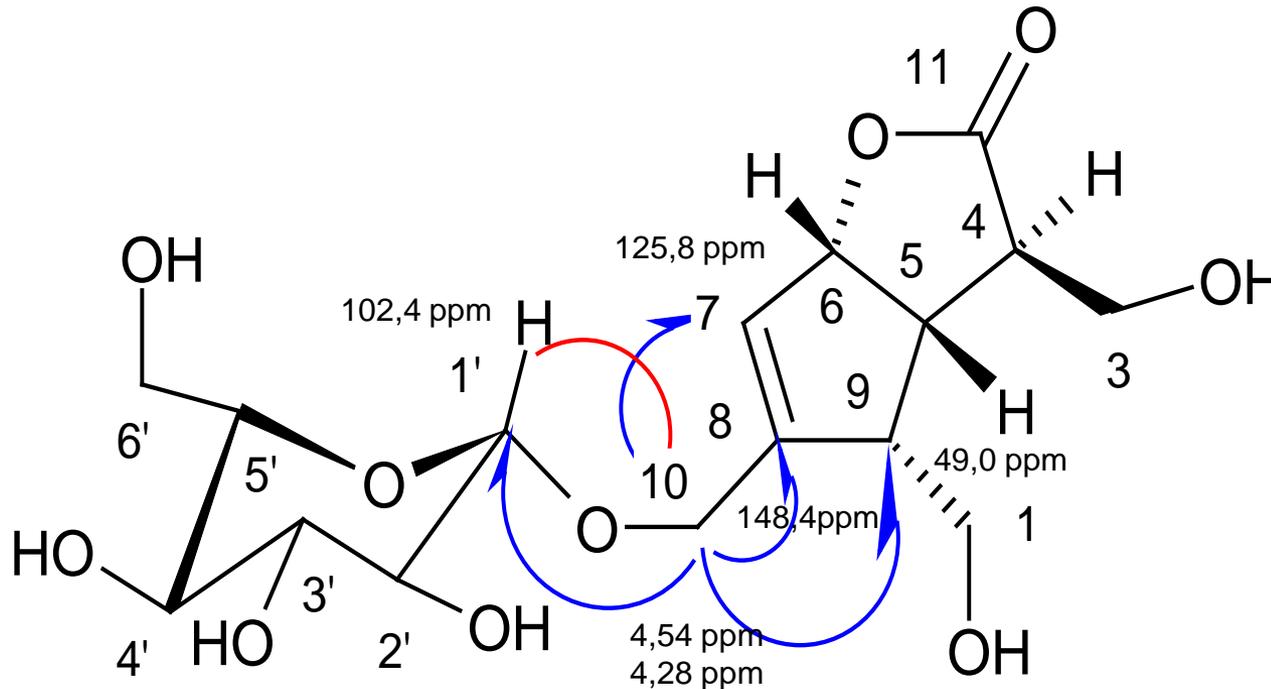
SPECTRES de RMN :

Nombreux points communs avec ceux de la borroriagénine : signaux des H et C en 1, 3, 4, 5, 6, 7 et 9

+ Présence des signaux d'un glucose



Principales corrélations H→C observées dans le spectre RMN HMBC de la 10-O-β-D-glucosylborrériagénine



EVALUATIONS BIOLOGIQUES:

DÉTERMINATION DE CMI PAR MÉTHODE DE DILUTION

1) Criblage sur 57 souches bactériennes de référence (ATCC, CIP, Coll. Paris V)

➤ 24 souches (14 espèces) à Gram (+)

➤ 33 souches (27 espèces) à Gram (-)

2) Évaluations sur un panel complémentaire de souches cliniques choisies parmi les espèces sensibles aux iridoïdes : 59 souches (20 espèces) à Gram négatif choisies

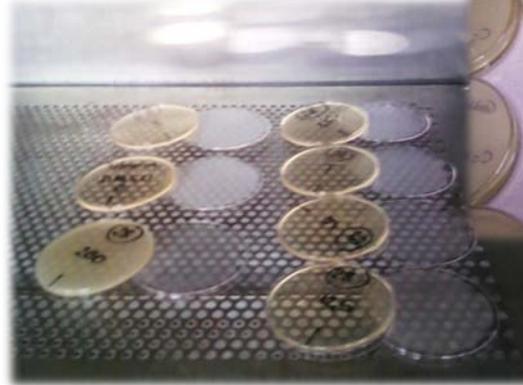
Enterobacteriaceae, bacilles oxydatifs et autres bactéries

Manipulations lors des évaluations antibactériennes

Dilution des produits



Préparation des milieux de culture en boîte de Pétri



Inoculation



Lecture : Colonies bactériennes dans des boîtes de Pétri témoins et contenant des iridoïdes.

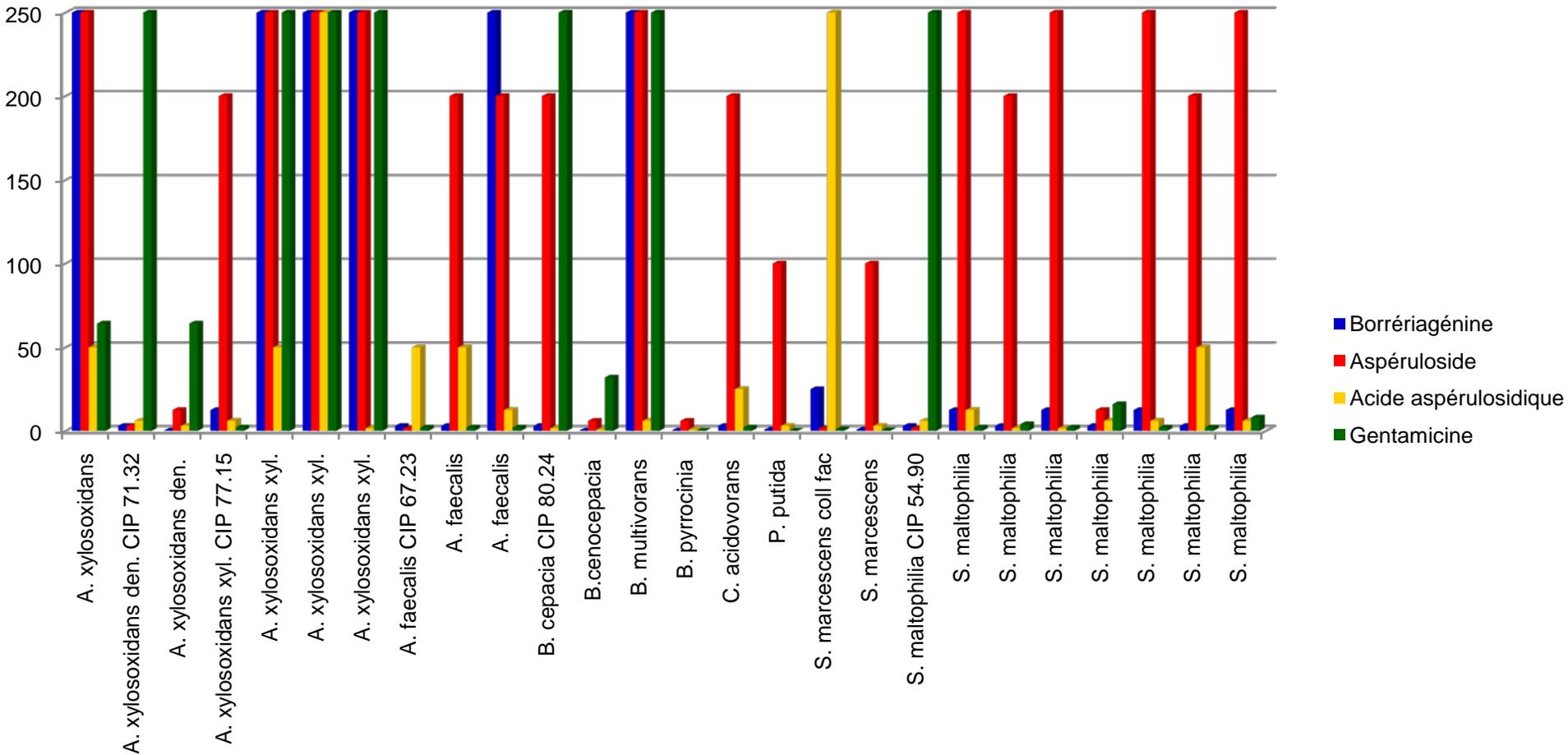
Meilleures CMI (mg/l) des iridoïdes des *Anthospermum* sur les souches de références

Espèces bactériennes	Références	Borrériagénine	Aspéruloside	Acide aspérulosidique
<i>S. marcescens</i>	Coll. Paris V	0,75	100	3
<i>A. xyl. den.</i>	CIP 71.32	3	3	6
<i>A. xyl. xyl.</i>	CIP 77.15	12,5	200	6
<i>A. faecalis</i>	CIP 67.23	3	1,5	50
<i>B. cepacia</i>	CIP 80.24	3	> 200	1,5
<i>C. acidovorans</i>	CIP 103.021	3	200	25
<i>P. putida</i>	CIP 55.191	0,75	100	3
<i>S. maltophilia</i>	CIP 54.90	3	1,5	6

CMI (mg/l) des iridoïdes des *Anthospermum* sur les souches cliniques

Espèces bactériennes	Références	Borrériagénine	Aspéruloside	Acide aspérulosidique
<i>A. xyl. den.</i>	CIP 71.32	3	3	6
<i>A. xyl. den.</i>	Souche clin.	0,3	12,5	3
<i>A. xyl. xyl.</i>	CIP 77.15	12,5	200	6
<i>A. xyl. xyl</i>	Souche clin.	> 200	> 200	1,5
<i>A. faecalis</i>	CIP 67.23	3	1,5	50
<i>A. faecalis</i>	Souche clin.	3	200	50
<i>B. cepacia</i>	CIP 80.24	3	> 200	1,5
<i>B. cenopacia</i>	Souche clin.	0,3	6	0,75
<i>B. pyrrocinia</i>	Souche clin.	0,3	6	0,75
<i>P. putida</i>	CIP 55.191	0,75	100	3
<i>P. putida</i>	Souche clin.	12,5	> 200	12,5
<i>S. maltophilia</i>	CIP 54.90	3	1,5	6
<i>S. maltophilia</i>	Souche clin.	3	200	1,5
<i>S. maltophilia</i>	Souche clin.	3	12,5	6

Comparaison des spectres d'activité des iridoïdes des *Anthospermum* avec celui de la gentamicine



Iridoïdes des *Anthospermum* actifs sur des espèces bactériennes naturellement résistantes aux antibiotiques classiques

CONCLUSION

**Premières données chimiques et biologiques sur le genre
*Anthospermum***

Découverte d'un nouvel iridoïde

**Evaluation antibactérienne des iridoïdes et des huiles
essentielles des *Anthospermum***

→ Justification des utilisations traditionnelles des espèces et résultats encourageants pour la recherche de nouveaux antibactériens vis-à-vis des bactéries naturellement résistantes aux antibiotiques classiques

Remerciements

Université d'Antananarivo (Faculté des Sciences) et Université Paris Descartes (Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques)

Mme Brigitte DEGUIN, Professeur à l'Université Paris Descartes

Mme Christiane RAKOTOBÉ GUILLOU, Professeur titulaire à l'ENS d'Antananarivo

Equipe du Laboratoire de Pharmacognosie, en particulier le Dr. Raphaël GROUGNET, Mme Sylvie MICHEL et Mr François TILLEQUIN, Professeurs à l'Université Paris Descartes

Mr Jean Dominique ANDRIAMIZAKA, Professeur titulaire à la Faculté des Sciences d'Antananarivo, et l'équipe du Laboratoire de Chimie – Synthèse Organique (Ampasapito)

Mme Yvonne RANARIVELO, Professeur titulaire à la Faculté des Sciences d'Antananarivo et l'équipe du Laboratoire de Chimie Organique des Substances Marines (LCOSM)

Equipe du Laboratoire de Microbiologie de l'Université Paris Descartes en particulier le Dr Marylin LECSO - BORNET et Mme M. J. BUTEL, Professeur à l'Université Paris Descartes.

Equipe du Laboratoire de Chimie Analytique (Université de Rouen) avec Mr Philippe VERITE et Mme Elisabeth SEGUIN, Professeurs à l'Université de Rouen

L'équipe du Projet MADES, et l'Ambassade de France à Madagascar, en particulier le Professeur Alain CARAYON

L'équipe du Laboratoires de l'ENS d'Antananarivo, des laboratoires de Chimie d'Ampasapito, du laboratoire de FOFIFA, du LRI, du laboratoire de Biotechnologie de la Faculté des Sciences

L'équipe du PBZT

Mr Johary RAMILIARISON, Mme Marie-José FOGLIETTI (Professeur à l'Université Paris Descartes), Dr. Thierry IMBERT (Fondation Pierre Fabre)

MERCI DE VOTRE ATTENTION

Les iridoïdes de deux *Anthospermum* endémiques de Madagascar et leurs activités antibactériennes

