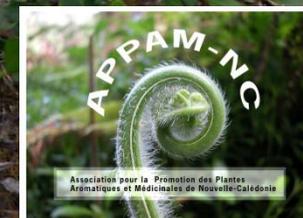


L'ETHNOPHARMACOLOGIE : UNE PISTE DE RECHERCHE PROMETTEUSE. « EXEMPLE DE LA DENGUE »

Hnawia E., Lebouvier N., Barguil Y., Coulerie P., Cabalion P., Nour M.



**7ème Colloque International sur les
Plantes Aromatiques et Médicinales
des régions d'outre-mer. CIPAM 7
Ile de La Réunion, 6 - 9 Novembre
2012**



SOMMAIRE

1. Approche scientifique de la pharmacopée traditionnelle en NC

2. La dengue : Les pistes de recherche

3. Etudes au laboratoire/Résultats

Conclusions - Perspectives



1. Approche scientifique de la pharmacopée traditionnelle en Nouvelle-Calédonie

ATOOTS DE LA NOUVELLE-CALEDONIE



ATOOUTS DE LA NOUVELLE-CALEDONIE

Biotores & Biodiversité

→ Variété des climats

→ Variété des substrats



Forêt sèche : Biotope menacé
57% d'endémisme



Forêt humide : 3 900 km²
Substrats variés
82% d'endémisme



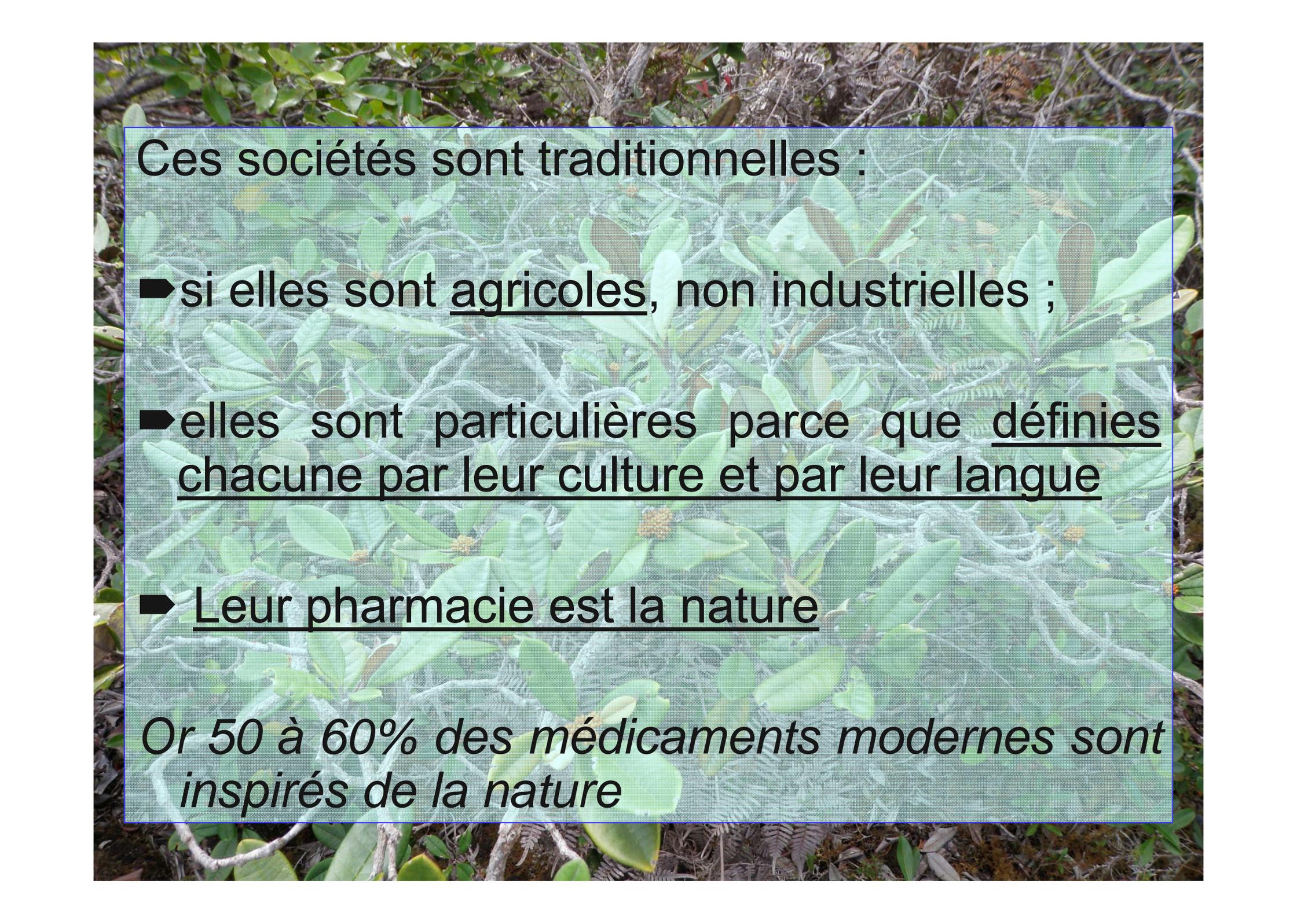
Maquis minier : 24% du territoire calédonien
88% d'endémisme



Bord de mer : Faible taux d'endémicité
Souvent utilisées en médecine traditionnelle

BUTS DE L'ETHNOBOTANIQUE ET DE L'ETHNOPHARMACOLOGIE

- L'ethnobotanique s'intéresse à tous les **usages des plantes par une société particulière**.
- L'ethnopharmacologie s'intéresse aux **usages médicaux des plantes**, toujours dans une société particulière.



Ces sociétés sont traditionnelles :

► si elles sont agricoles, non industrielles ;

► elles sont particulières parce que définies
chacune par leur culture et par leur langue

► Leur pharmacie est la nature

*Or 50 à 60% des médicaments modernes sont
inspirés de la nature*

Etablir un pont entre traditions et sciences

Communication rendue possible sur les définitions et usages de plantes (ou autres objets d'étude)

Oral,
mémoire

Noms vernaculaires

Noms botaniques

Écrit,
index

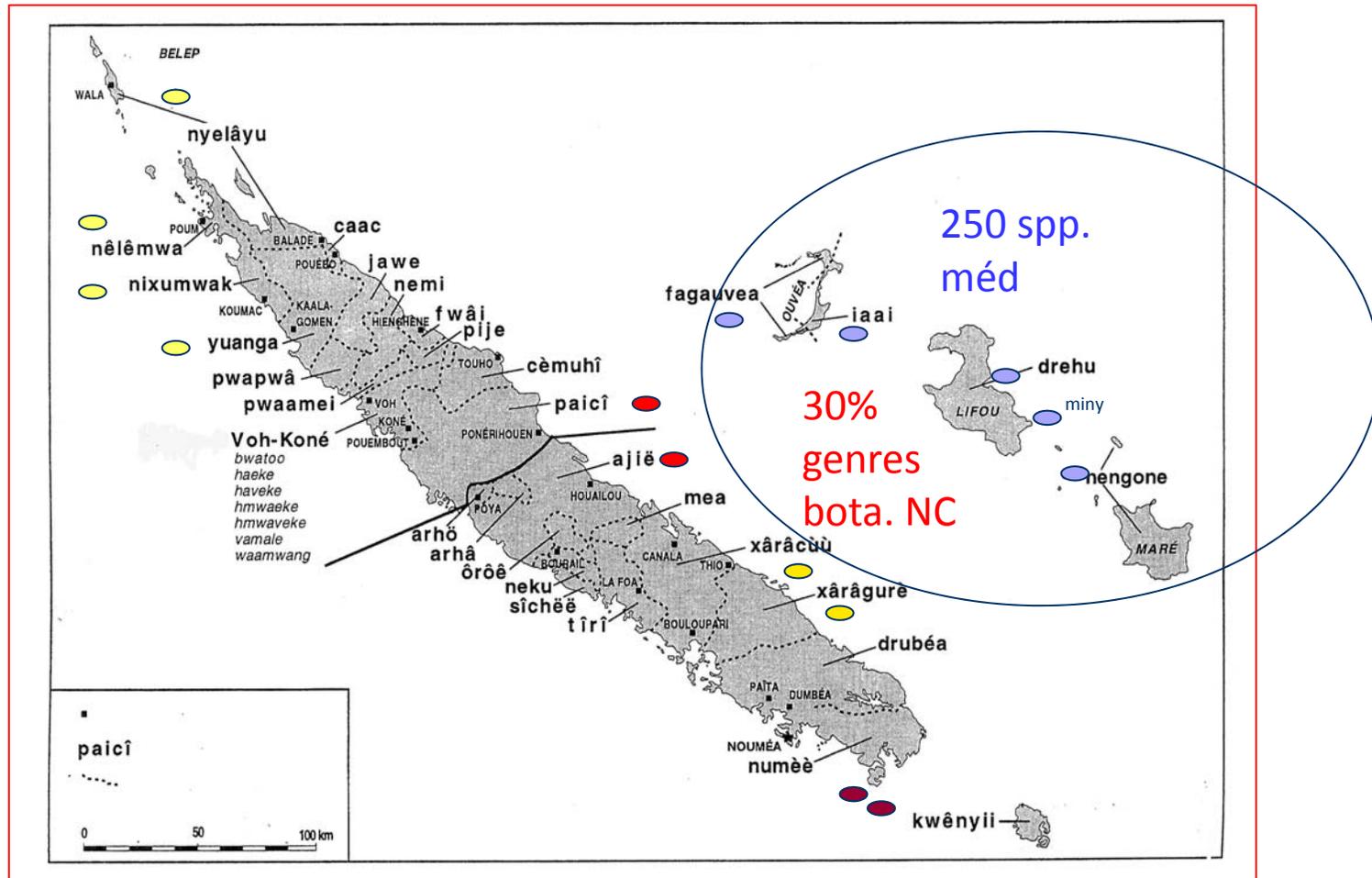
Traditions naturalistes

Sciences naturalistes

Découverte d'effets
obtenus grâce aux plantes

Recherche des causes et
des mécanismes d'actions

Ethnobotanique/ethnopharmacologie en Nouvelle-Calédonie



28 langues dont 1 éteinte (+ langues cérémonielles cf le Miny). Approche ethnobotanique dans 12 zones linguistiques (Nord, PIL,Thio), paici/ajië en 2007, débuts sur les langues numèè/kwênnyii en 2008



TYPIFICATION DES USAGES PLANTES DE LA FLORE DE NC

EN FONCTION DES USAGES :

- se déplacer (navigation notamment) et se couvrir (**construction** et **artisanat**)
- se nourrir (froid, chaud, **aliments** de disette)
- assurer la santé (**remèdes** et **toxiques**)
- maintenir la **culture** (représentations, mythes & symboles)

EN FONCTION DES MATIERES EMPLOYEES :

- fibres** de lignine/cellulose rigide ou souple)
- **exsudats naturels** ou **extraits végétaux** (recherche de SN bioactives)

ORGANES VEGETAUX UTILISES EN MEDECINE TRADITIONNELLE DE NC

- **Racine** : simple ou tubérisée (magnania), rhizomes ('carry de montagne', 'safran'), chevelu racinien, racines aériennes (banian), adventives (cocotier, pandanus)
- **Tronc** : bois, écorce externe, écorce interne
- **Rameaux** : branches jeunes (rejets) et/ou âgées
- **Feuille** : bourgeon ('cœur'), feuille jeune, adulte, fanée
- **Fleur** : bourgeon floral, fleur, parties de la fleur ou de l'inflorescence (plusieurs fleurs ensemble)
- **Fruit** : jeune fruit, fruit âgé, amande, importance particulière de la noix de coco
- **Exsudats** : latex (banian, tamanou), résines (kaori, araucaria), gommes (chêne-gomme, gommier), sèves

MODES D'EXTRACTION DE LA MEDECINE TRADITIONNELLE EN NC

↳ **Broyage** par contusion, hachage, manducation,

↳ **Contact** : Macération, décoction, infusion, cuisson

↳ **Expression** : directe, manuelle ou dans cornet végétal (équivalent d'une presse ou cornet de pâtissier)

↳ **Filtration** : bourre de coco
Parfois : végétaux amollis au feu avant usage

↳ **Solvant** : eau, eau de coco, eau de mer, lait de coco, huile de coco

Souvent : mélange de plantes (formules complexes)

EVALUATION DE LA PHARMACOPEE LOCALE

- ↳ «La pharmacopées traditionnelle » = Registre de plantes à **rapport bénéfique/risque positif** selon les traditions, à étudier selon les sciences
- ↳ Or peu d'espèces du Pacifique sont entrées dans les pharmacopées officielles
- ↳ **intérêt accru des mélanges**
- ↳ Champ de recherche est ouvert grâce **aux modèles d'étude en pharmacologie de + en + miniaturisés** .
- ↳ **œuvre internationale et interdisciplinaire**, identifier les plantes, recueillir les indications, puis chimie, pharmacologie, toxicologie)

RECHERCHES MENEES AU LABORATOIRE

Nouvelles molécules actives ?

- antalgiques
- antiseptiques / antibiotiques / antifongiques
- anticancéreux (antimitotiques etc)
- antiinflammatoires et piègeurs de radicaux libres
- antiparasitaires (protozoaires : p.ex. paludisme)
- «Gratte» (ciguatera)
- diabète (problème grave du Pacifique),
- **LA DENGUE / nouveaux antiviraux**

A photograph of a dense thicket of vegetation. The plants have thick, woody, greyish-brown stems and large, rounded, green leaves. Some leaves have a brownish underside. Small, orange, cluster-like flowers are visible among the foliage. The background is filled with more of the same vegetation, creating a complex, layered appearance. A semi-transparent green rectangular box is overlaid in the center of the image, containing the text "La dengue : Les pistes de recherche" in a bold, black, serif font.

La dengue : Les pistes de recherche

L'ANOPHELE ET LE VIRUS

Arbovirus

Famille des **Flaviviridæ**

4 sérotypes : mêmes
symptômes et organisation



Aedes aegypti

Symptômes : fièvre prolongée
État de fébrilité → Fièvre hémorragique
potentiellement mortelle

IMPACT DE LA MALADIE

Arbovirus pathogène de l'homme le plus répandu sur la planète

50-100 millions de malades chaque année

40% de la population mondiale exposées au risque



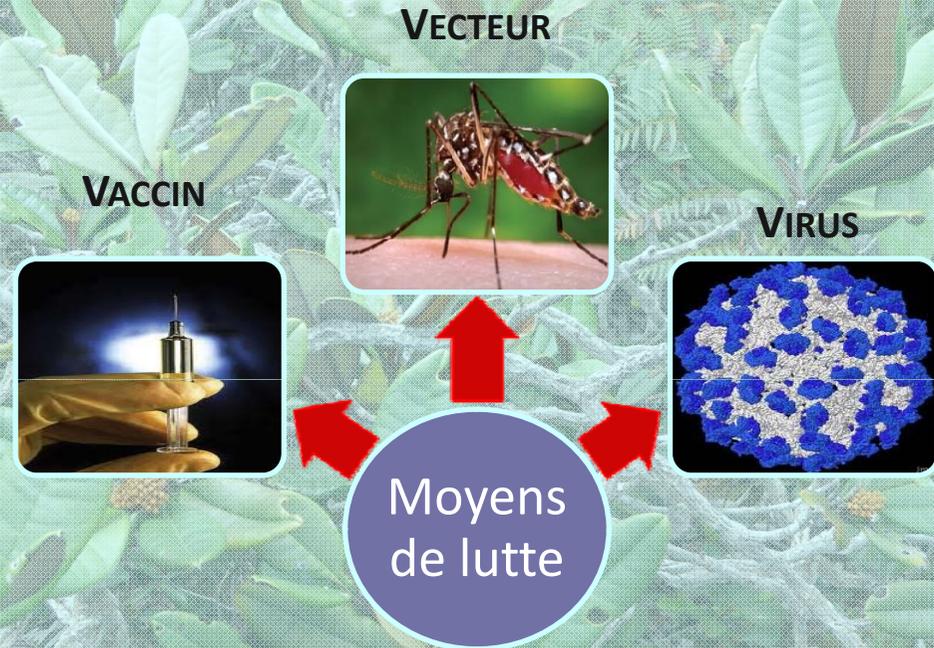
Population mondiale exposée au DV en 2010 selon les estimations de l'OMS

LES PISTES DE RECHERCHE

Arbovirus pathogène de l'homme le plus répandu sur la planète

4 sérotypes

potentiellement mortelle

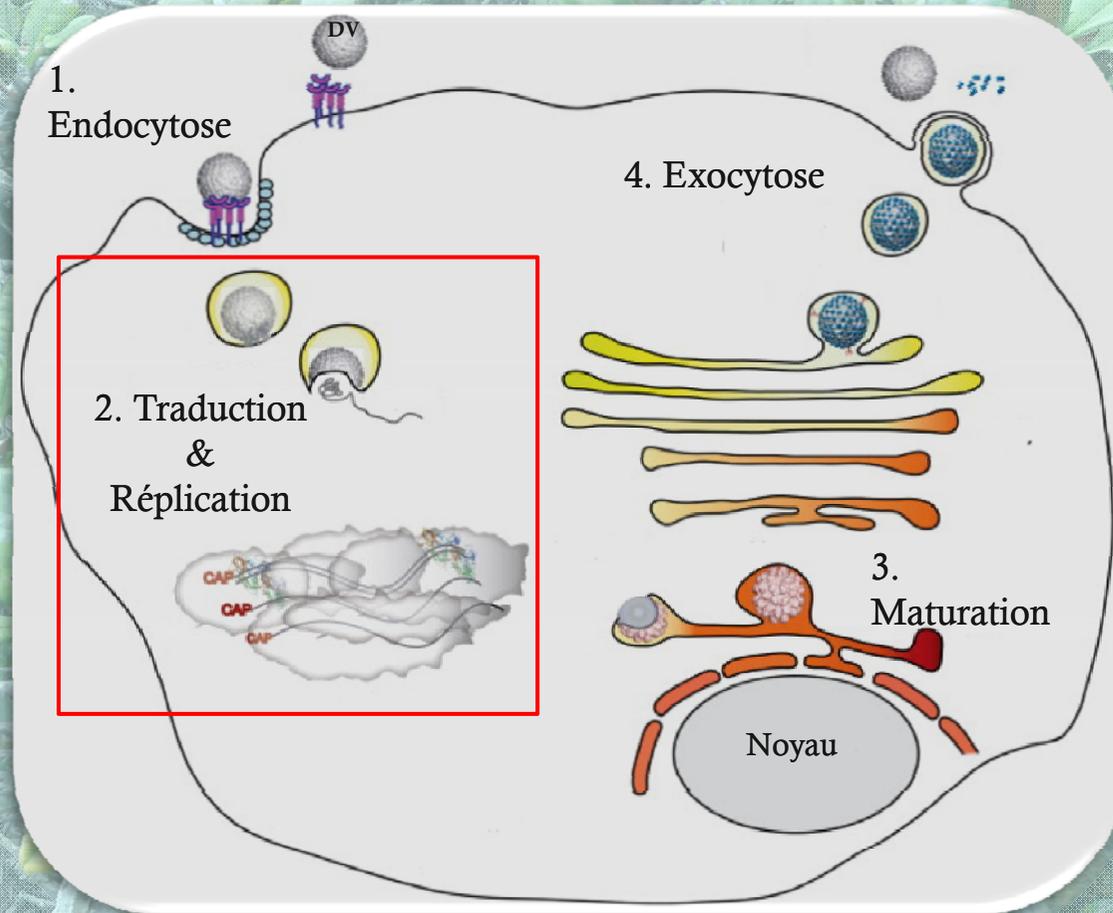


Aucun traitement curatif ni vaccin disponible

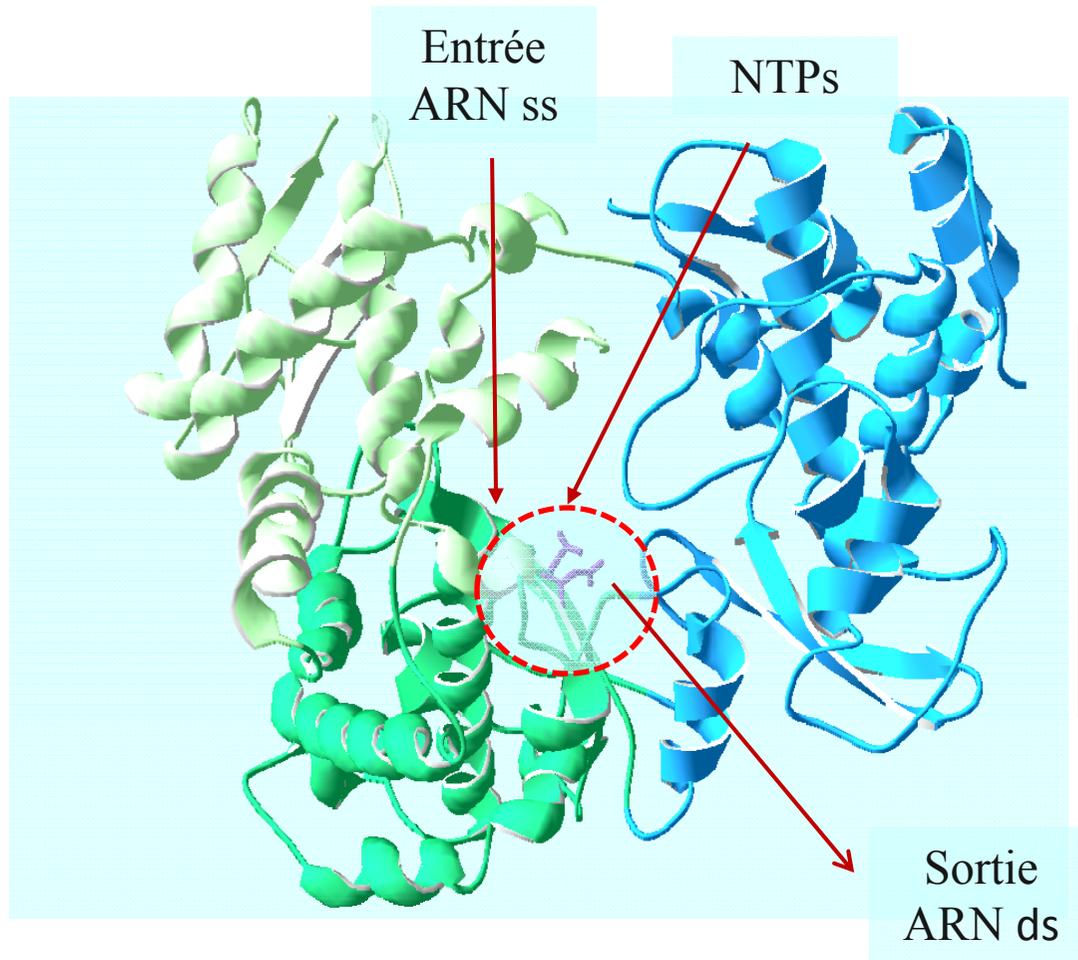
REPLICATION & AMPLIFICATION DU VIRUS DANS LA CELLULE HUMAINE

DV dépendant du métabolisme de la cellule hôte

4 phases = cibles d'antiviraux potentiels



NS5 RdRp : PROTEINE ESSENTIELLE DE LA REPLICATION

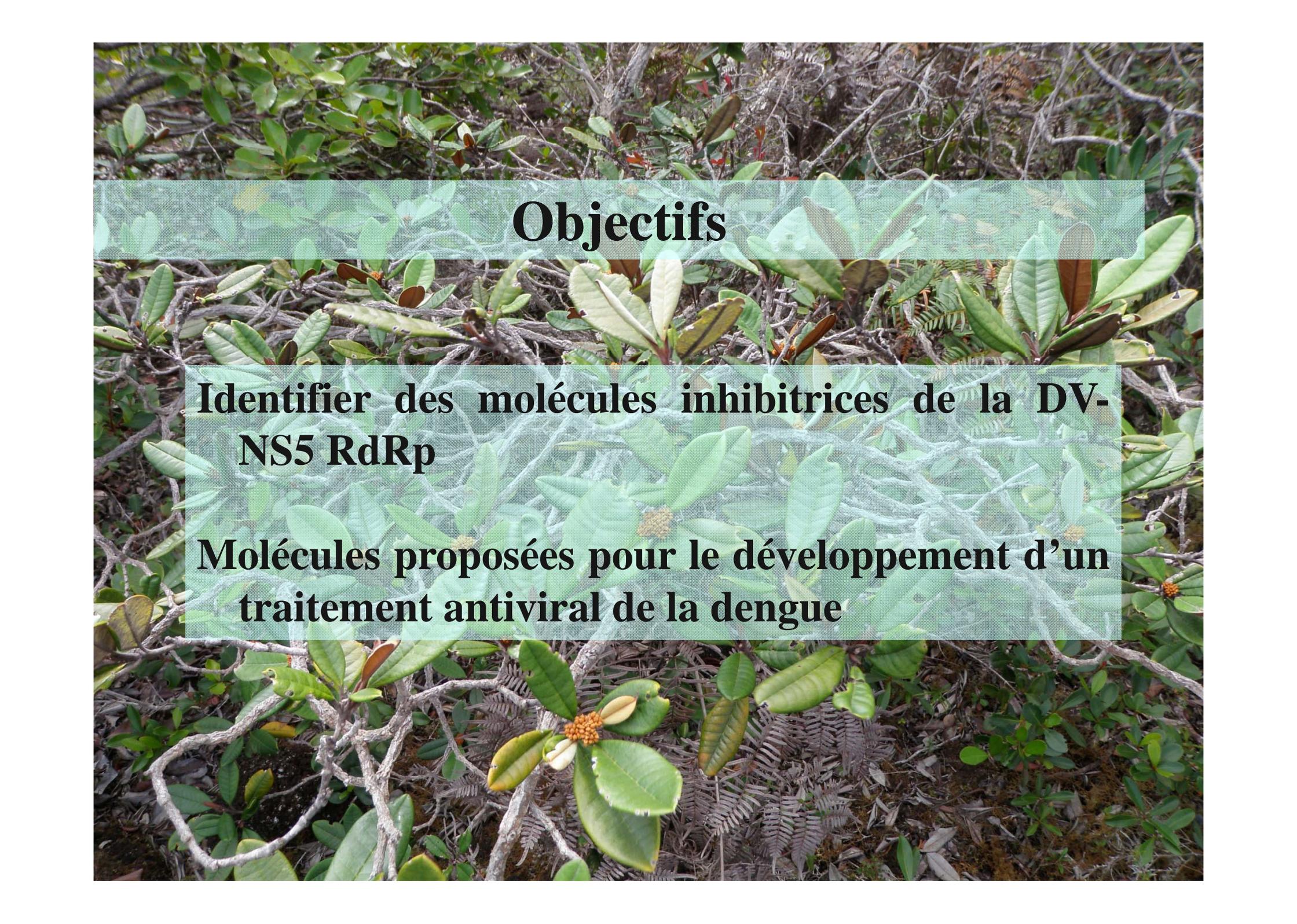


Essentielle à la réplication

Conservée dans les 4
sérotypes

Spécifiquement virale

**Cible de choix pour la
recherche
d'antiviraux**



Objectifs

Identifier des molécules inhibitrices de la DV-NS5 RdRp

Molécules proposées pour le développement d'un traitement antiviral de la dengue



**ETUDES MENEES AU
LABORATOIRE/RESULTATS**

SELECTION DES PLANTES SELON L'ETHNOPHARMACOLOGIE

↪ Symptôme reconnu par les médecins traditionnels et occidentaux



FIÈVRE

↪ Enquêtes de terrain (D. Bourret, V. Ledroit, UNC) + Bases de données

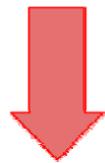


70 plantes natives réputées fébrifuges

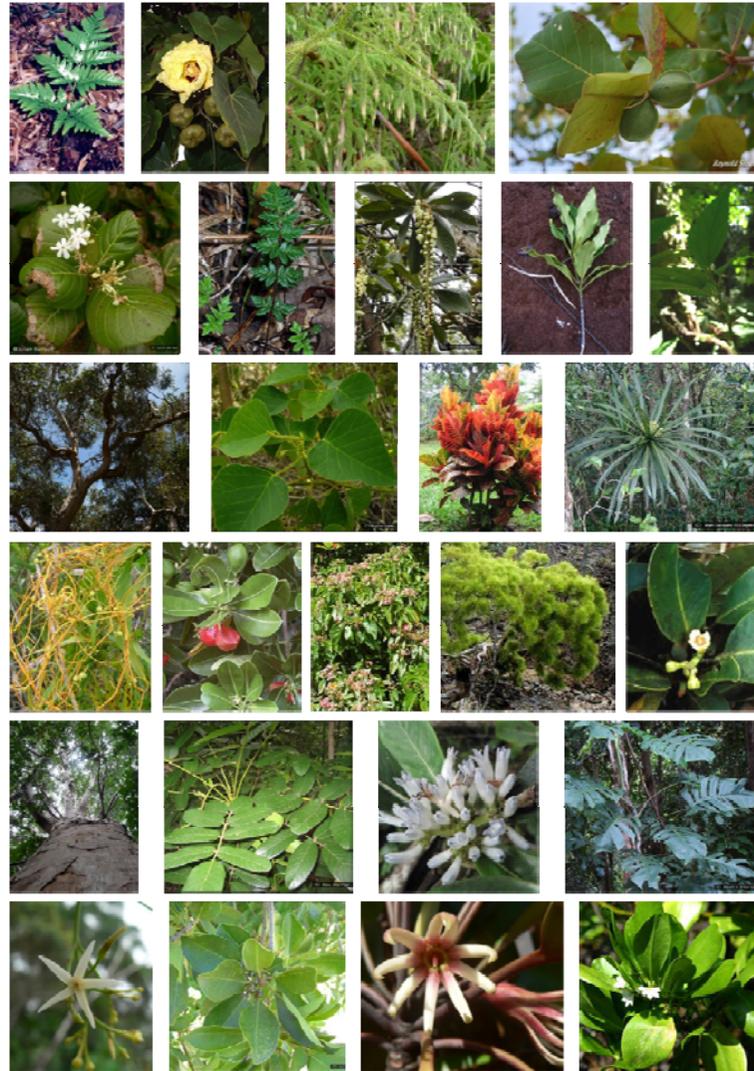
70 plantes natives de NC
réputées fébrifuges



Récolte et extraction :
30 plantes et 54 extraits



Tests biologiques



ANALYSES PHYTOCHIMIQUES

▶ Préparation des extraits bruts :

Séchage/Broyage/Extraction à l'AcOEt/Filtration sur gel de polyamide

▶ Criblage phytochimique:

Mise en évidence des principales familles de métabolites secondaires bioactifs par CCM : alcaloïdes, coumarines, flavonoïdes, saponines, terpènes, stérols,...

► **Fractionnement bioguidé :**

Séparation liquide/liquide, colonnes ouvertes de silice et de séphadex LH20, HPLC-préparative

► **Analyse structurale des composés isolés :**

Spectrométrie UV/MS et HRMS, spectroscopie RMN



TESTS BIOLOGIQUES

Test biologique contre la dengue.
Test enzymatique *in vitro*

Tests antibiotiques :

- 3 souches microbiennes : *E. coli*, *S. aureus*, *S. epidermidis*
- Mesure d'inhibition de la croissance
- ➔ Méthode des disques de diffusion

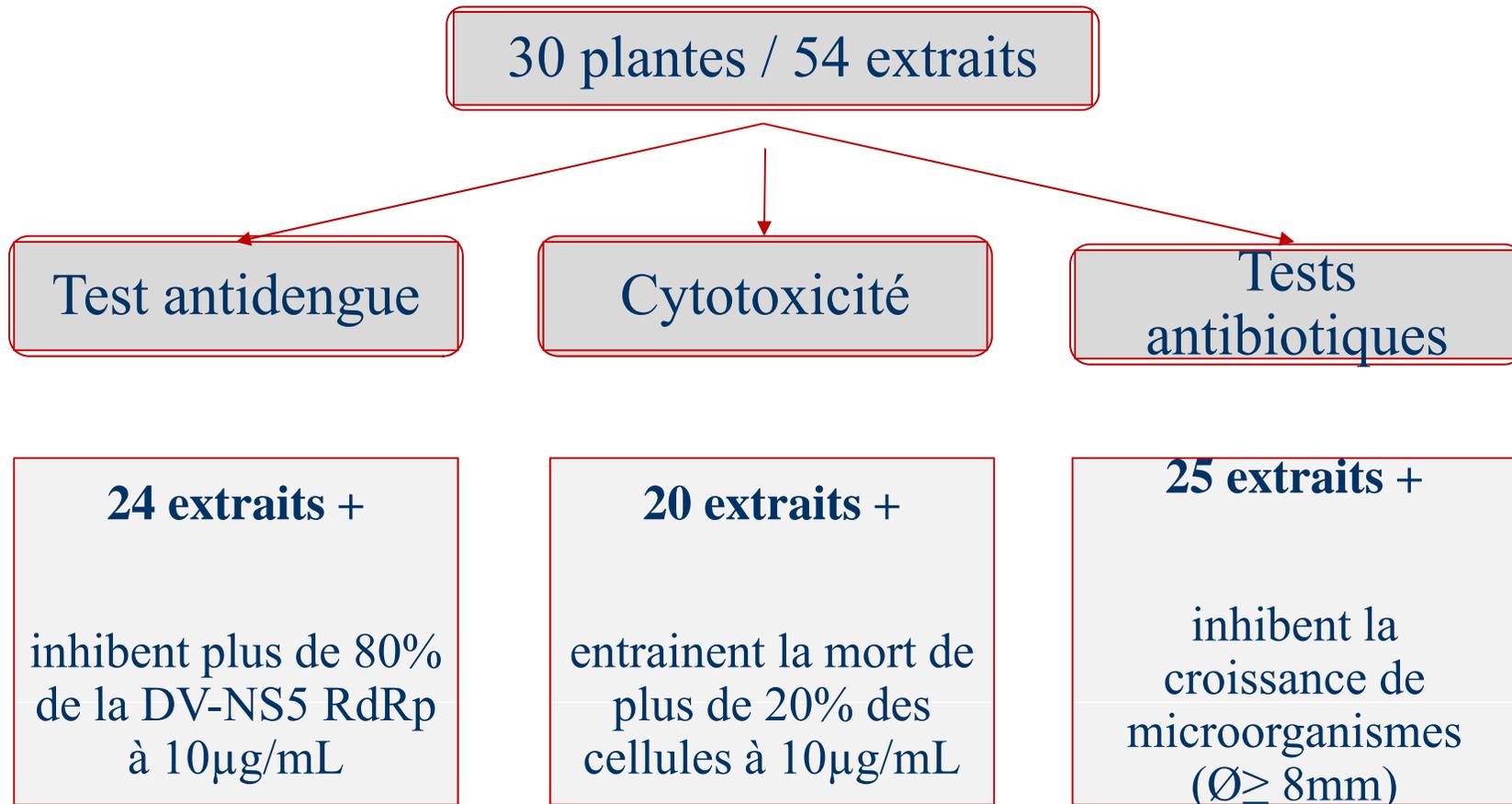
Cytotoxicité :

- 2 lignées cellulaires humaines
- KB : lignée cancéreuse
- MRC5: lignée saine



RESULTATS

Criblage biologique des plantes sélectionnées



30 plantes / 54 extraits

spécifiquement
antidengue

~~non toxique~~

~~antibiotique~~

Antiviraux

- * *Dacrydium spp.*
- * *M. corymbosa*
- * *H. nutans*
- * *C. laurifolia*



HOMALANTHUS
Euphorbiaceae



MYRTOPSIS
Rutaceae



DACRYDIUM
Podocarpaceae



CARPOLEPIS
Myrtaceae



DACRYDIUM
Podocarpaceae



Gymnospermes, Podocarpaceae, 4 espèces :
D. balansae, *D. araucarioides*, *D. guillauminii*, *D. lycopodioides*



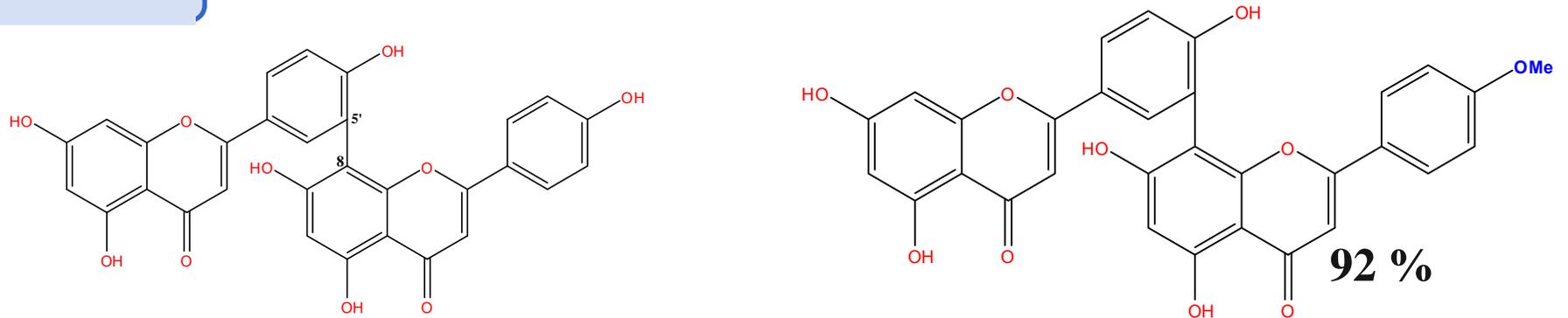
Huile essentielle (terpènes volatiles)
Diterpènes : ferruginol (A), manool,
totarol, acide podocarpique(B)



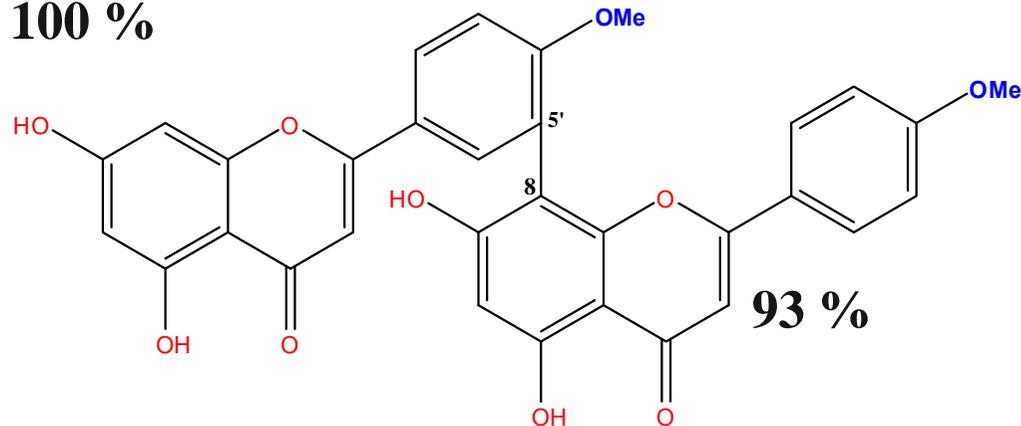
Fractionnement bioguidé des feuilles de *D. balansae*

Inhibition de la DV-NS5 RdRp (%)		
	50 µg/mL	10 µg/mL
ACN	93	63
HEX	96	88
DCM	100	99

DCM

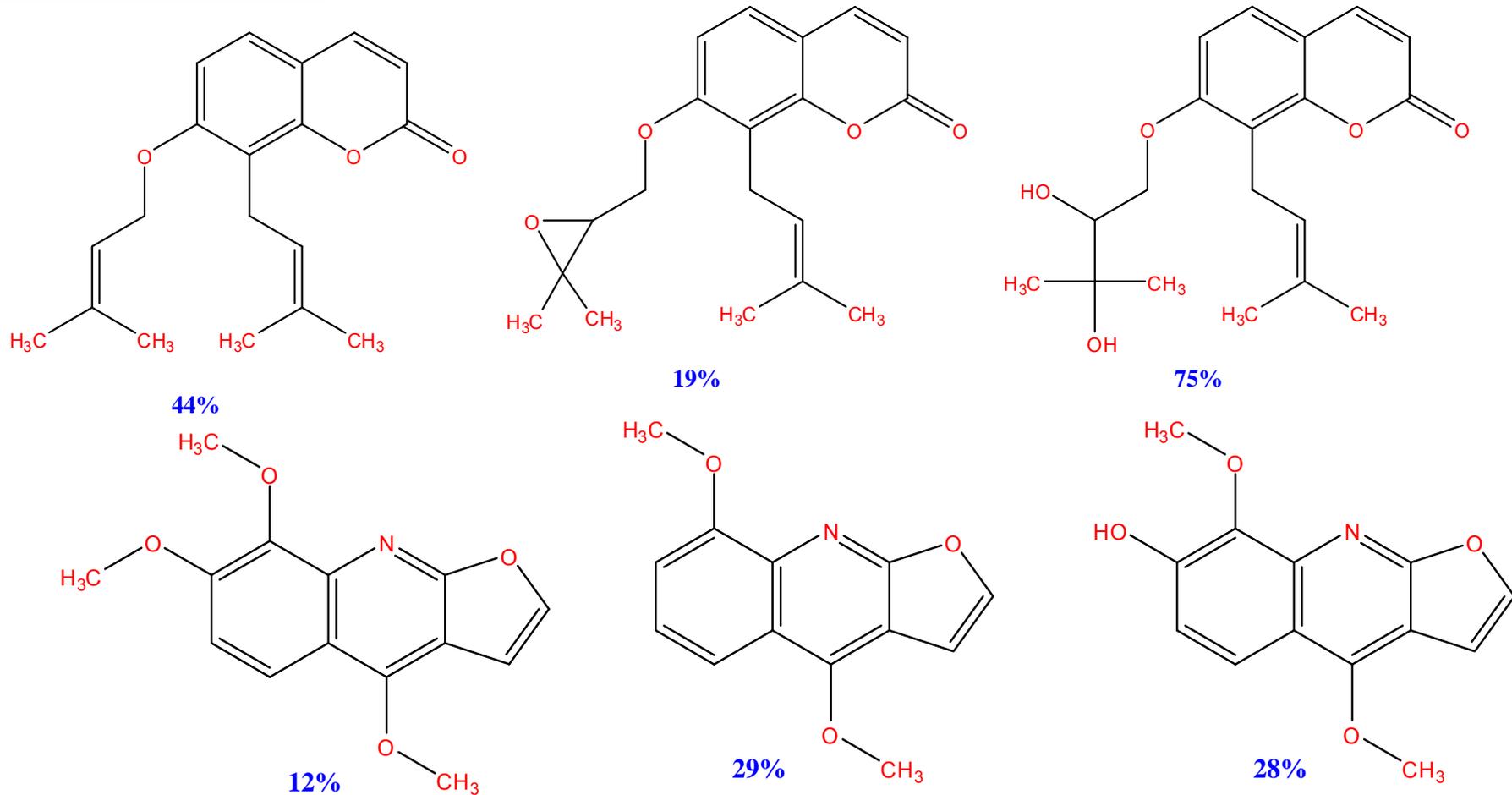


Amentoflavone : 100 %





Potentiel antidengue des molécules isolées de *M. corymbosa* (% inhib. de la DV-NS5 RdRp à 10 μ M)

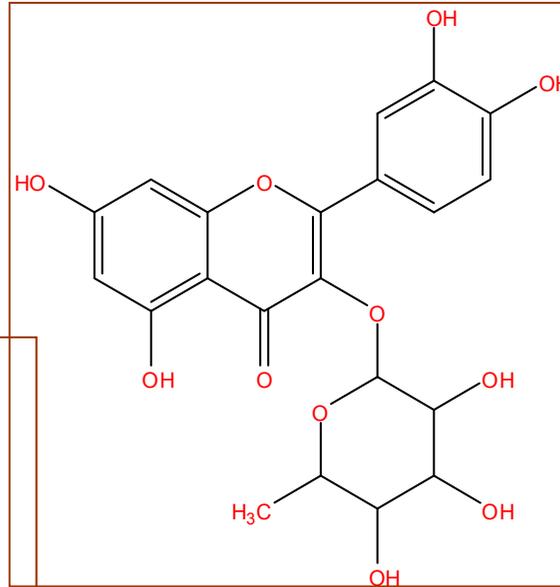


Faibles potentialités des coumarines et alcaloïdes testés

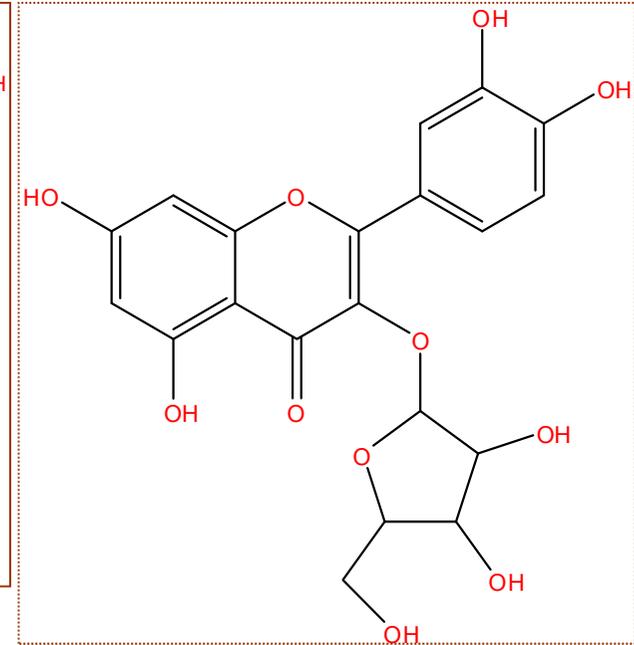


Potentiel antidengue des molécules isolées de feuilles de *C. laurifolia* (IC₅₀ contre la DV-NS5 RdRp en μM)

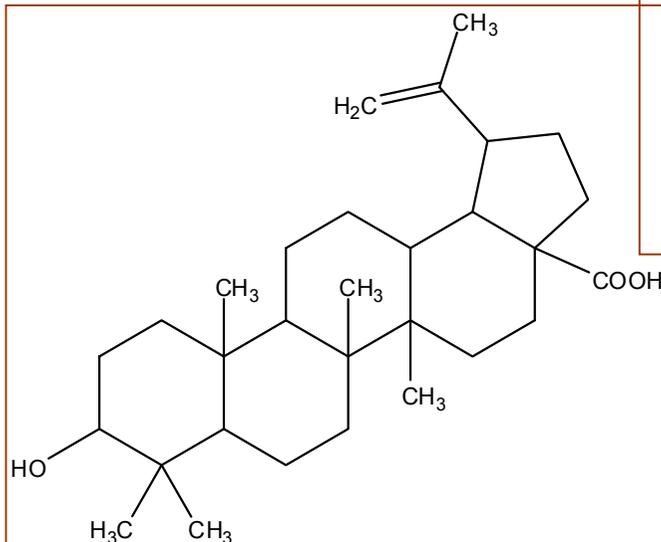
IC₅₀ < 10 μM



IC₅₀ < 10 μM



IC₅₀ < 10 μM



Confirme les potentialités antivirales des flavonoïdes et de l'ac. **bétulinique**

CONCLUSION

* Première étude phytochimique pour 3 groupes de plantes endémiques de NC, sélectionnées pour leurs potentialités contre la dengue : *Dacrydium* / *Myrtopsis* / *Carpolepis*

* 30 molécules isolées, appartenant à 5 familles chimiques, et testées contre la DV-NS5 RdRP :

Alcaloïdes / *Coumarines* / *Flavonoïdes* / *Stéroïdes* / *Terpènes*

* **Biflavonoïdes (amentoflavone et dérivés)** : classe de biomolécules intéressantes comme antiviraux potentiels

Étude SAR de ces biflavonoïdes des *Dacrydium* spp.
contre la DV-NS5

↳ Importance la libre rotation de la liaison entre les deux monomères d'apigénine

↳ Influence du **nombre** et de la **position** des **OCH₃**

↳ Importance du nombre de groupement OH



Tester les inhibiteurs de la D-NS5 sur les cellules infectées par le DV

↳ **APPAM-NC (Président: P. Cabalion)**

↳ **Mes collègues de l'UNC (Pr. M. Nour, N. Lebouvier, P. Coulerie)**

↳ **Nos partenaires :**

* **Herbier de l'IRD de Nouméa**

* **Laboratoire AFMB (Univ. Marseille)**

* **Laboratoire BioCIS (Univ. Paris XI)**

* **ICSN – CNRS (Gif/Yvette)**

↳ **Informateurs et médécins traditionnels
de NC**



Merci de votre attention

