

NATUBAVAL

Naturel Bactéricide Valorisation

conservateurs naturels
pour la cosmétique

Applications de l'HPTLC-EDA à l'étude de l'activité antimicrobienne et antioxydante d'extraits végétaux

Florence Merck, Xavier Fernandez
Institut de Chimie de Nice
ICN CNRS UMR 7272
Université Nice Sophia Antipolis

Jeudi 6 juin 2013 – Club de CCM – Paris

Le projet NATUBAVAL

Contexte et enjeux

Le projet NATUBAVAL

○ Un contexte « favorable »

- Nécessité de préserver la biodiversité végétale (notion de *hotspot*)
- Polémique autour des conservateurs de synthèse utilisés en cosmétique

○ Des objectifs concrets

- Valoriser la biodiversité végétale
- Développer des conservateurs naturels innovants
- Créer des filières végétales

○ Des acteurs complémentaires

- Phytochimie et analyse
- Formulation cosmétique
- Optimisation des extraits, essais pilote et industrialisation
- Collecte des espèces végétales, mise en culture des plantes d'intérêt



Le projet NATUBAVAL

- Sélection des **espèces végétales candidates**
- **Extraction** puis **empreinte phytochimique**
- Tests d'**activité antimicrobienne et antioxydante**
- Isolement des **métabolites d'intérêt** (HPLC semi-préparative, chromatographie flash) et **élucidation structurale** (UPLC-HRMS, RMN)
- **Optimisation et développement** d'un extrait d'intérêt
- **Objectivation** cosmétique
- Développement d'un **extrait pilote, industrialisation** puis **commercialisation** de l'actif
- Développement d'une **filière végétale**

Le projet NATUBAVAL

○ Originalité du projet

- Recherche d'**alternatives naturelles** aux conservateurs de synthèse
- Valorisation de **matrices innovantes**
- Identification des **métabolites actifs**
- Notion de **filière végétale** : essais de mise en culture, soutien de l'agriculture locale

○ Des résultats probants

- **40 plantes** évaluées dont **10 potentiellement intéressantes**
- **2 plantes** présentant des **propriétés conservatrices prometteuses**
(*résultats confidentiels*)
- **1 actif** en cours de **développement**

Méthodologie de criblage : apports de l'HPTLC

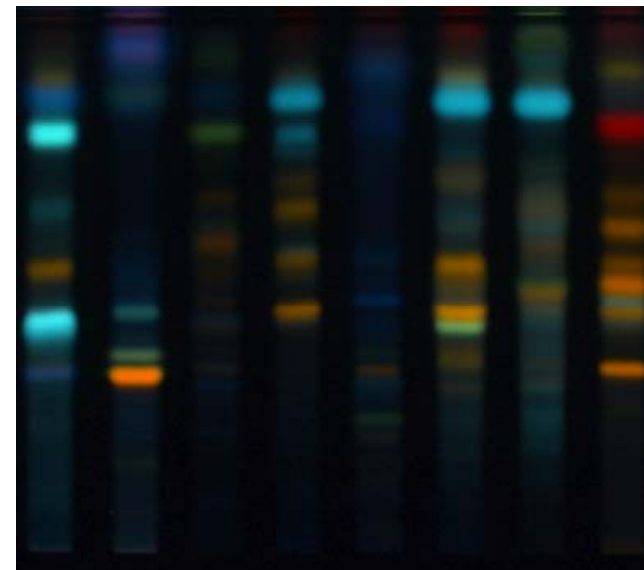
Analyse d'extraits végétaux :
méthodologie-type et exemples

Méthodologie de criblage : apports de l'HPTLC

- Analyse comparative de 8 extraits végétaux : **empreinte phytochimique**
- **Composés phénoliques, flavonoïdes polaires**



A B C D E F G



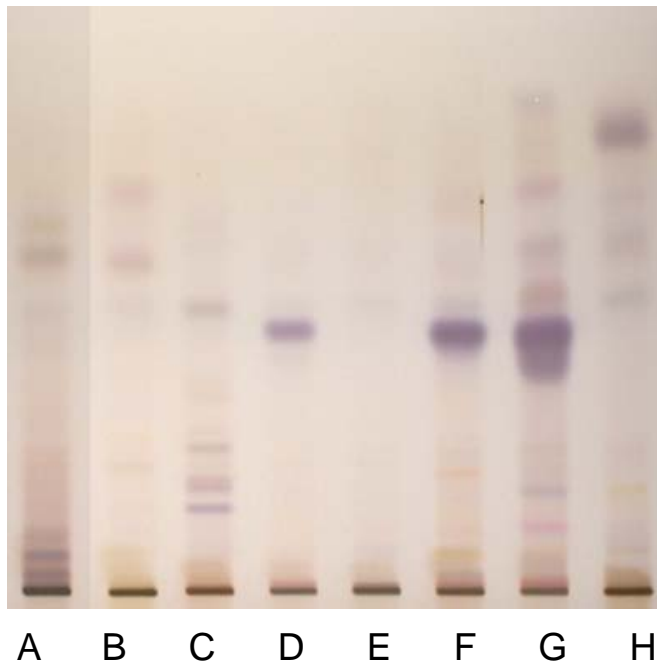
A B C D E F G

Phase mobile : EtOAc:HCOOH:CH₃COOH:H₂O 100:11:11:26 v/v

Révélation : anisaldéhyde sulfurique (*gauche*), NP/PEG (*droite*)

Méthodologie de criblage : apports de l'HPTLC

- Analyse comparative de 8 extraits végétaux : **empreinte phytochimique**
- **Terpénoïdes, flavonoïdes apolaires**

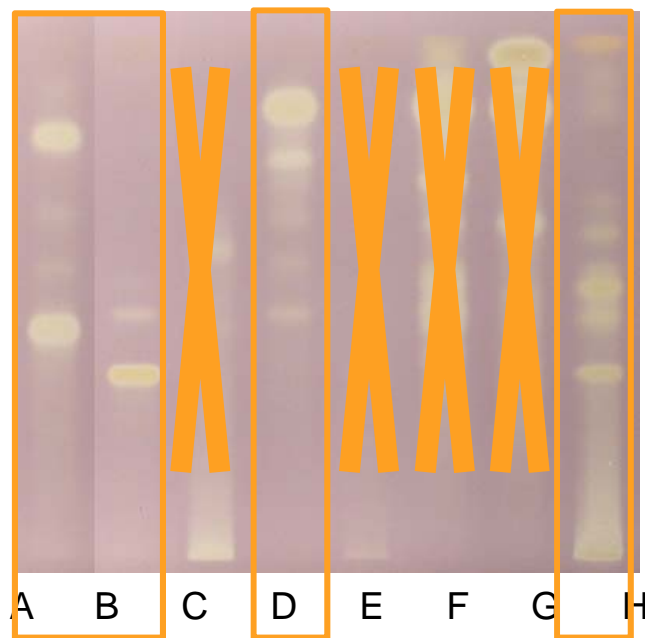


Phase mobile :
Toluène:EtOAc:HCOOH 70:30:1 v/v
Révélation :
Anisaldéhyde sulfurique

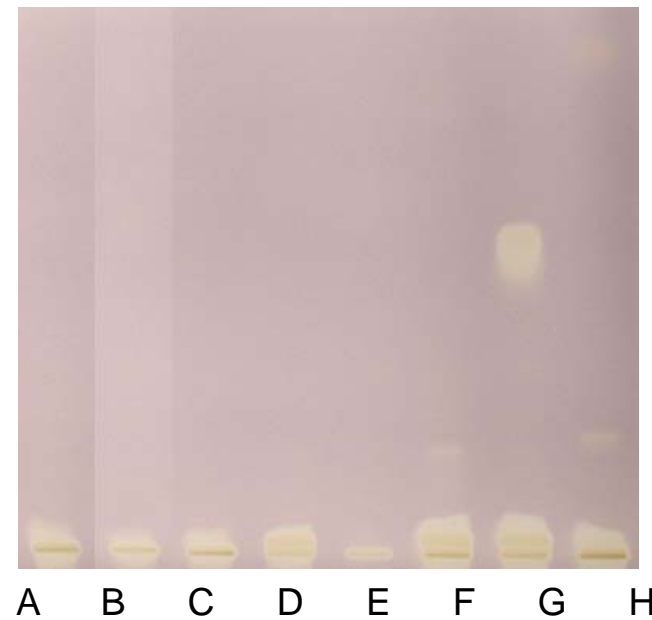
Méthodologie de criblage : apports de l'HPTLC

- **Bioguidage** : analyse par **HPTLC-EDA** (*effect directed analysis*)

➔ Activité **antioxydante** : DPPH



EtOAc:HCOOH:CH₃COOH:H₂O 100:11:11:26 v/v

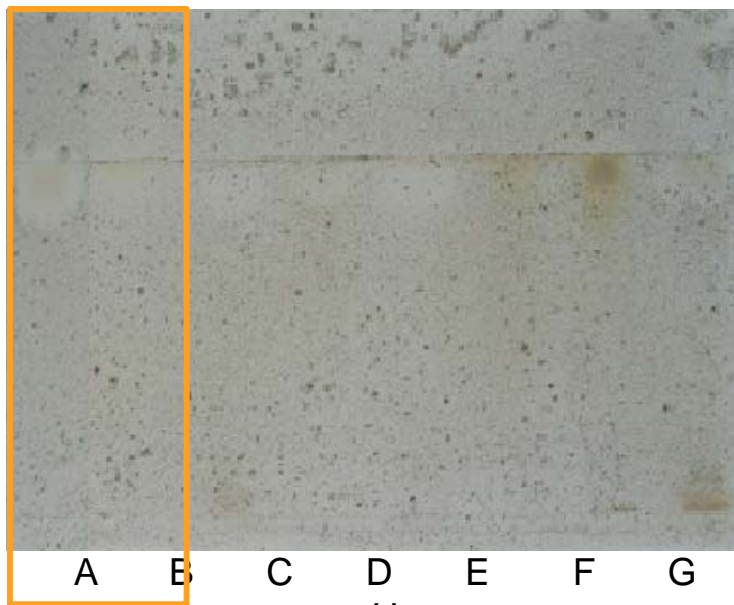


Toluène:EtOAc:HCOOH 70:30:1 v/v

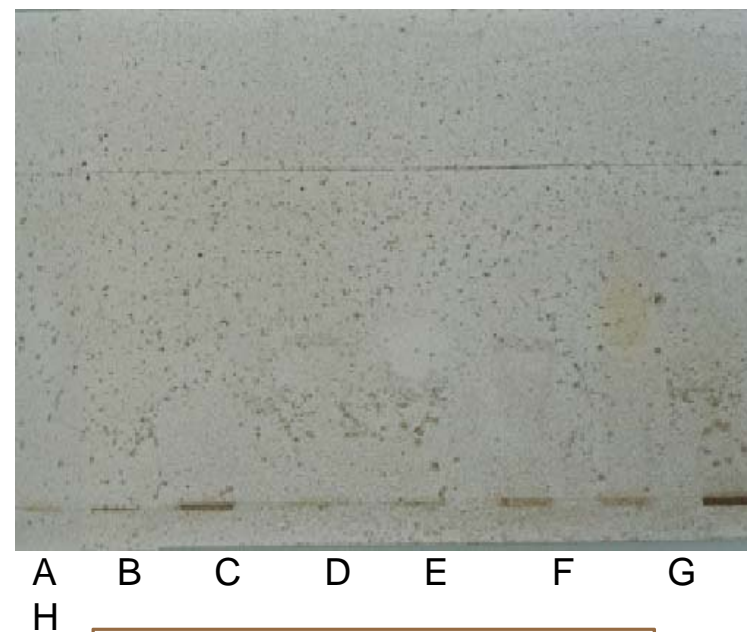
Méthodologie de criblage : apports de l'HPTLC

○ Bioguidage : analyse par HPTLC-EDA

➔ Activité antifongique : *Aspergillus niger*



EtOAc:HCOOH:CH₃COOH:H₂O 100:11:11:26 v/v

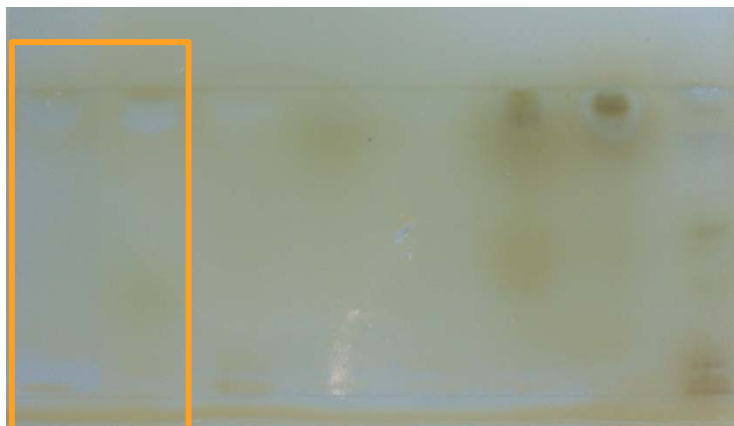


Toluène:EtOAc:HCOOH 70:30:1 v/v

Méthodologie de criblage : apports de l'HPTLC

○ Bioguidage : analyse par HPTLC-EDA

➔ Activité **antibactérienne** : *Staphylococcus aureus*



A B C D E F G H

EtOAc:HCOOH:CH₃COOH:H₂O 100:11:11:26 v/v



A B C D E F G H

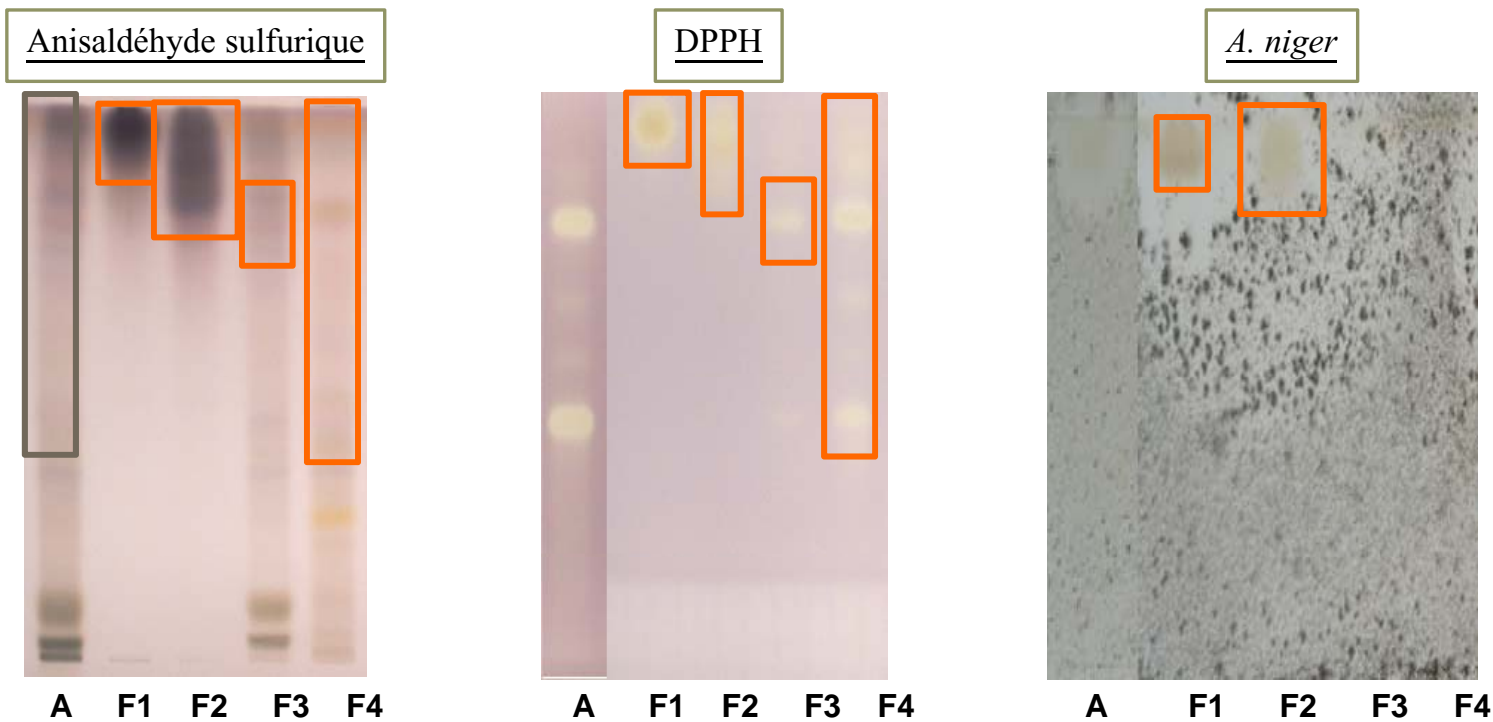
Toluène:EtOAc:HCOOH 70:30:1 v/v

Méthodologie de criblage : apports de l'HPTLC

- **Etude phytochimique comparative** de 8 extraits végétaux
- **Corrélation empreinte phytochimique / activité d'intérêt** :
sélection de deux extraits potentiellement valorisables pour leurs propriétés conservatrices : **A** et **B**
- **Purification** des extraits : obtention de **fractions enrichies**
- **Bioguidage** : évaluation de l'**activité antioxydante et antimicrobienne** des fractions purifiées
- Sélection des **éluants** les plus **pertinents** au vu de l'activité recherchée

Méthodologie de criblage : apports de l'HPTLC

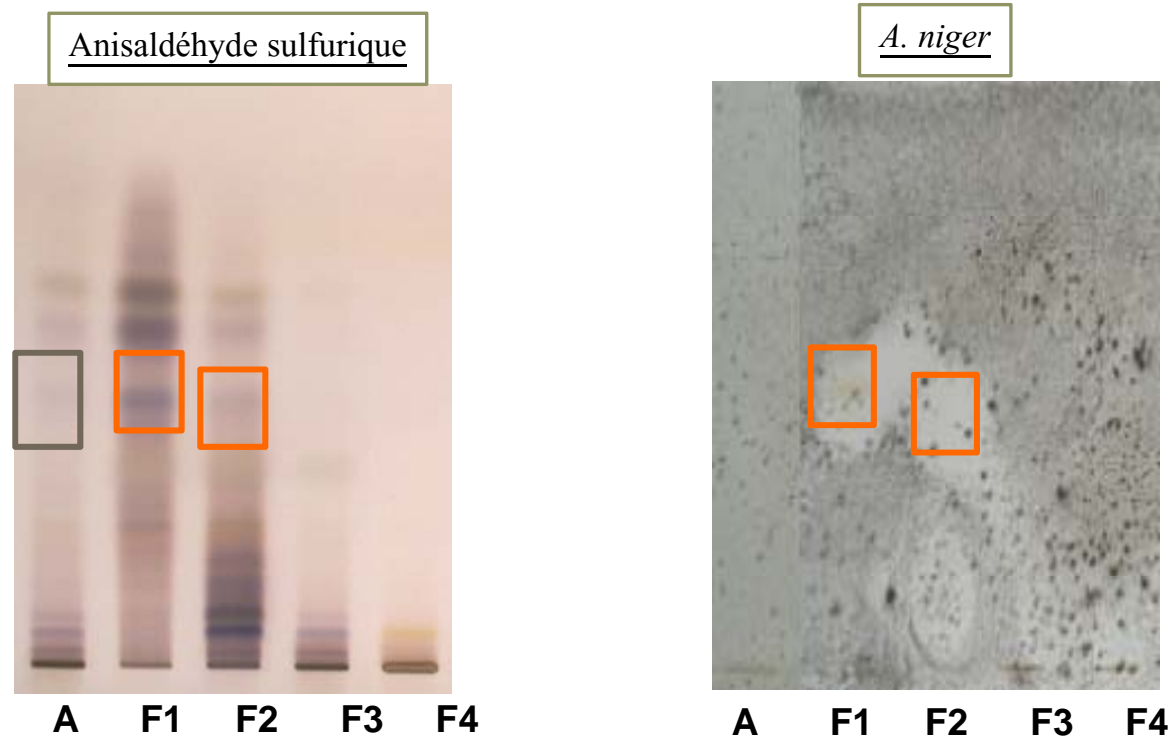
○ Extrait A : exemple



EtOAc:HCOOH:CH₃COOH:H₂O 100:11:11:26 v/v

Méthodologie de criblage : apports de l'HPTLC

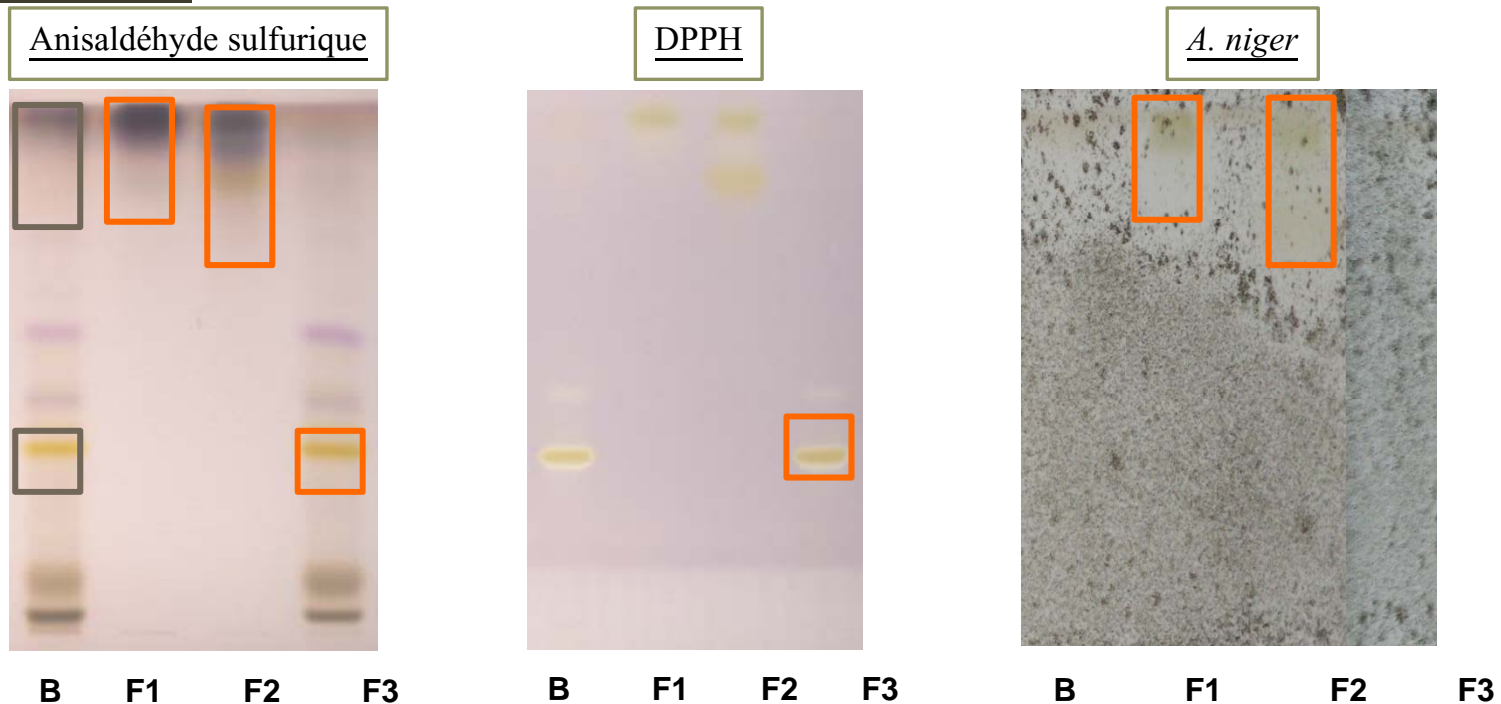
○ Extrait A : exemple



Toluène:EtOAc:HCOOH 70:30:1 v/v

Méthodologie de criblage : apports de l'HPTLC

○ Extrait B : exemple

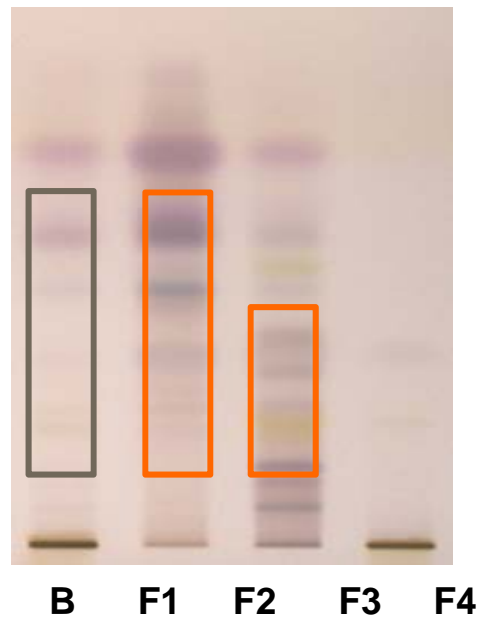


EtOAc:HCOOH:CH₃COOH:H₂O 100:11:11:26 v/v

Méthodologie de criblage : apports de l'HPTLC

○ Extrait B : exemple

Anisaldéhyde sulfurique



A. niger



Toluène:EtOAc:HCOOH 70:30:1 v/v

L'HPTLC-EDA... Et après ?

Perspectives

L'HPTLC-EDA... Et après ?

- Mise en évidence des **métabolites d'intérêt**
- **Isolement** par des **techniques préparatives** (HPLC et/ou HPTLC)
- **Elucidation structurale** (UPLC-HRMS, RMN)
- **Validation** de l'activité des **composés isolés**
- **Dosage quantitatif** des **métabolites actifs**
- Autres **couplages** (MS, RMN...)

En conclusion...

- L'HPTLC offre des avantages multiples
 - **Simplicité** d'utilisation & **facilité** de mise en œuvre
 - Technique adaptée à la **complexité chimique** des extraits végétaux
 - **Rapidité** d'analyse d'un nombre important d'extraits : intérêt dans une stratégie de **criblage**
 - Méthode **économique** (temps, solvants, coût)
- **Couplage HPTLC-EDA** : mise en évidence des **activités d'intérêt** et indications sur les **métabolites actifs**

« L'HPTLC, un outil qui fait tout... ou presque ! »

MERCI POUR VOTRE
ATTENTION !

