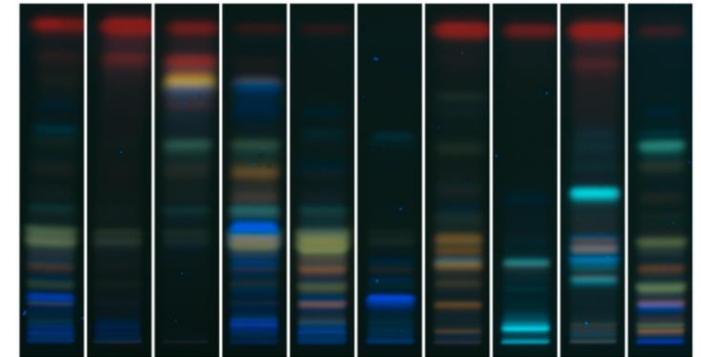
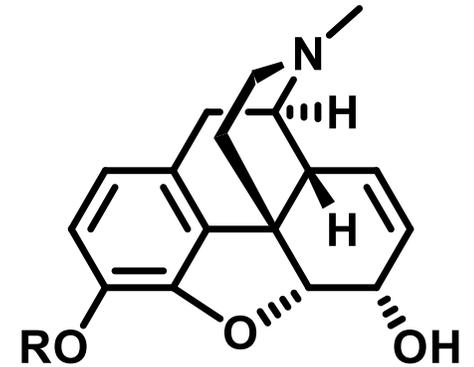


Extraits végétaux et HPTLC : deux approches complémentaires pour la découverte de composés bioactifs

Maël Gainche, Clermont Auvergne INP, Sigma Clermont





Thématique CESMA

« Conception Extraction Synthèse de Molécules Antalgiques »



Substances Naturelles

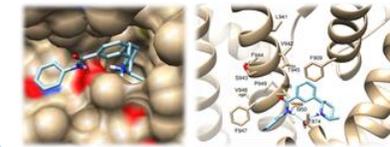
Chimie Médicinale



Extraction de matrices naturelles

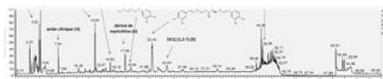
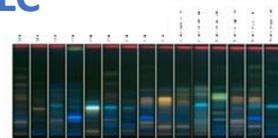


Développement de nouveaux principes actifs



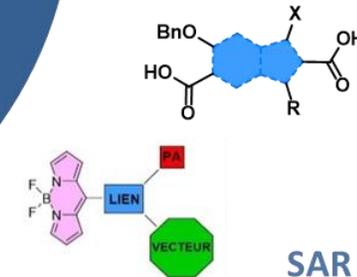
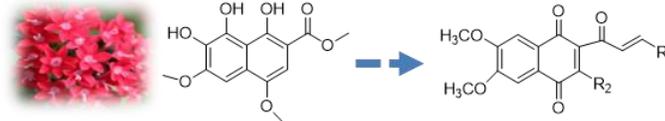
Conception modélisation moléculaire

Profil phytochimique, identification de marqueurs d'activité par bioautographie HPTLC



Douleur
chronique, neuropathique, inflammation

Hémisynthèse Synthèse d'analogues



SAR Vectorisation

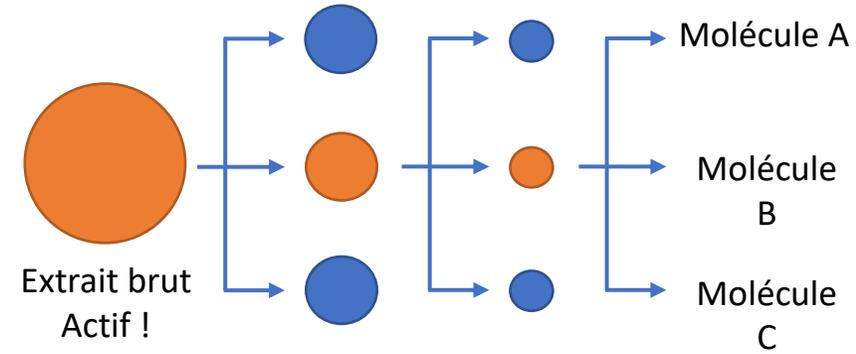
L'extraction végétale, pourvoyeuse de molécules bioactives



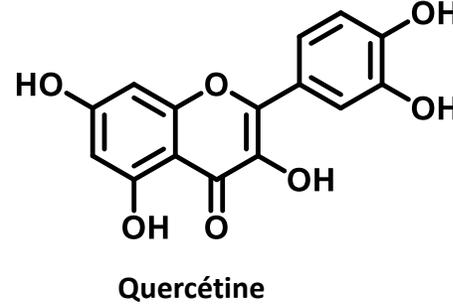
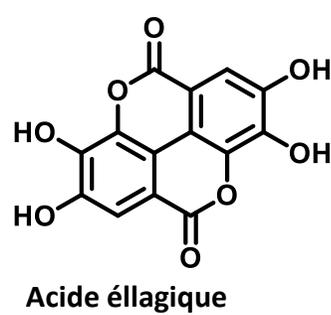
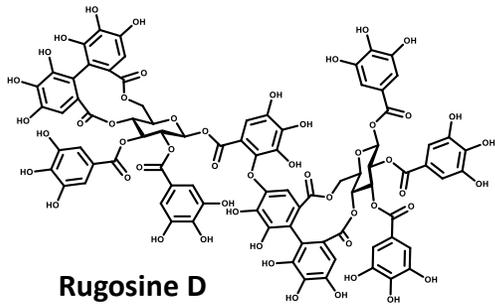
Séchage
Broyage



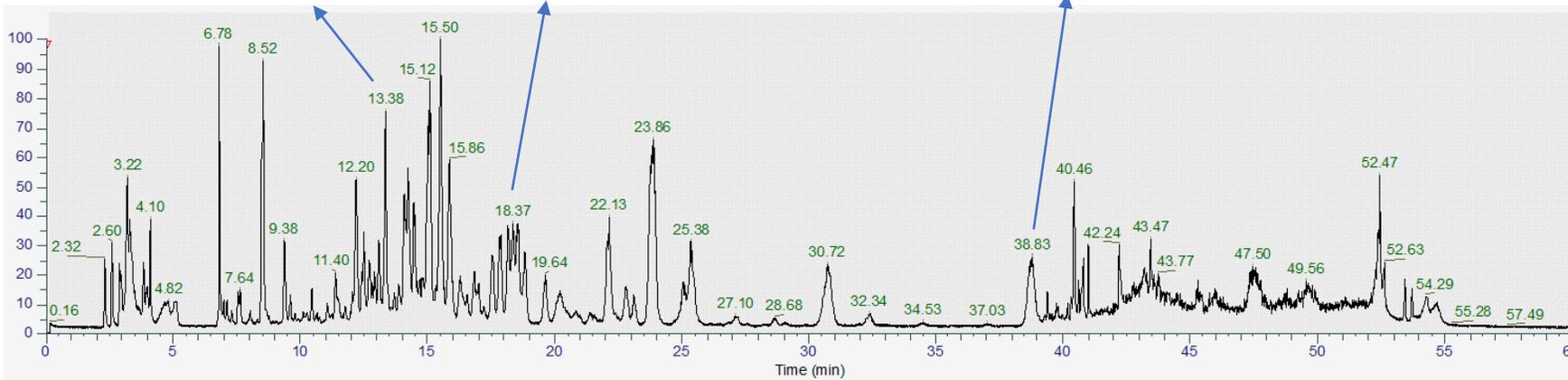
Macération



Fractionnement chimio / bioguidé
Partition liq/liq, colonne chromato, HPLC Prep, exclusion stérique



Analyse chimique

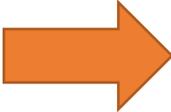


**Approche
chronophage !**

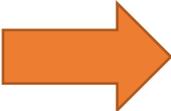
L'HPTLC, accélérateur de découvertes



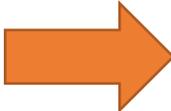
Dépôt



Migration



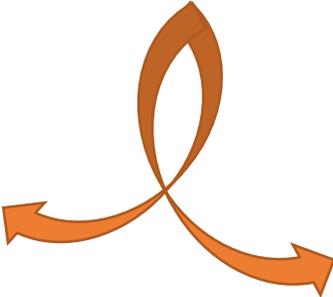
Visualisation



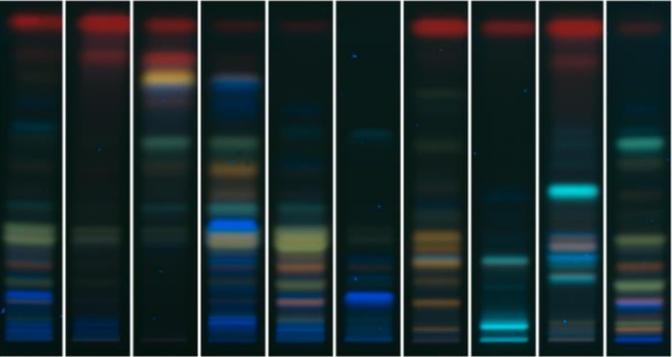
Densitométrie



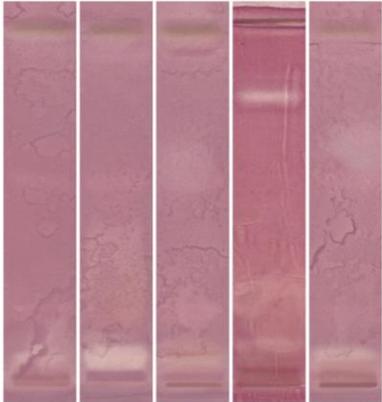
Identification via interface masse



Dérivatisation



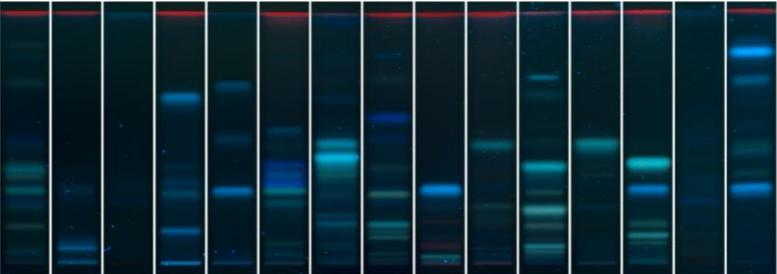
L'HPTLC, accélérateur de découvertes



Dérivatisation

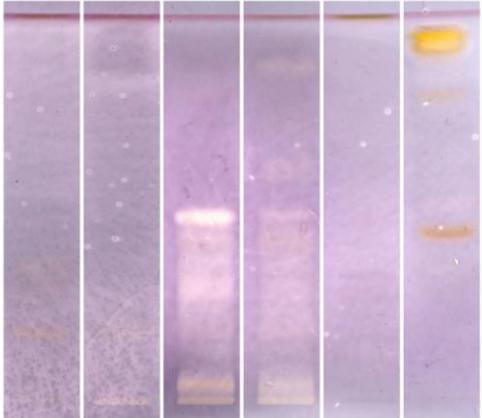
Chimique

Caractérisation physico-chimique
Famille de métabolite
Activité antioxydante (DPPH)



Enzymatique

Détection d'activateur ou d'inhibiteur
Métabolisation



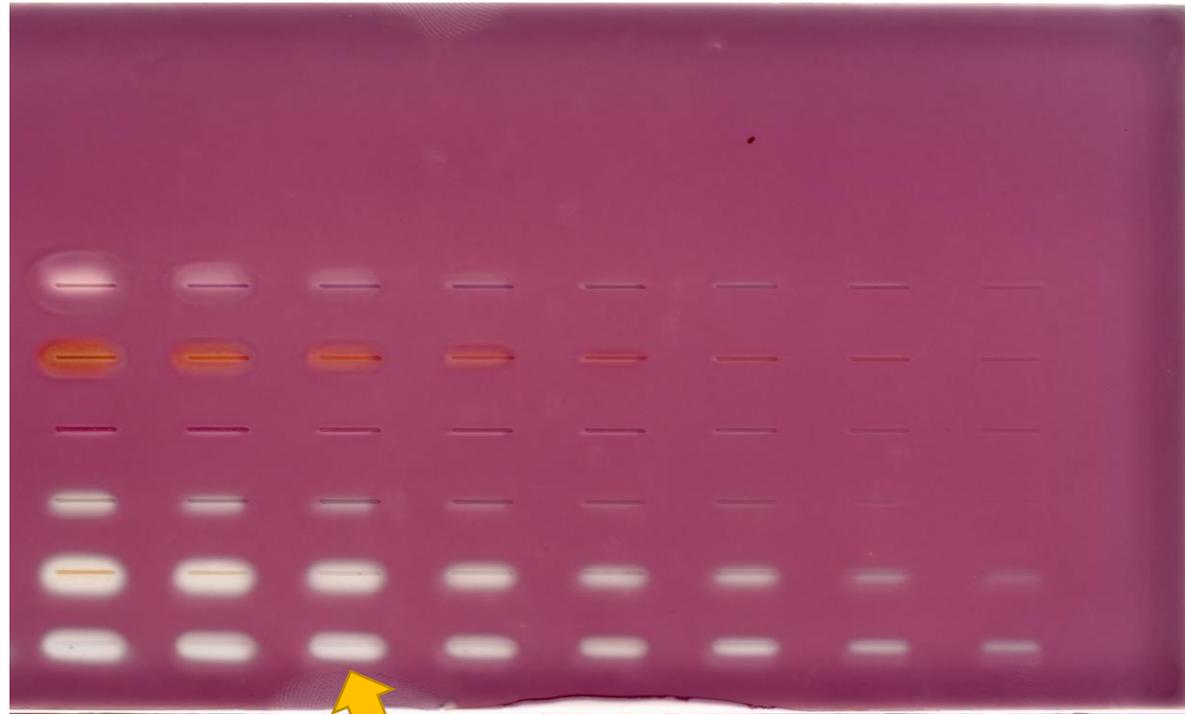
Cellulaire

Antibactériens
Perturbateurs endocriniens
Cytotoxicité

L'HPTLC, accélérateur de découvertes

A. Dérivatisation enzymatique

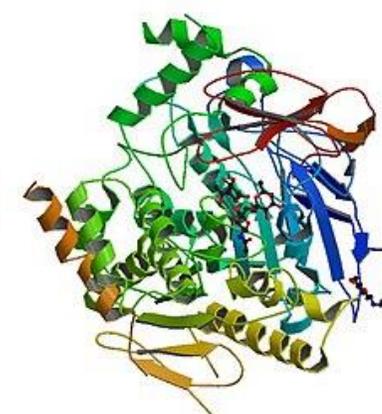
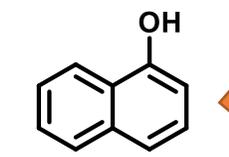
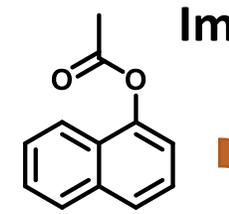
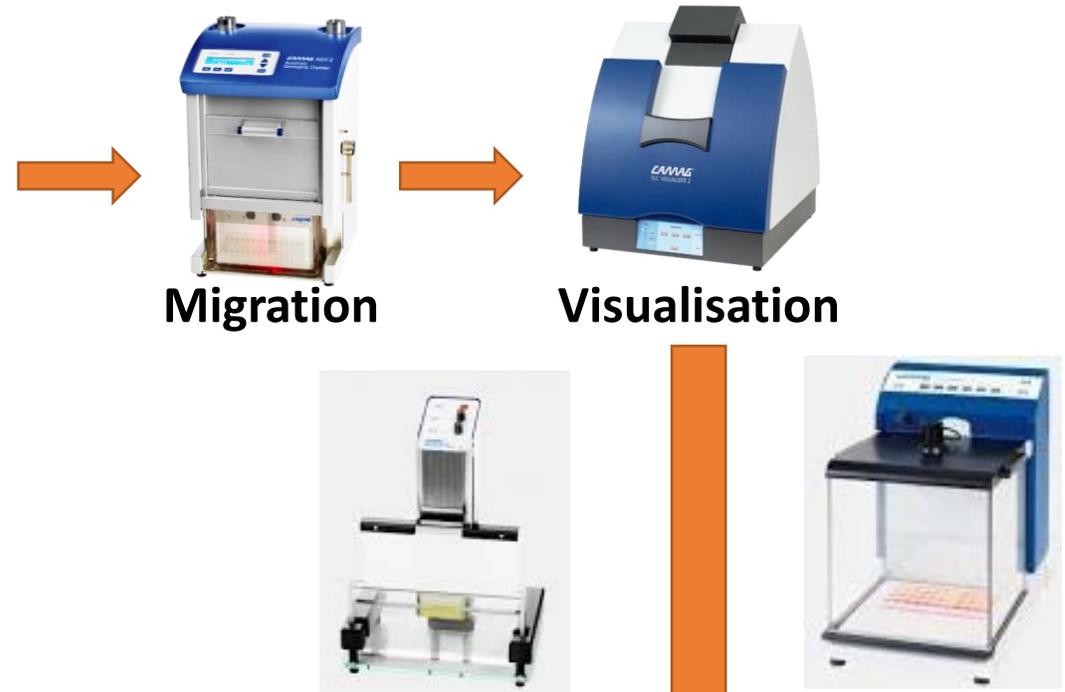
Effect Directed Analysis (EDA)



Inhibiteur potentiel



Azo dye



Enzyme

Ex : acétylcholinesterase

L'HPTLC, accélérateur de découvertes

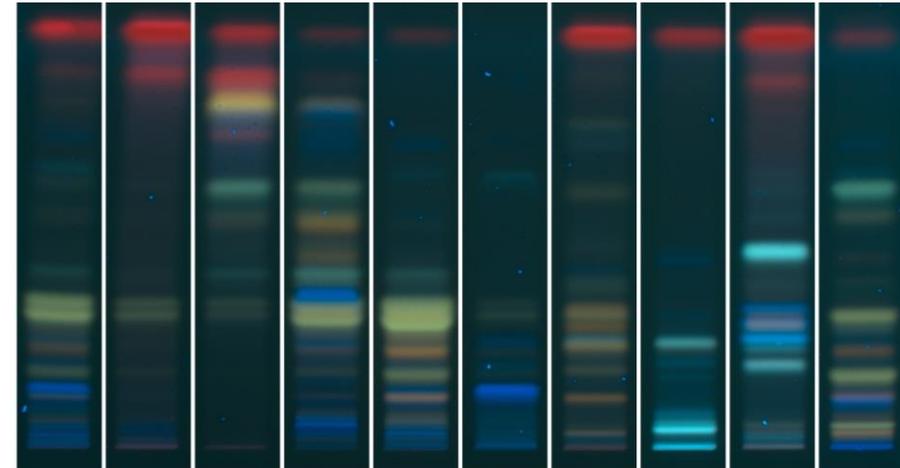
A. Dérivatisation enzymatique

Tests enzymatiques sur TLC ou HPTLC existants

- Tyrosinase
- Acetylcholinesterase
- Butyrylcholinesterase
- α -glucosidase
- β -glucosidase
- β -glucuronidase
- Xanthine oxydase
- Cyclooxygenase 2
- Peroxidase
- Aromatase
- Neuraminidase
- Lipase
- α -amylase
- Invertase
- Dipeptidyl peptidase-4
- Monoamine oxydase
- Glucose-6-phosphate dehydrogenase
- Etc.

Intérêt de l'HPTLC :

- ❖ Très haute précision et sensibilité
- ❖ Grande reproductibilité
- ❖ Screening moyen à haut débit (jusqu'à 23 dépôts / plaque)

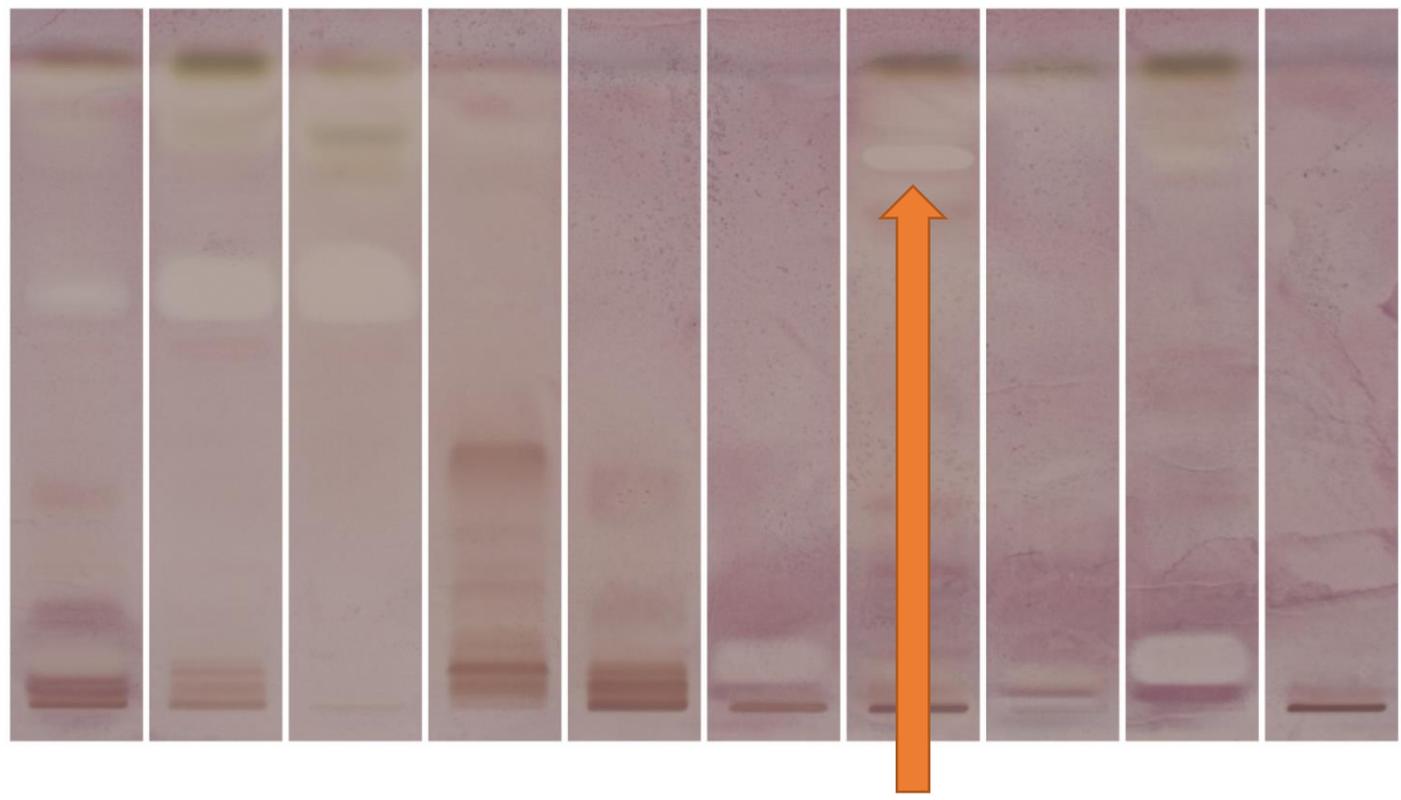


Précaution sur l'utilisation d'enzyme :

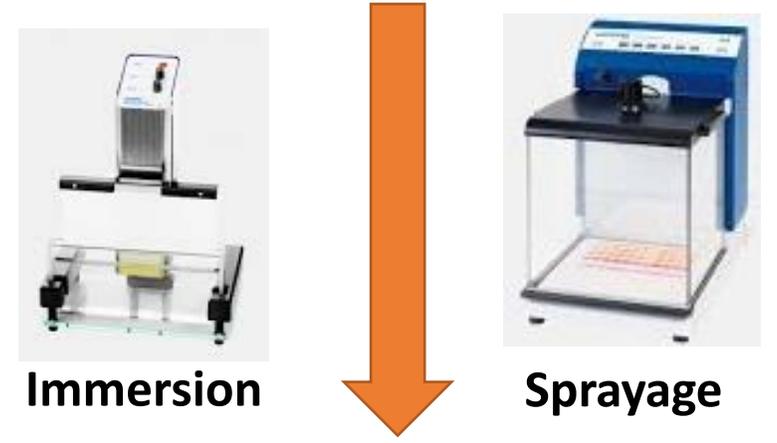
- ❖ Manipulation non triviale
- ❖ Forte sensibilité au pH de la plaque
- ❖ Sensibilité aux solvants organiques
- ❖ Disponibilité et coûts de certaines enzymes

L'HPTLC, accélérateur de découvertes

B. Dérivatisation cellulaire



Composé potentiellement antibactérien



Suspension cellulaire
Levures, bactéries, champignons

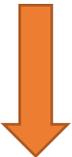
L'HPTLC, accélérateur de découvertes

B. Dérivatisation cellulaire

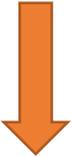
Ex : *Staphylococcus aureus*



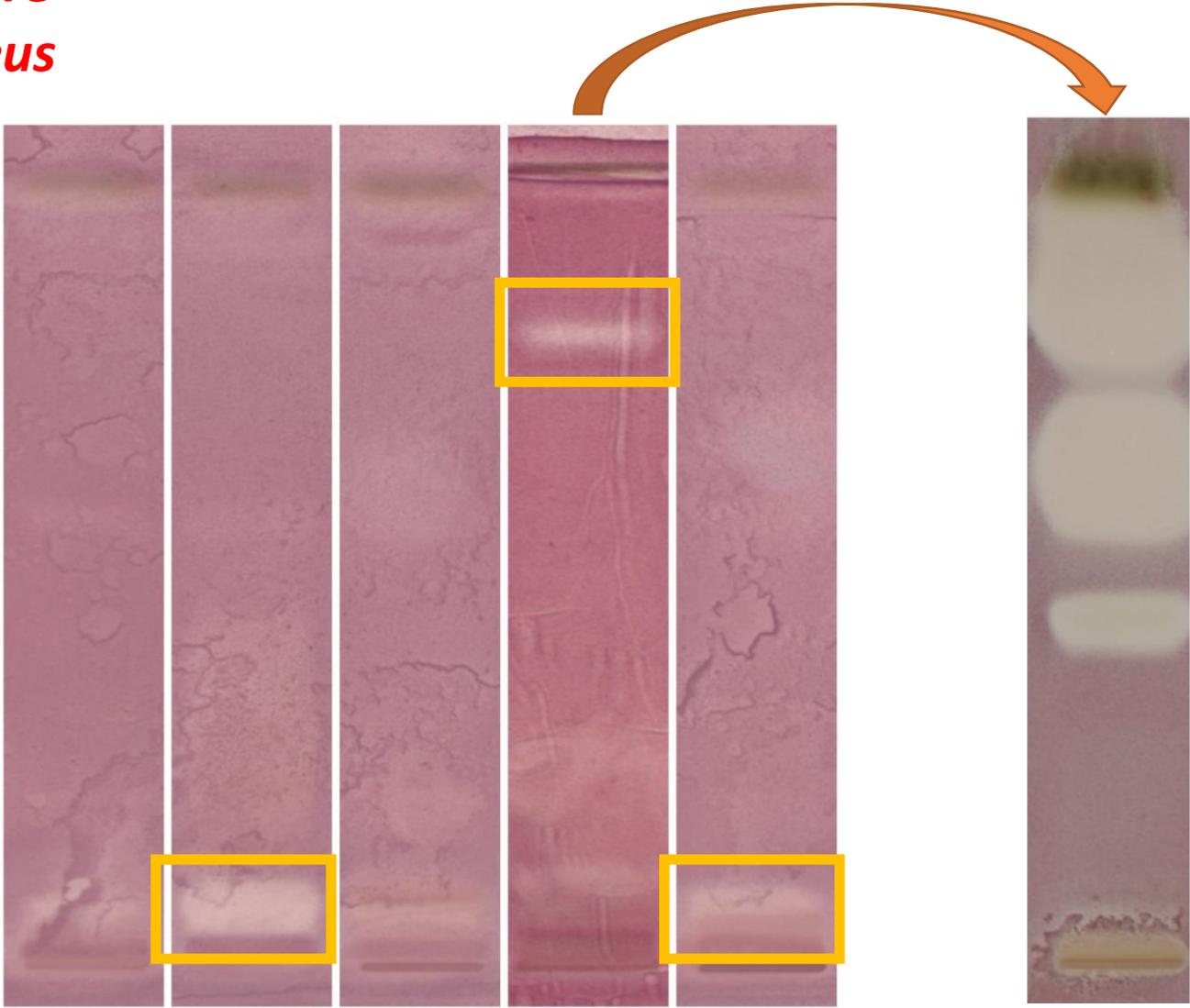
Screening sur 15 espèces



1 extrait brut MIC = 62.5 µg/mL
4 extraits brut MIC = 125µg/mL



Quels métabolites actifs ?



3 métabolites actifs !!

L'HPTLC, accélérateur de découvertes

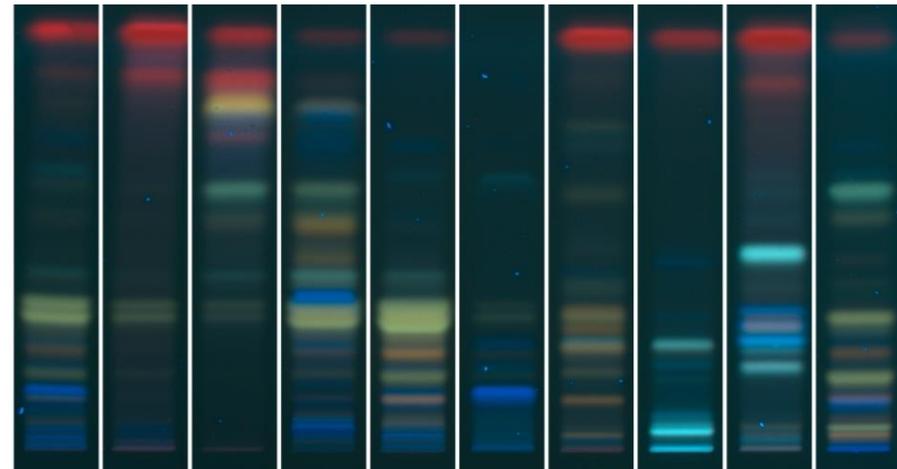
B. Dérivatisation cellulaire

Tests cellulaire sur TLC ou HPTLC existants

- *Staphylococcus aureus*
- *Staphylococcus aureus MRSA*
- *Staphylococcus epidermidis*
- *Escherichia coli*
- *Bacillus subtilis*
- *Pseudomonas syringae*
- *Xanthomonas campestris*
- *Aliivivrio fischeri* (MICROTOX test)
- *Saccharomyces sp.* (p-YES test)
- Etc.

Intérêt de l'HPTLC :

- ❖ Très haute précision et sensibilité
- ❖ Grande reproductibilité
- ❖ Screening moyen à haut débit (jusqu'à 23 dépôts / plaque)



Précaution sur l'utilisation de microorganismes :

- ❖ Manipulation non triviale
- ❖ Très forte sensibilité au pH de la plaque
- ❖ Forte sensibilité aux solvants organiques
- ❖ Dangereusité de certains pathogènes (labo P2 requis)
- ❖ Très rares méthodes sur cellules adhérentes (en cours)



Merci de votre attention !