

Une « mauvaise herbe » pour lutter contre le cancer ?

Étude des propriétés cytotoxiques du latex d'asclépiade de Syrie

Sylvie Croteau

Cégep de Granby, en collaboration avec l'Institut de Pharmacologie de Sherbrooke

Projet financé par le programme d'appui à la recherche pour les enseignants-chercheurs de collège du FRQS (# 36567)

Colloque de l'ARC, dans le cadre du 87^e Congrès de l'ACFAS, 28 mai 2019, Gatineau



Introduction

Les plantes représentent une excellente source de molécules bioactives. Malheureusement, l'accessibilité restreinte à la majorité des plantes sauvages limite le potentiel d'utilisation thérapeutique à grande échelle de telles molécules.

Les asclépiades, un genre de la famille des Apocynacées, regroupent une centaine de variétés de plantes connues pour la diversité des molécules qu'elles produisent, particulièrement les cardénolides ou leurs dérivés glycosylés, les glucosides cardiotoniques. Des effets inhibiteurs sur la prolifération cellulaire *in vitro* ont été observés pour une variété de lignées cellulaires cancéreuses et de cardénolides^{1,2}.



L'asclépiade de Syrie, une plante indigène du Québec, a retenu l'attention pour les propriétés de la fibre extraite de ses follicules. De ce fait, une coopérative de culture a été mise en place et l'étendue des surfaces cultivées est en constante progression. Pour le moment, la récolte se limite aux follicules et le reste de cette plante n'est pas valorisé³.

Objectif :

Réaliser une **purification bio-guidée** d'extraits d'asclépiade de Syrie afin d'y caractériser d'éventuels **composés anticancéreux**.

Matériel et méthode

Récolte et purification

- * Récolte du latex par coupure du pétiole.
- * Précipitation, centrifugation et extraction liquide - liquide.
- * Chromatographie sur gel de silice.
- * Chromatographie liquide haute performance et spectrométrie de masse (HPLC/MS).



Figure 1 : Procédure de récolte du latex.



Figure 2 : Appareillage pour la purification par HPLC/MS.

Test de cytotoxicité

- * Ensemencement de 4000 cellules/ml de PC-3 [cancer de la prostate], MDA-231 [cancer du sein] ou U87-MG [glioblastome].
- * Après 24 h, traitement à différentes concentrations.
- * Après 72 h, coloration au cristal violet et mesure de l'absorption à 570 nm.

Résultats

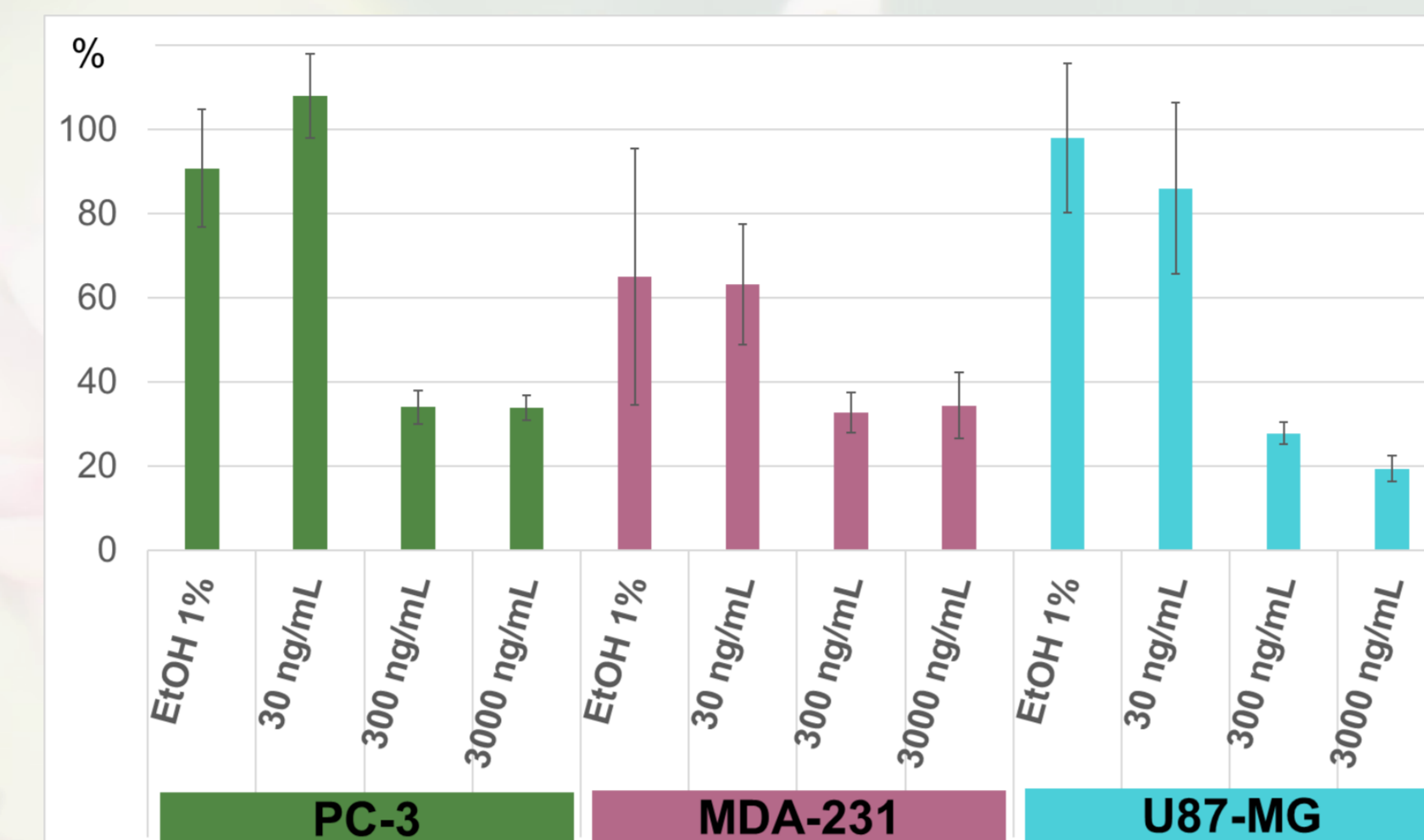


Figure 3: Viabilité de 3 lignées de cellules cancéreuses. Traitement de 72 h avec la phase organique à différentes doses. EtOH 1% : témoin (éthanol 1%).

Étape 1 : L'extrait organique du latex d'asclépiade de Syrie **inhibe la prolifération** des 3 lignées de cellules cancéreuses testées, à des doses inférieures à 500 ng/ml.

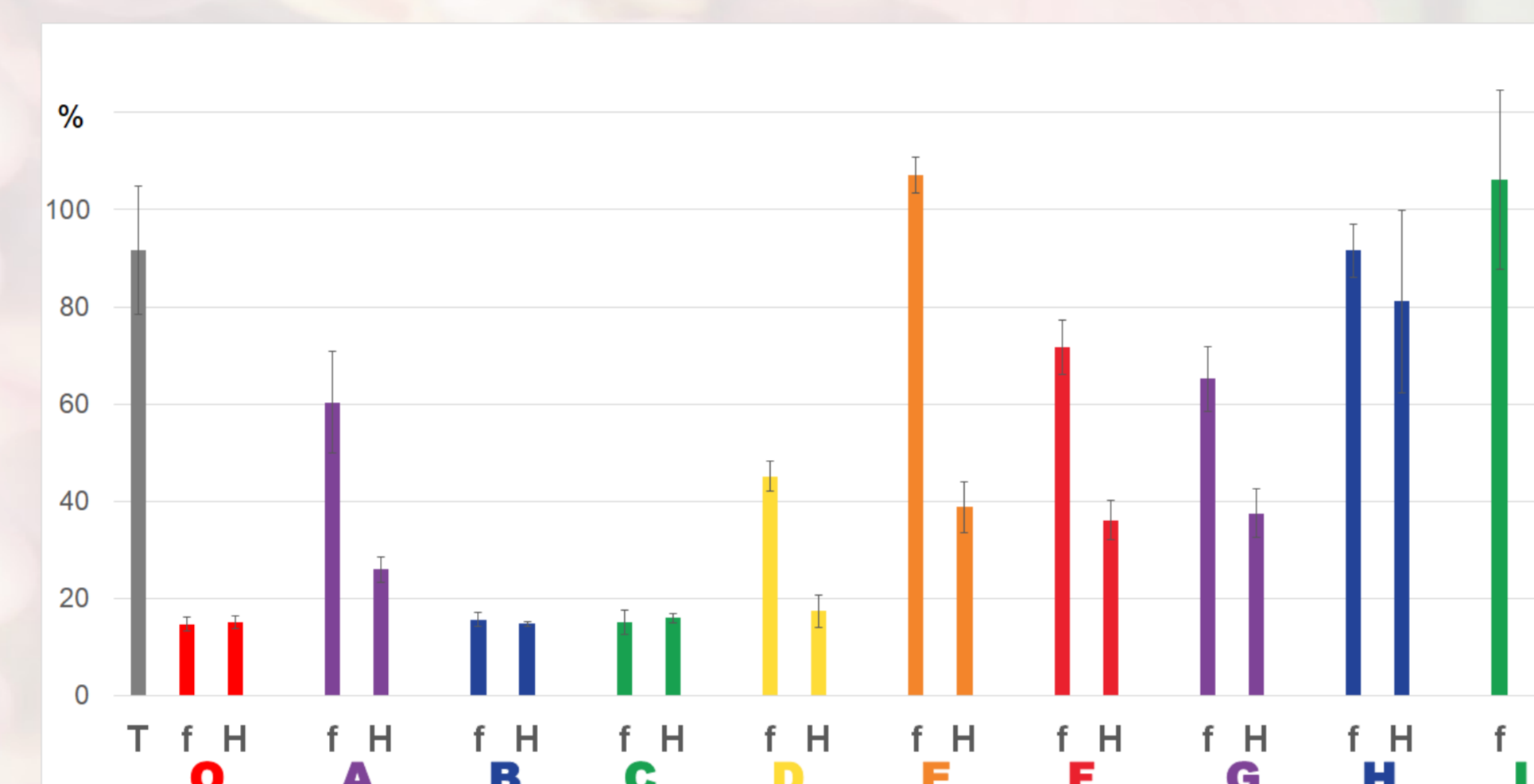


Figure 4 : Viabilité des cellules PC-3 après 72 h de traitement. Phase organique (O) et différentes fractions (A à I). T : témoin (éthanol 1%) ; f et H : dose équivalant respectivement à 500 ng/ml et 5 µg/ml de phase organique.

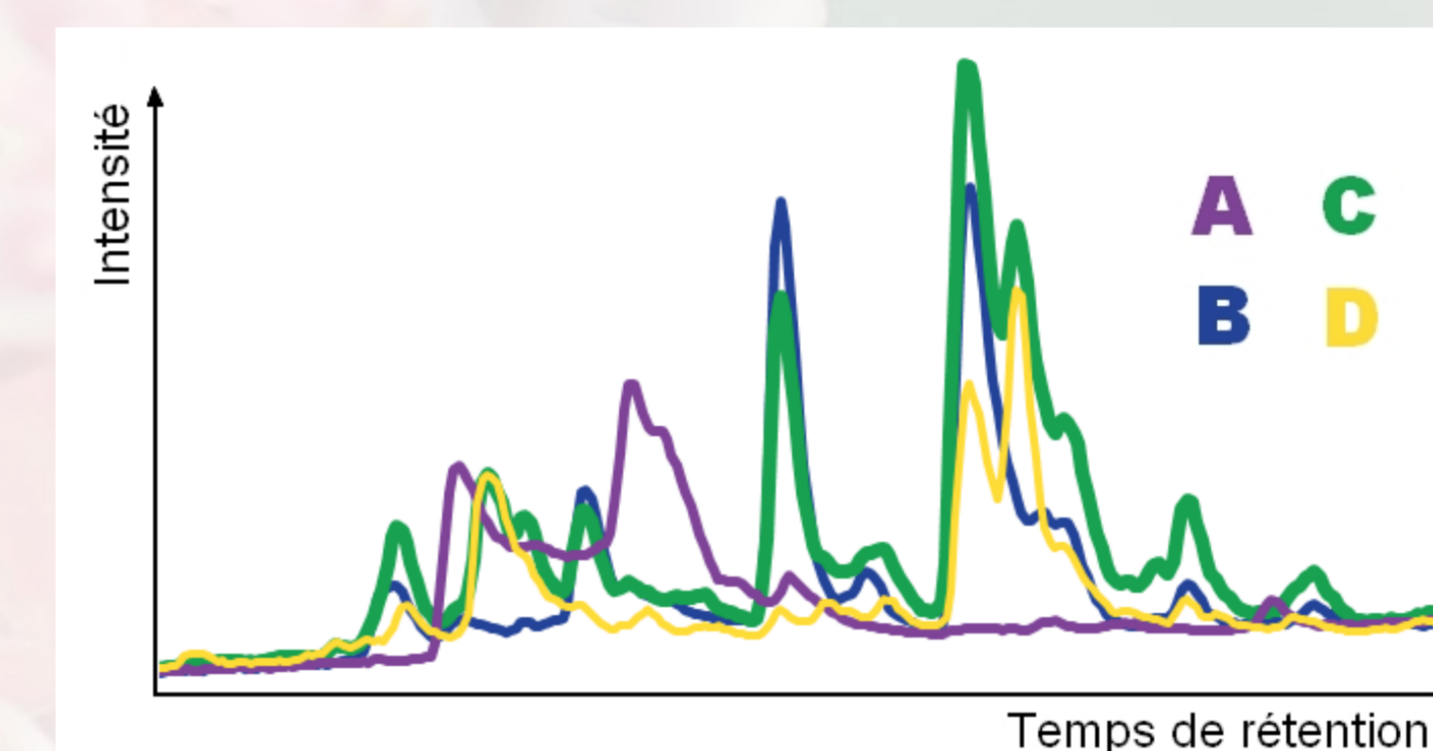


Figure 5 : Analyse des 4 fractions actives par HPLC/MS.

Étape 2 : La chromatographie sur gel de silice a permis de séparer **4 fractions actives** (A à D). La fraction C regroupe les composés des fractions B et D, alors que la fraction A présente une composition très différente.

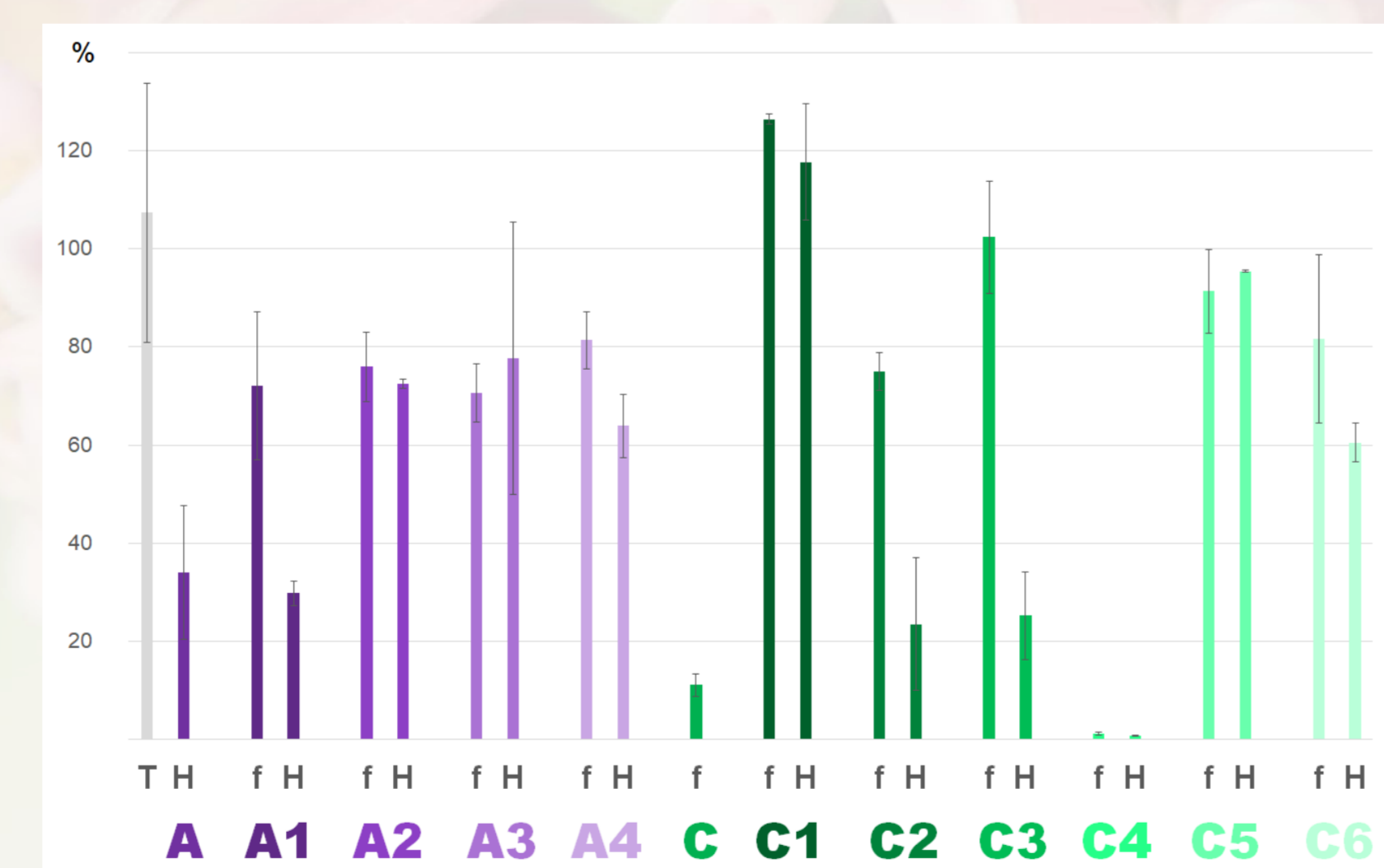


Figure 6 : Viabilité des cellules PC-3 après 72 h de traitement avec les sous-fractions des fractions A (A1 à A4) et C (C1 à C6). T : témoin (éthanol 1%) ; f et H : dose équivalant respectivement à 500 ng/mL et 5 µg/mL de phase organique.

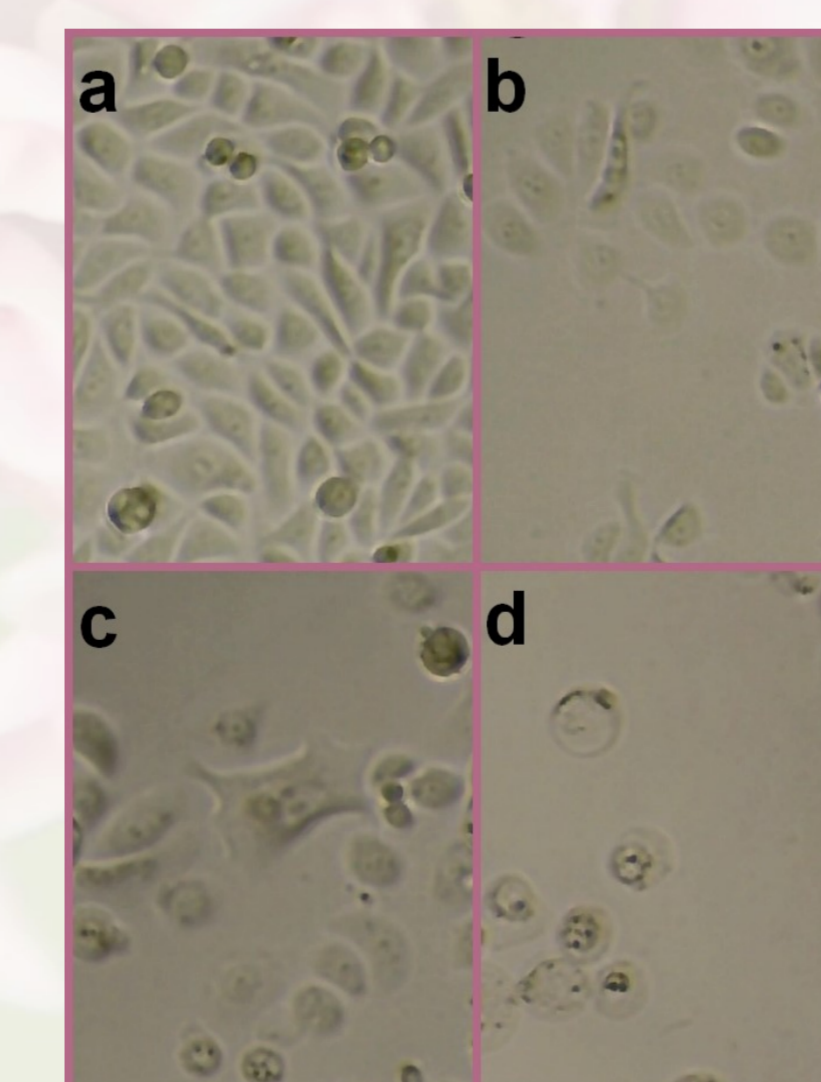


Figure 7 : Morphologie des cellules PC3 selon le traitement. a : T ; b : A1-H ; c : C2-H ; d : C4-f

	MM	P
A1	560,3	63
A2	560,4	47
A3	586,4	50
A4	560,2	32
C1	562,4	76
C2	562,3	60
C3	619,3	37
C4	599,2	97
C5	585,4	80
C6	603,3	88

Tableau 1 : Masse molaire (MM, en g/mol) et pureté (P, en %) du composé majoritaire de chaque sous-fraction.

Étape 3 : La purification par HPLC de la fraction A a généré une sous-fraction active, A1, constituée à 63 % d'un composé de 560,3 g/mol. Pour la fraction C, un **composé presque pur et actif à faible dose** a été obtenu (C4, 599,2 g/mol), ainsi que deux sous-fractions actives à forte dose et moins pures (C2, 562,3 g/mol et C3, 619,3 g/mol).

Conclusion

La purification bioguidée du latex d'Asclépiade de Syrie a permis d'isoler en 3 étapes **un composé pur et actif pour inhiber la prolifération de cellules cancéreuses in vitro à faible dose** (100 nM). De plus **3 fractions enrichies**, mais non pures, et actives à forte dose ont aussi été obtenues.

Perspectives

Pour le composé pur :

- * Caractérisation de l'activité antiproliférative : IC50, durée de traitement, spectre des lignées sensibles.
- * Caractérisation structurale par diverses analyses spectrométriques (masse, RMN, IR).
- * Purification à partir des feuilles d'asclépiade séchées, plus faciles à récolter que le latex.

Pour les fractions enrichies :

- * Poursuivre la purification bioguidée.



Bibliographie

- 1 - Prassas, I. et Diamandis, E.P. (2008). Novel therapeutic applications of cardiac glycosides. *Nature Reviews Drug Discoveries*, 7 (11), 926-935.
- 2 - Wen, S., Chen, Y., Lu, Y., Wang, Y., Ding, L. et Jiang, M. (2016). Cardenolides from the *Apocynaceae* family and their anticancer activity. *Fitoterapia*, 112 (7), 74-84. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fitote.2016.04.023>
- 3 - *Cultiver la soie d'Amérique*, Radio-Canada, 27 juin 2016. <http://encore3.com/blog/2016/06/27/radio-canada-cultiver-la-soie-damerique/>

Remerciements

Merci à Nathalie Nicole Bouchard, Christian Comeau, Alexandre Foh-Dion, Lounes Haroune, Andréanne Laniel et Laurent-Olivier Roy pour leur collaboration à la réalisation de ce projet.