

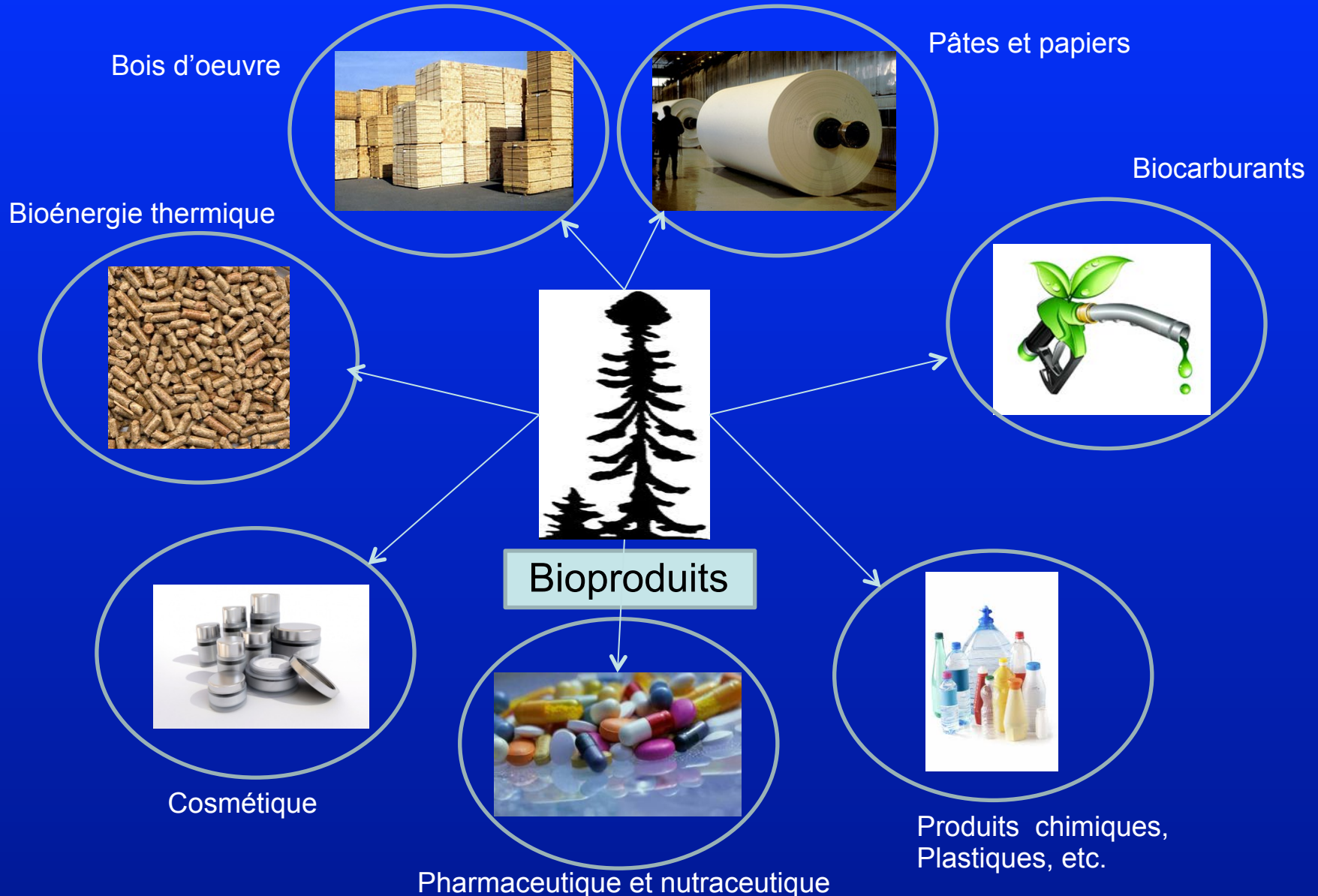
# Mise au point de produits à haute valeur ajoutée à partir de la biomasse forestière

Par André Pichette, Ph.D.

Jean Legault, Ph.D.

François Simard, Ph.D.

# Valorisation des ressources forestières



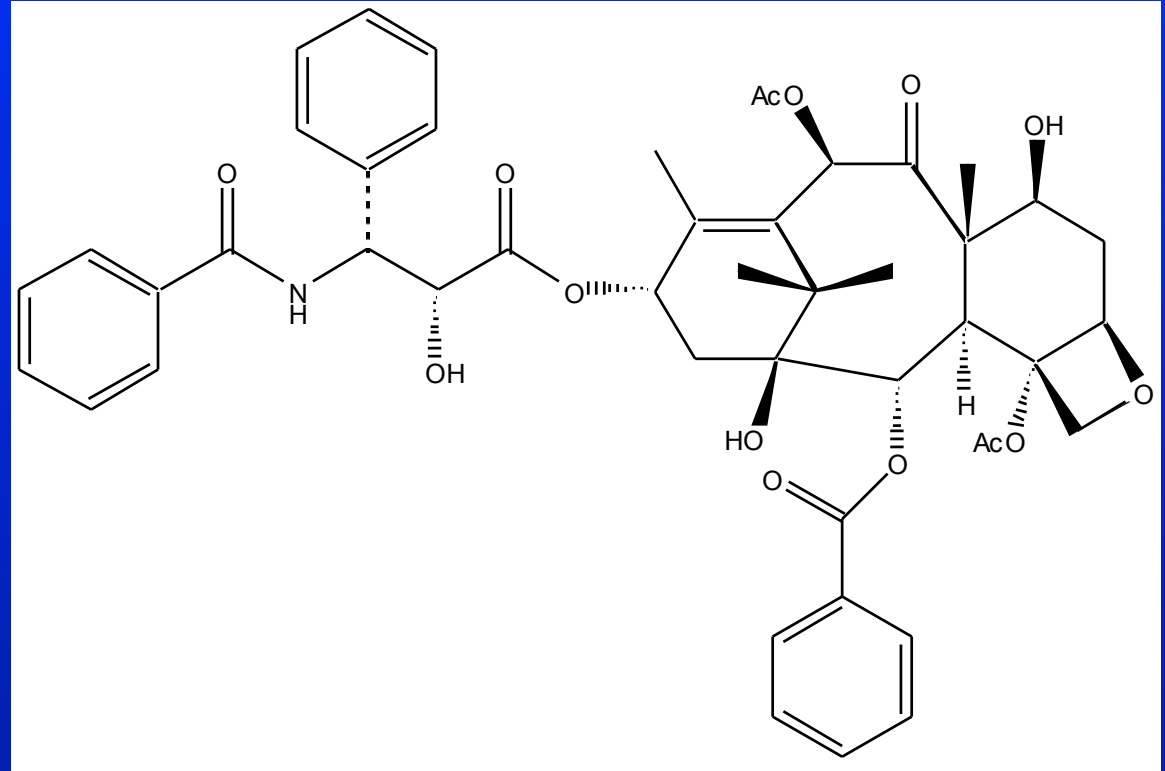
Transformer l'industrie canadienne des produits forestiers  
Association des produits forestiers du Canada (APFC) Février 2010



# LA FORÊT BORÉALE : UNE SOURCE DE NOUVEAUX MÉDICAMENTS

- 300 000 espèces de plantes dans le Monde
- Seulement 6% ont été évaluées pour leur activité biologique.
- La composition chimique de 15% des plantes a été étudiée.
- Plus de 3000 plantes inventoriées dans la forêt boréale.
- Utilisation de plusieurs plantes à des fins médicinales par les amérindiens et les premiers colons.

# Le paclitaxel (Taxol®)

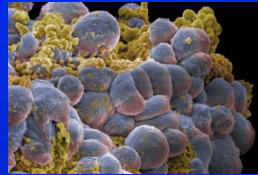


- Actif contre le cancer du sein (1992), de l'ovaire (1994) et du poumon (1999).
- Vente de taxol en 2000 : près de 2 milliards US \$.

# Identification de nouveaux bioproduits pharmaceutiques



Activité anticancéreuse



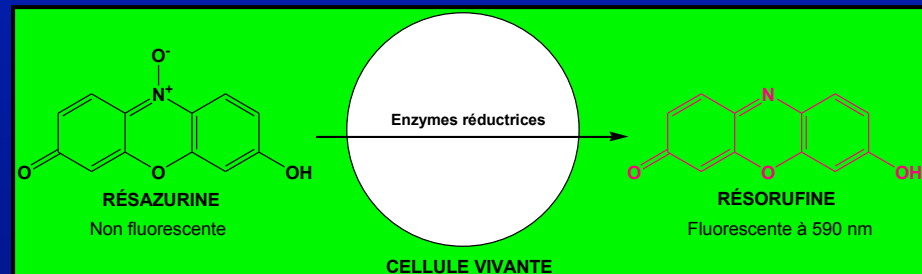
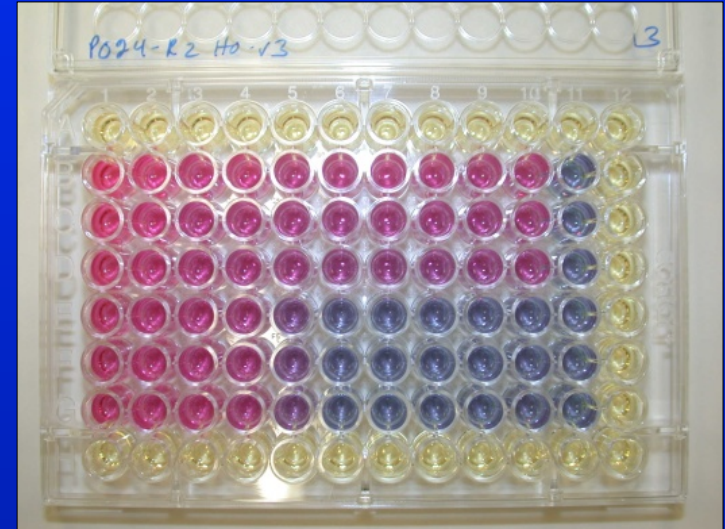
Activité antibiotique (SARM)



Activité antivirale (herpès, influenza, VIH)

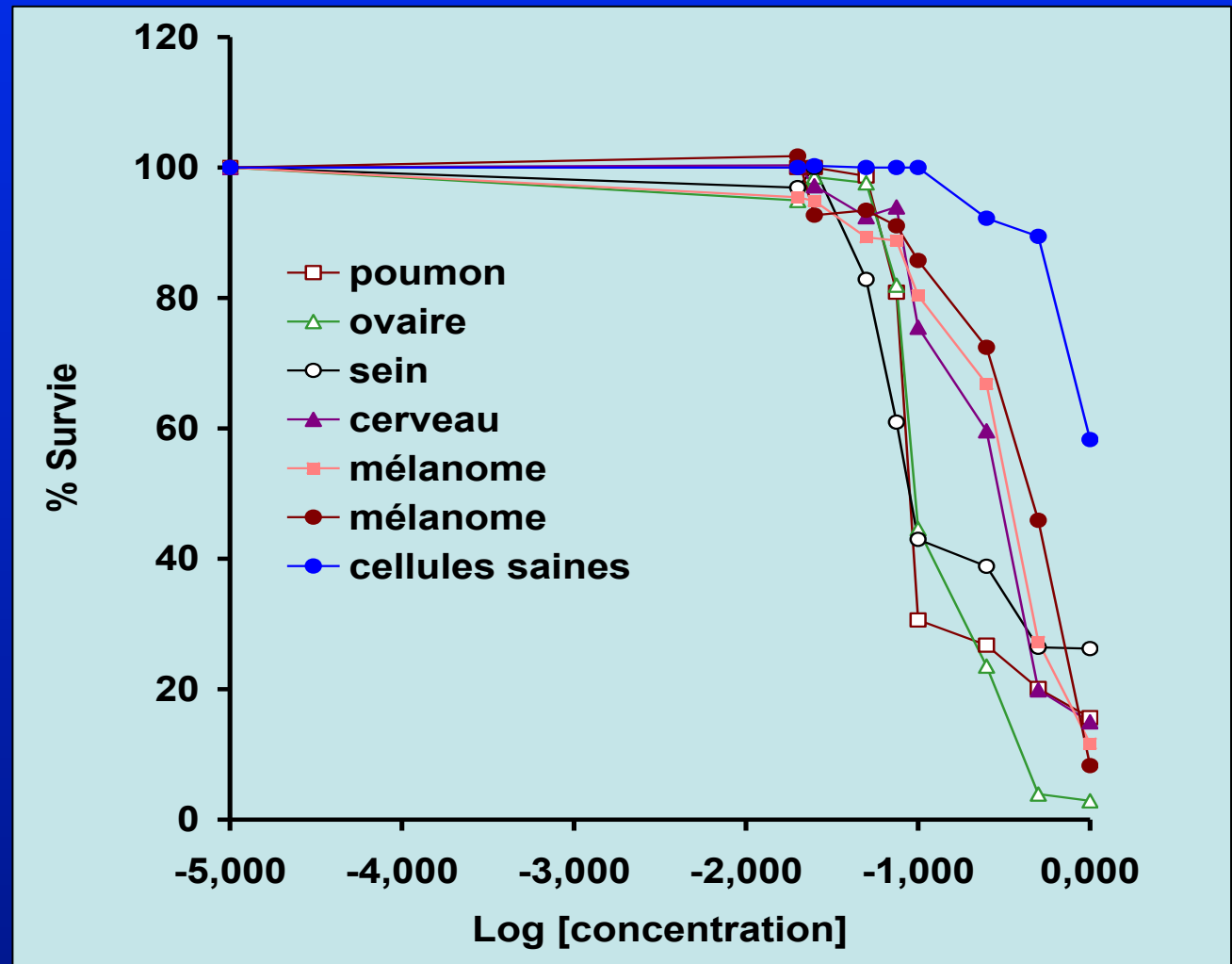


Activité anti-inflammatoire



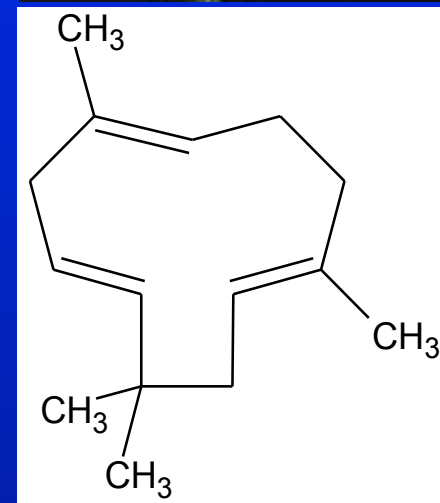


# Activité cytotoxique de l'huile essentielle de sapin baumier



# Composé responsable de l'activité de l'HE de sapin

Compounds	relative concentration	IC <sub>50</sub>
	(%)	( $\mu$ M)
myrcene	1.78	> 250
monocyclic monoterpenes	15.04	> 250
bicyclic monoterpenes	79.39	> 250
tricyclene	0.77	> 250
$\beta$ -caryophyllene	0.31	> 250
$\alpha$ -humulene	0.16	73

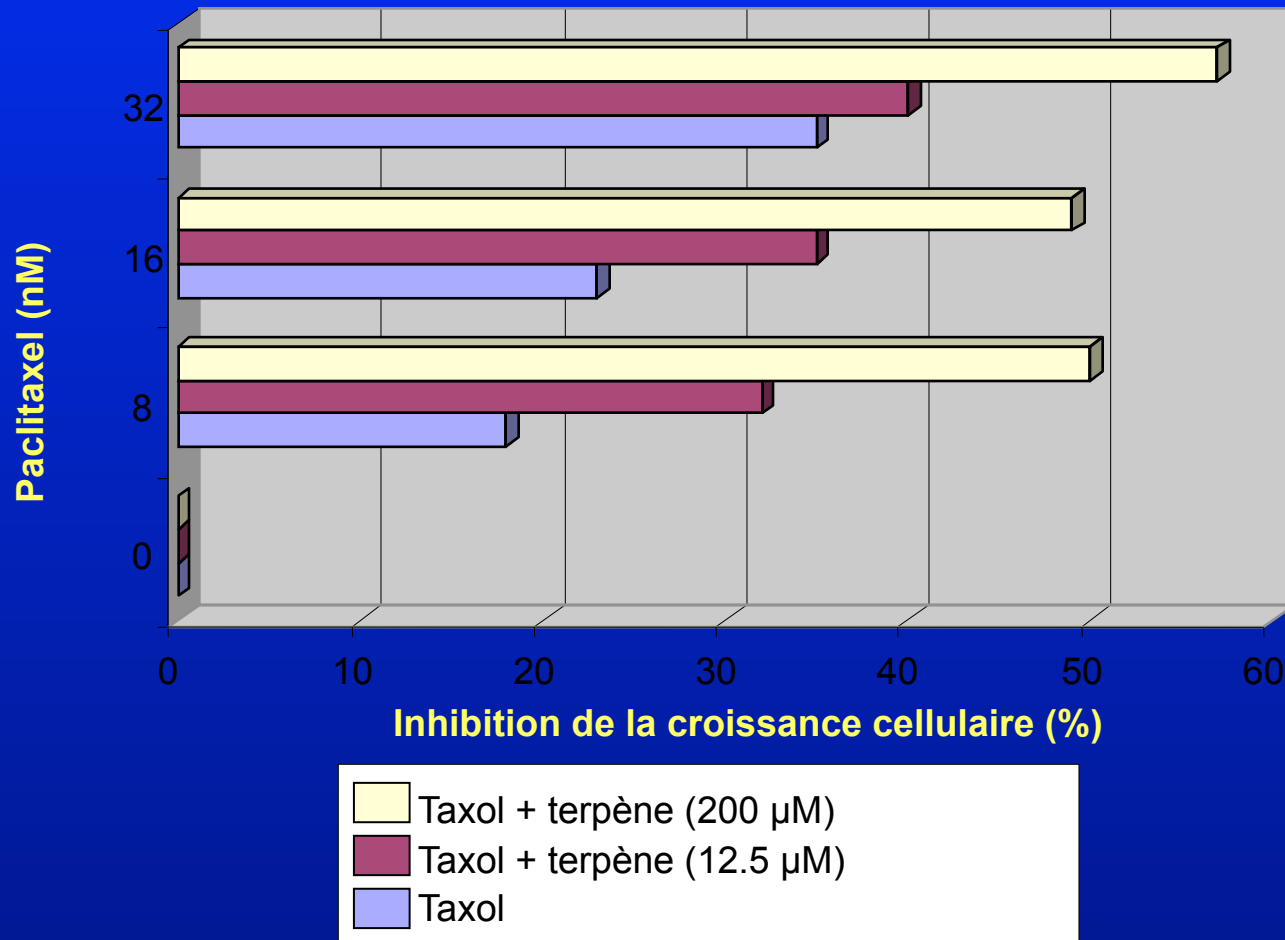


- L' $\alpha$ -humulène, un sesquiterpène responsable de l'activité anticancéreuse de l'huile essentielle de sapin baumier \*

\*Legault, J. *et al.* Planta Med. 2003, 69, 402.

# L'IC<sub>50</sub> de l' $\alpha$ -humulène ne peut justifier l'activité antitumorale de l'HE de sapin baumier

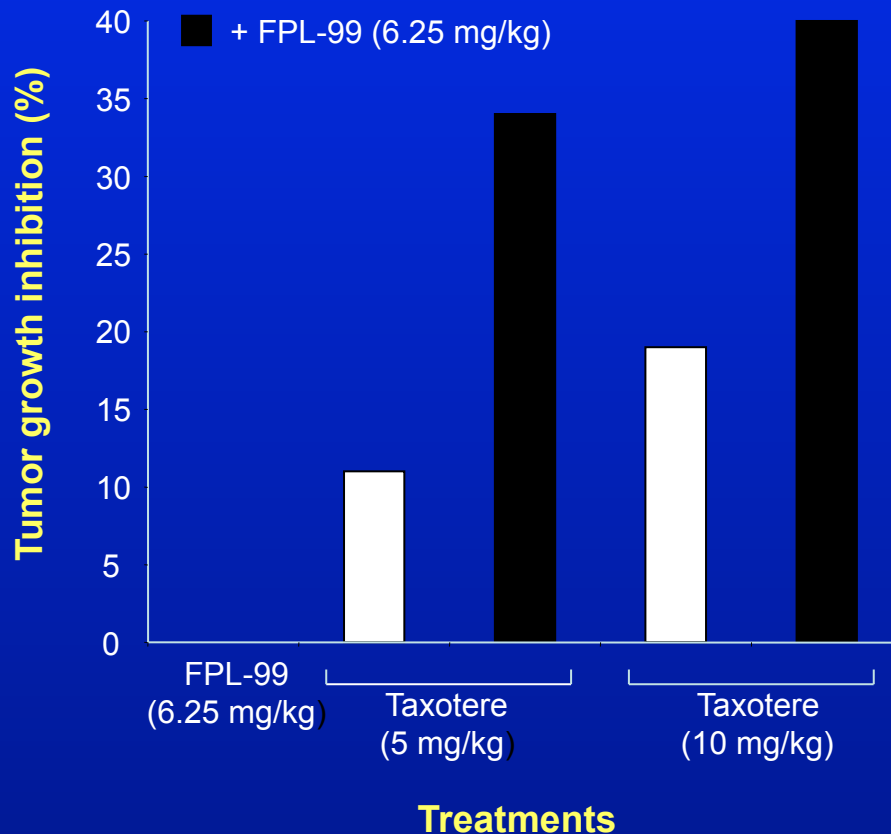
- Relation de synergie ou de potentialisation<sup>7</sup>



<sup>7</sup>Legault, J., Pichette, A. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2007, 59, 1-5.



# Effet potentialisateur du caryophyllène en combinaison avec le docetaxel sur des souris porteuses de tumeurs LLC

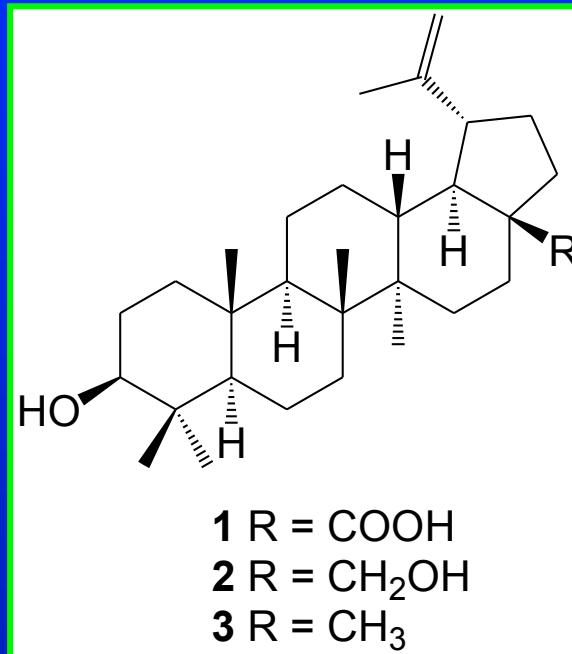


- FPL-99 in combination with Taxotere® more than doubles growth inhibition of Taxotere® alone
- Very low toxicity was observed

# Écorces du bouleau blanc: source d'anticancéreux



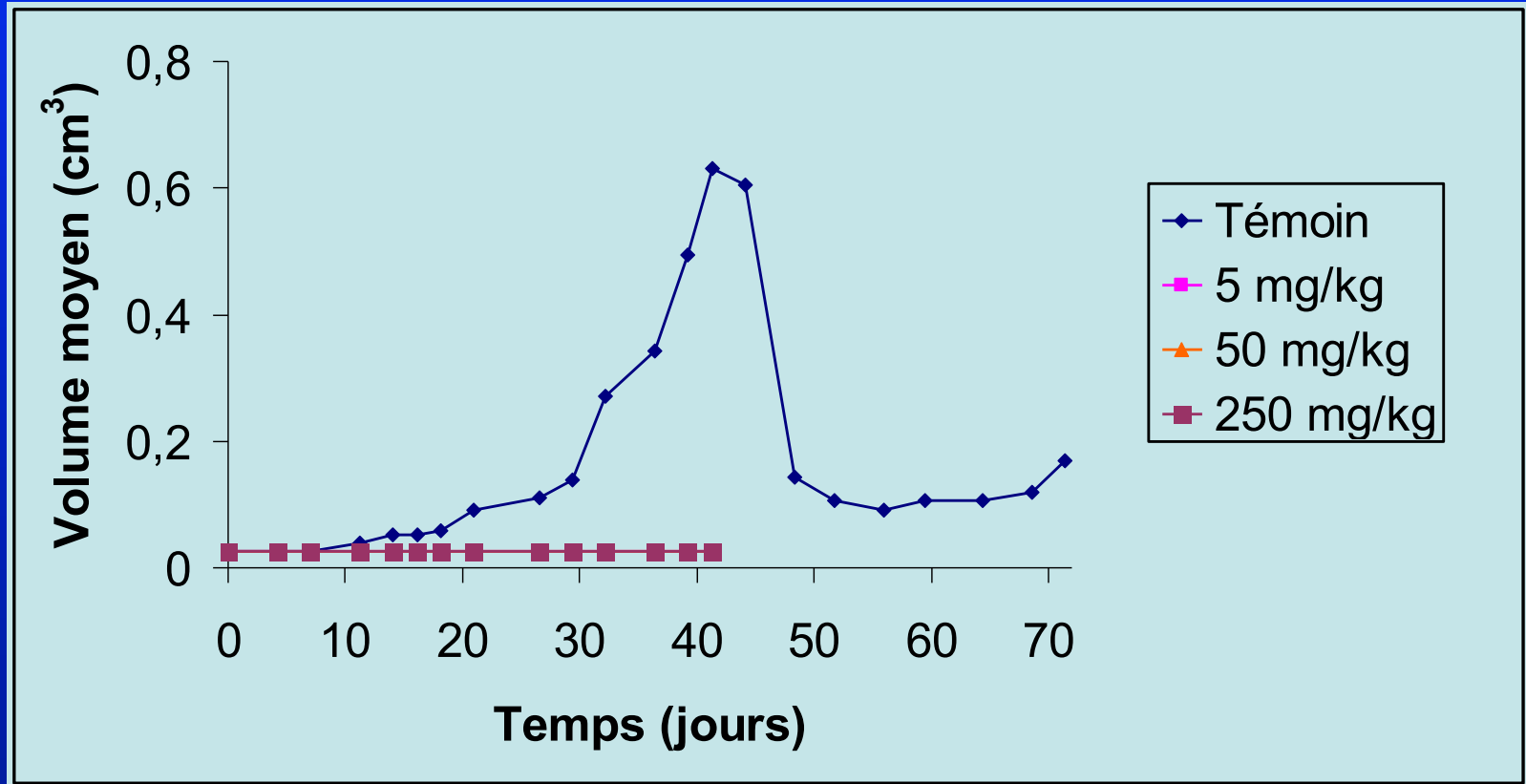
Bouleau blanc  
(*Betula papyrifera*)



Triterpènes	(%)
Acide bétulinique (1)	5,4
Bétulinol (2)	<b>72,4</b>
Lupéol (3)	5,9

# Efficacité *in vivo* de l'acide bétulinique

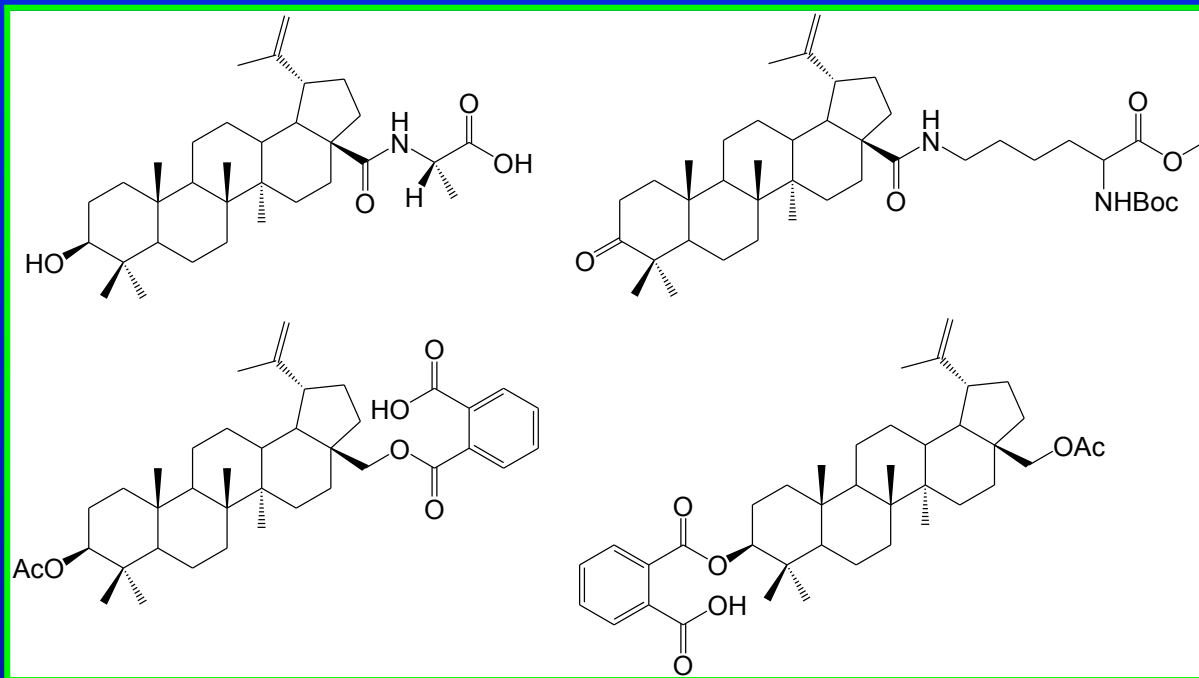
(modèle murin MEL-1, sous cutanée)



# - Développement entravé par sa faible biodisponibilité

- Faible hydrosolubilité (0,02 µg/ml)
- Problèmes avec la formulation et le mode d'administration.

Solution? Coupler sections polaires hydrosolubles (positions 3 et 28)



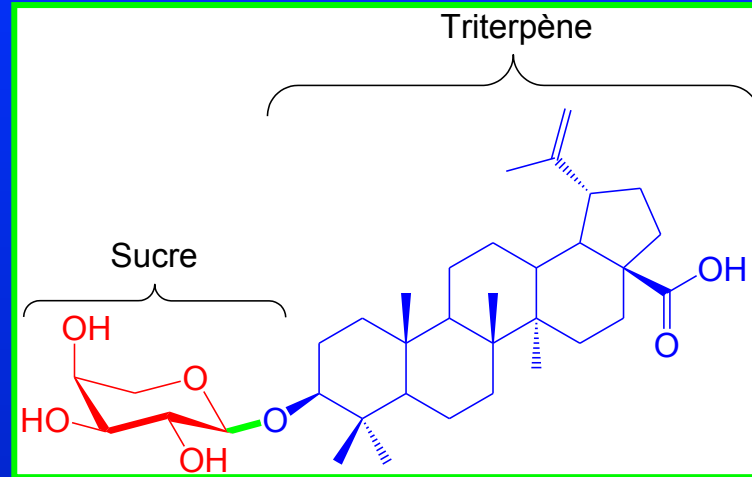
Jäger *et al.* *Planta Med.* **2007**, *73*, 157.

Jeong *et al.* *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, *9*, 1201.

Saxena *et al.* *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 6349.

Kvanisca *et al.* *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 3447.

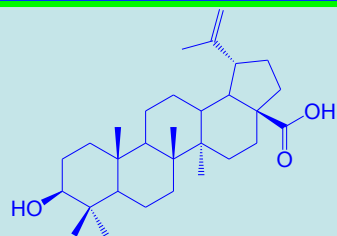
# Approche retenue: Utilisation de glycosides



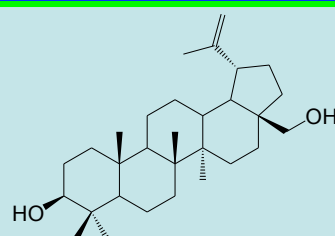
## Pourquoi préparer des glycosides triterpéniques ?

- Nombreux glycosides naturels (rôle de transporteurs au sein des plantes)
- Améliorer l'hydrosolubilité et/ou ADME
- Augmenter l'activité anticancéreuse
- Cibler les cellules cancéreuses (sélectivité)
- Glycosides de source naturelle (isolation, <%)
- Glycosides hémisynthétiques (>%)
- Étude des relations structure-activité (SAR)

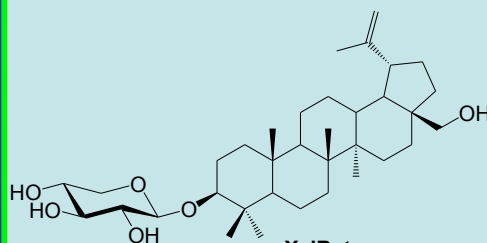
# Activité anticancéreuse des glycosides d'acide bétulinique



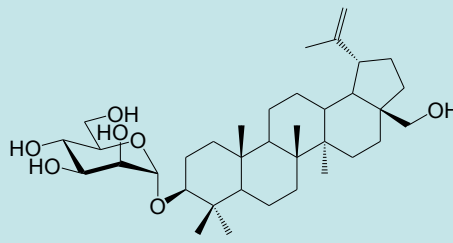
**BetA**  
 $IC_{50} = 10,3 \mu M$  (A549)  
 $IC_{50} = 12 \mu M$  (WS1)  
Faible sélectivité  
(Molécule naturelle)



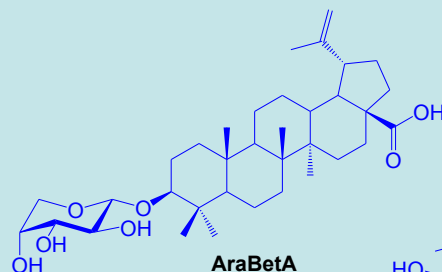
**Bet**  
 $IC_{50} = 3,8 \mu M$  (A549)  
 $IC_{50} = 3,6 \mu M$  (WS1)  
Aucune sélectivité  
(Molécule naturelle)



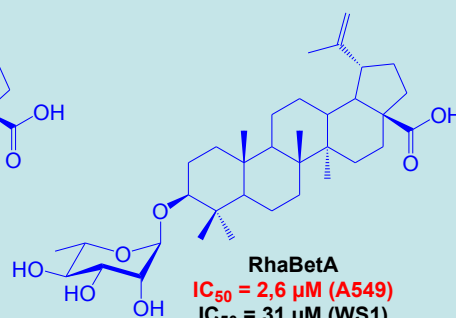
**XylBet**  
 $IC_{50} = >75 \mu M$  (A549)  
 $IC_{50} = >75 \mu M$  (WS1)  
Inactif  
(Molécule naturelle)



**ManBet**  
 $IC_{50} = 7,3 \mu M$  (A549)  
 $IC_{50} = 5,1 \mu M$  (WS1)  
Aucune sélectivité



**AraBetA**  
 $IC_{50} = 10 \mu M$  (A549)  
 $IC_{50} = 47 \mu M$  (WS1)  
Sélectivité 5x



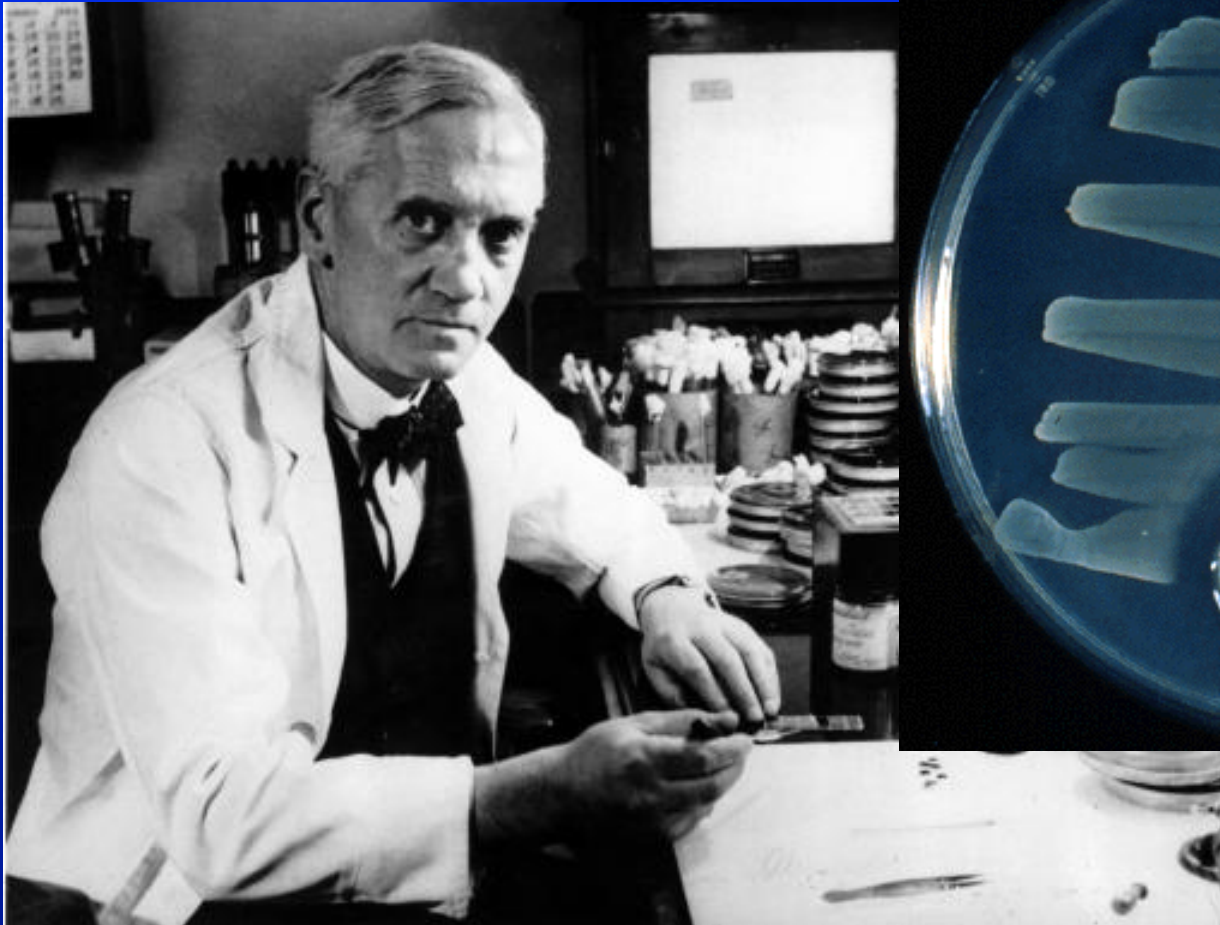
**RhaBetA**  
 $IC_{50} = 2,6 \mu M$  (A549)  
 $IC_{50} = 31 \mu M$  (WS1)  
Sélectivité 12x  
(Molécule naturelle)

Gauthier *et al.* Bioorg. Med. Chem. **2006**, *14*, 6713.

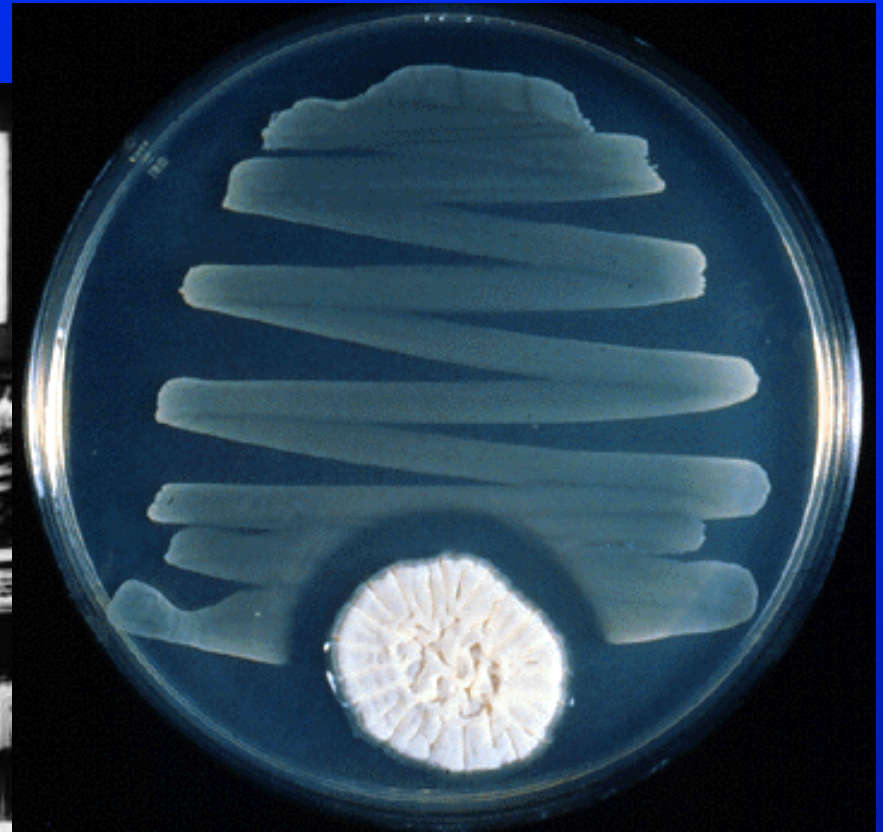
Thibeault, D. *et al.* Bioorg. Med. Chem. **2007**, *15*, 6144.

Pichette, Legault, Gauthier, Canadian & United States Patent application **2008**, 73 pp.

# À la recherche de nouveaux antibiotiques



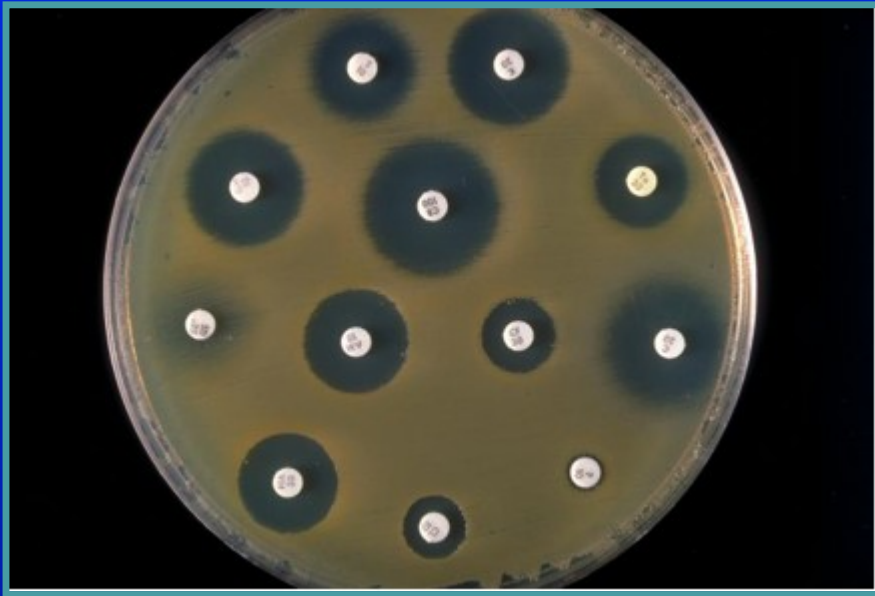
**Alexander Fleming**



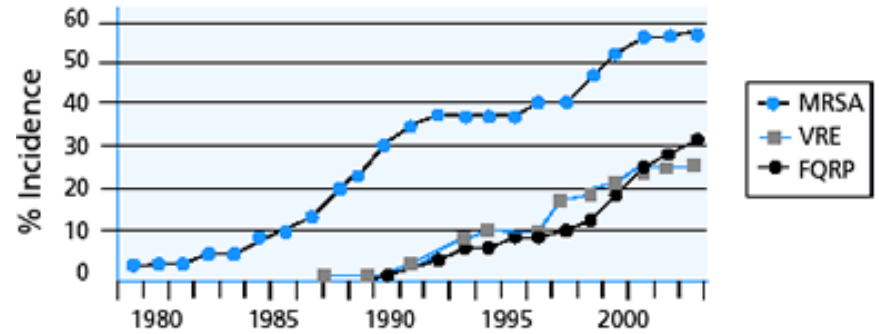
**Penicilline (1928)**



# Le phénomène de résistance aux antibiotiques



Tiré de: Todar's Online Textbook of Bacteriology,



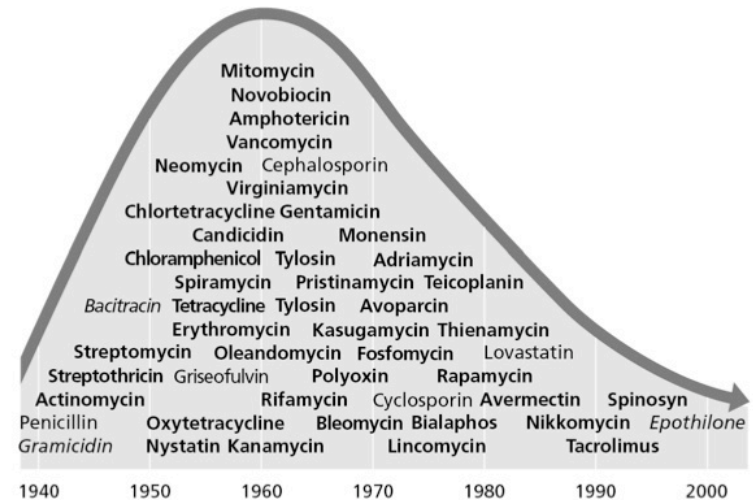
Source: Centers for Disease Control and Prevention

MRSA = Methicillin-resistant *Staphylococcus Aureus*

VRE = Vancomycin-resistant Enterococci

FQRP = Fluoroquinolone-resistant *Pseudomonas aeruginosa*

Dalovisio, J. R. (2005). *Clinical Infectious Diseases* 40(4): 574-578.



# APPARITION DES BACTÉRIES RÉSISTANTES

## Mécanismes de résistance à l'antibiotique

L'altération des récepteurs empêche les antibiotiques de s'ajuster

La diminution de la perméabilité de la membrane empêche l'antibiotique d'entrer

Antibiotique

Antibiotiques refoulés de la cellule par la pompe

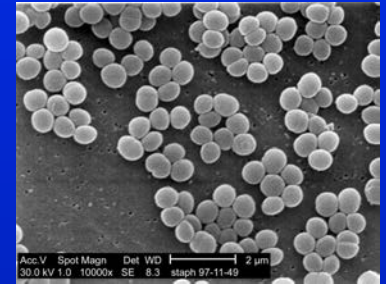
Pompe

Antibiotique refoulé

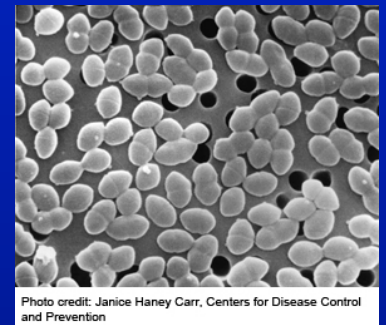
**BACTERIE**

Les antibiotiques sont décomposés par les enzymes

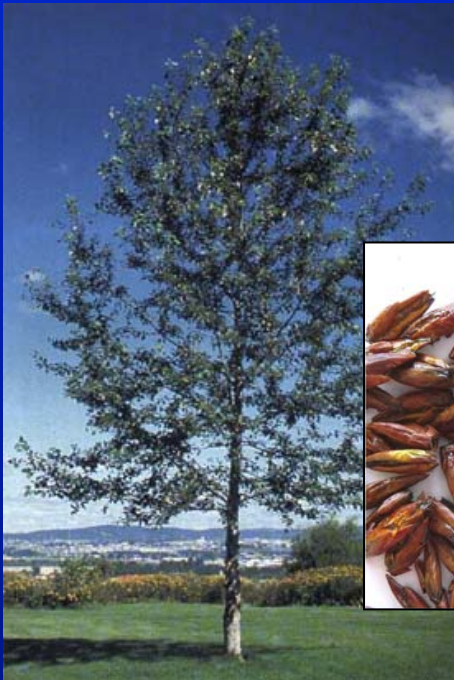
*Staphylococcus Aureus*  
Résistant à la Méthycilline.  
(SARM)



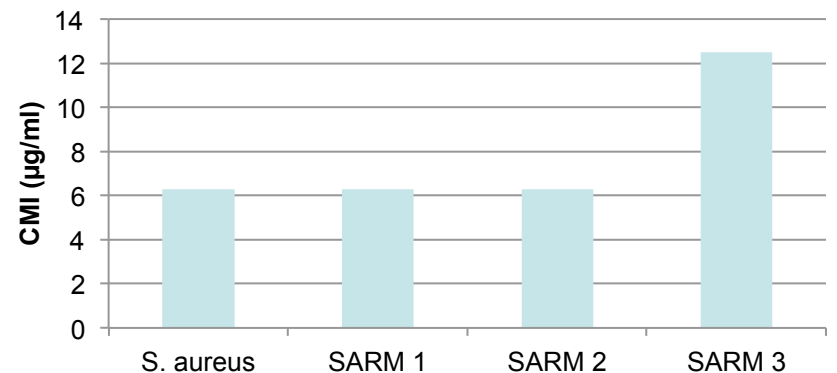
Entérocoque Résistant à la Vancomycine  
(ERV)



# Pourquoi les bourgeons de Peuplier baumier ?

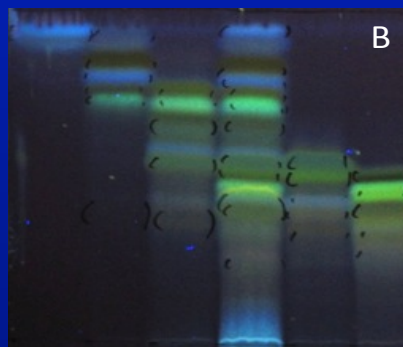
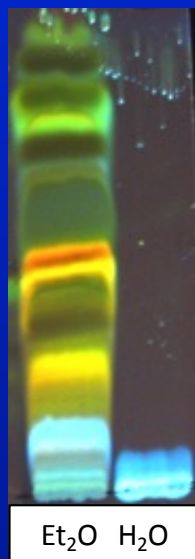
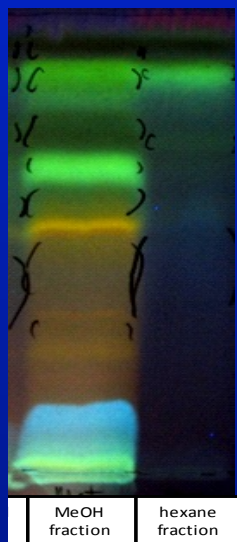
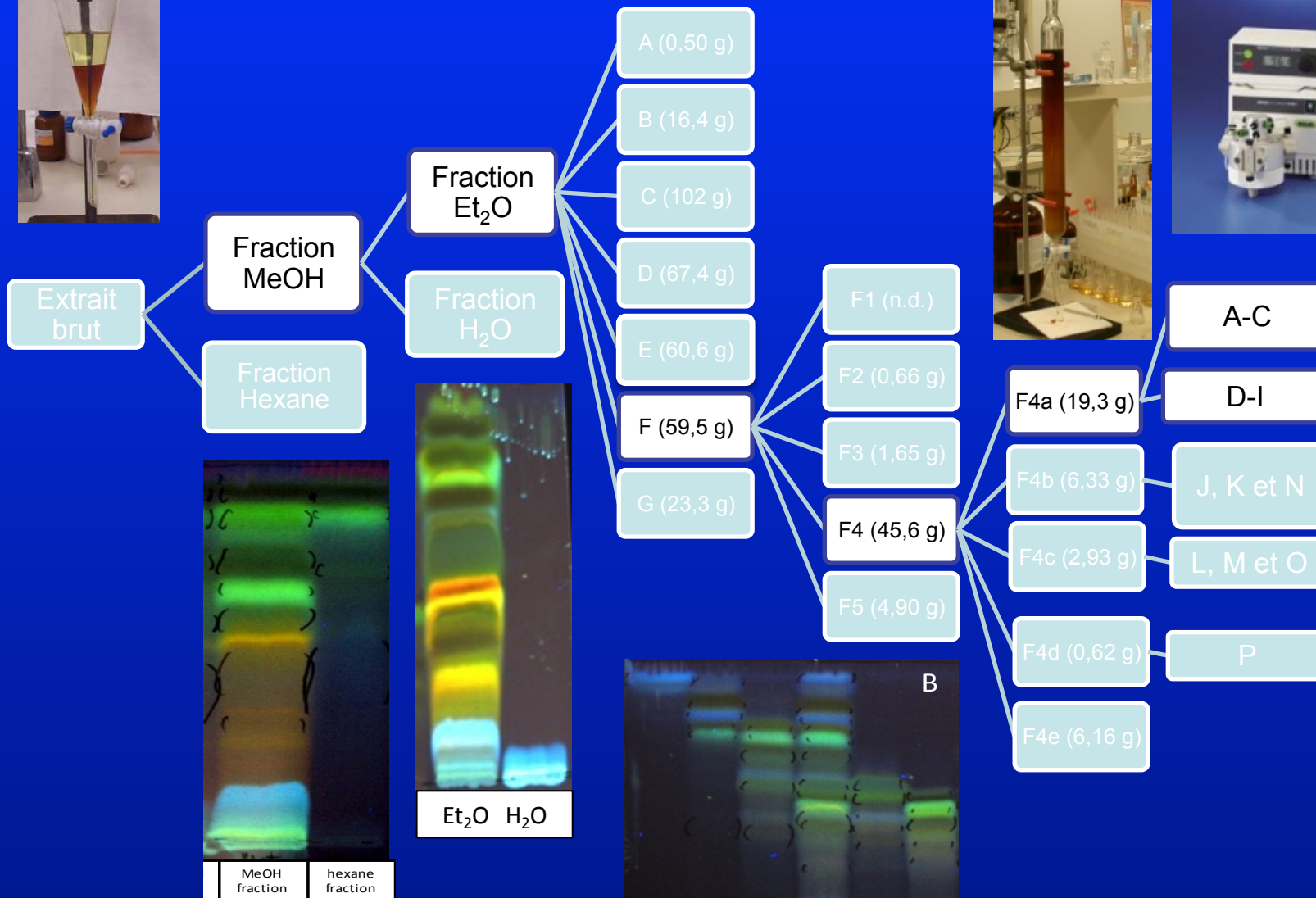


Extrait éthanolique de bourgeons de *P. balsamifera*

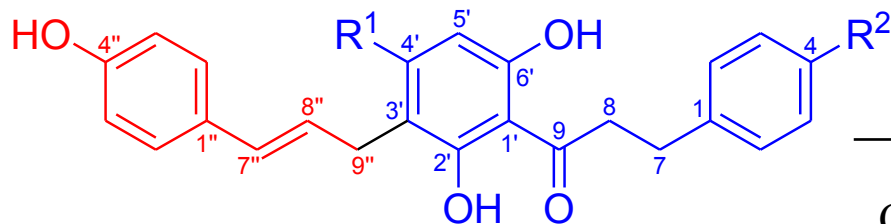




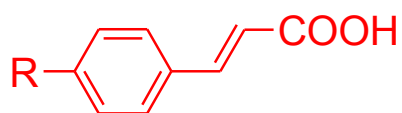
# Trouver les coupables



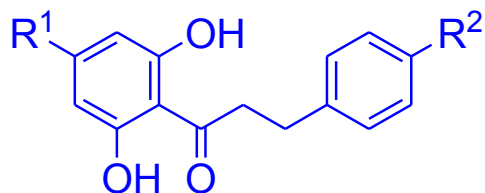
# Identifier les coupables



Balsacone A	$R^1 = \text{OCH}_3$	$R^2 = \text{OH}$
Balsacone B	$R^1 = \text{OH}$	$R^2 = \text{OCH}_3$
Balsacone C	$R^1 = \text{OH}$	$R^2 = \text{H}$



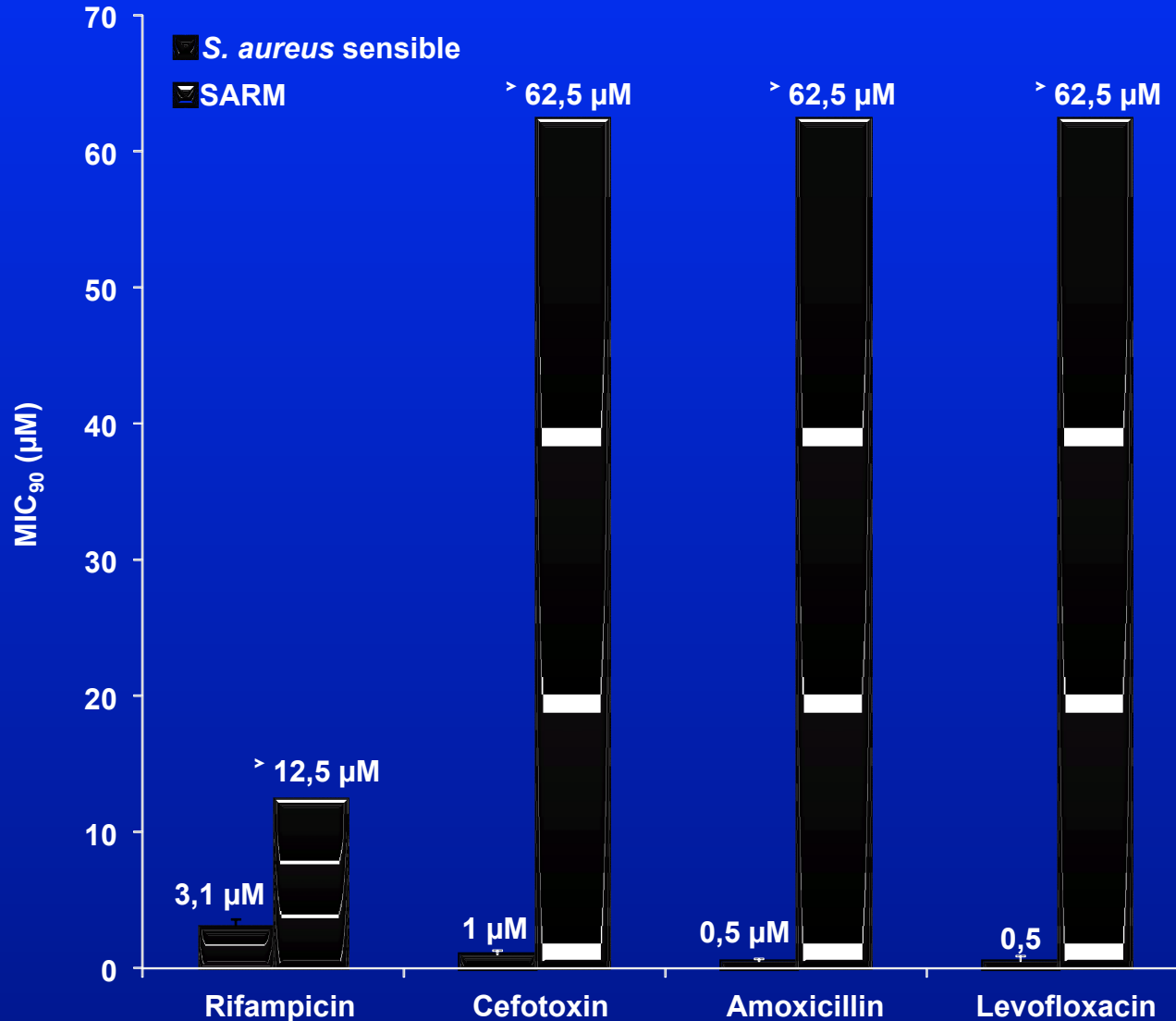
- 4**  $R = \text{H}$   
**5**  $R = \text{OH}$



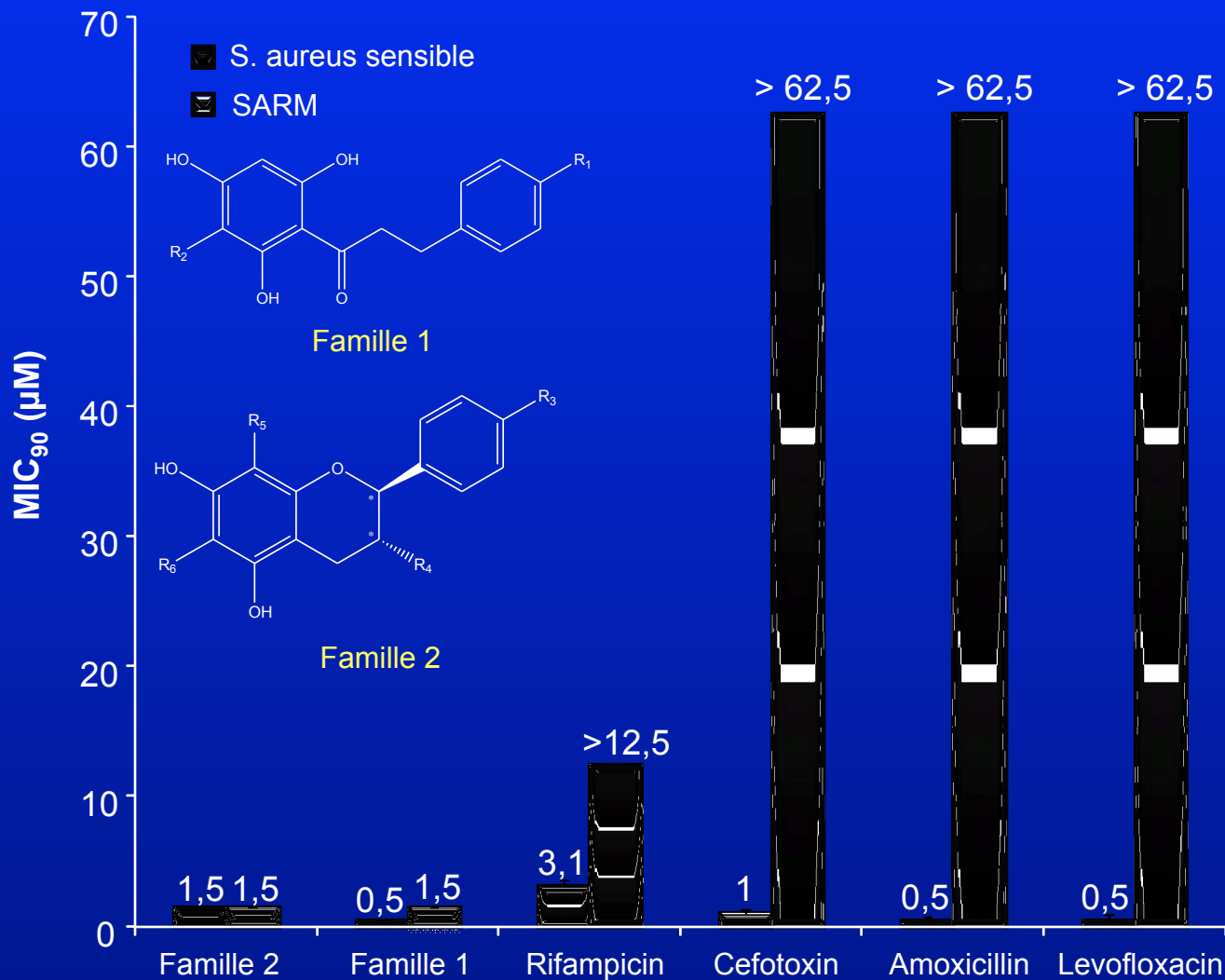
<b>6</b>	$R^1 = \text{OCH}_3$	$R^2 = \text{OH}$
<b>7</b>	$R^1 = \text{OH}$	$R^2 = \text{OCH}_3$
<b>8</b>	$R^1 = \text{OH}$	$R^2 = \text{H}$
<b>9</b>	$R^1 = \text{OCH}_3$	$R^2 = \text{OCH}_3$
<b>10</b>	$R^1 = \text{OCH}_3$	$R^2 = \text{H}$

Composés	CMI ( $\mu\text{M}$ ) <sup>a</sup>		IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ )
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	WS1
A	> 200	6,3	25 ± 2
B	> 200	6,3	> 200
C	> 200	3,1	23.6 ± 0.8
<b>4</b>	> 200	> 200	> 200
<b>5</b>	> 200	> 200	> 200
<b>6</b>	> 200	100	130 ± 7
<b>7</b>	NT	NT	> 200
<b>8</b>	> 200	100	35.0 ± 0.3
<b>9</b>	> 200	> 200	23 ± 1
<b>10</b>	> 200	> 200	20 ± 1
Gentamicin <sup>c</sup>	0,04	0,02	NT

# Évaluer leur potentiel/Disposer d'une vaste banque de souches bactériennes



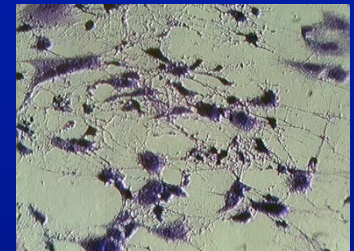
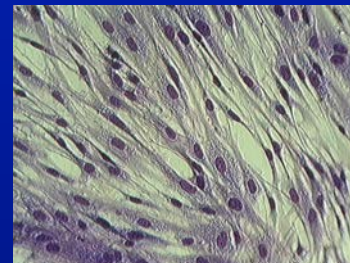
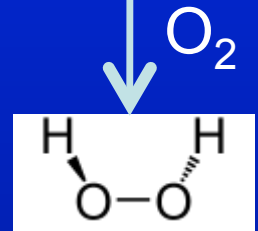
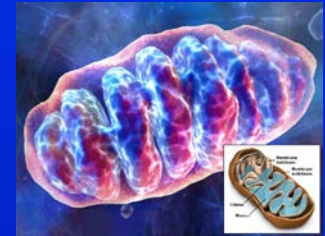
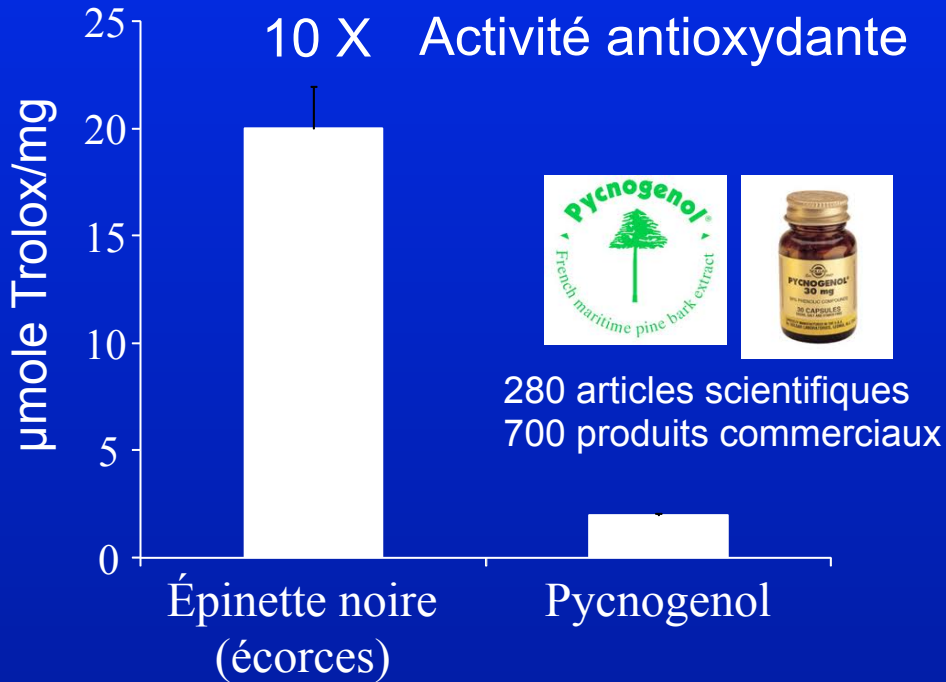
# Activité des composés isolés de *P. balsamifera* sur *S. aureus* sensible et les SARM





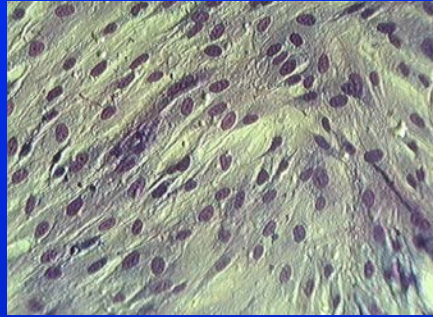


# Nutraceutique et Nutrition animale



Fibroblastes de peau humaine

# Cosmétique



Fibroblastes de peau humaine en culture

Activité antioxydante

Activité anti-inflammatoire

Stimulation de la production du collagène



Stimulation de la production de l'élastine



Inhibition de la collagénase et de l'élastase

LISE WATIER



AGE CONTROL SUPREME



# EXTRAIT DE FEUILLES DE THÉ DU LABRADOR

*(Ledum groenlandicum)*

## Méthode d'extraction novatrice

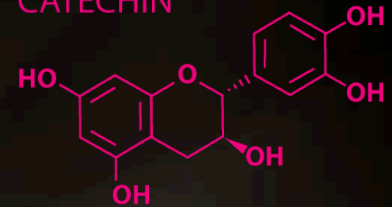


Extrait riche en composés phénoliques

■ Propriété anti-âge:

- Antioxydant

CATECHIN

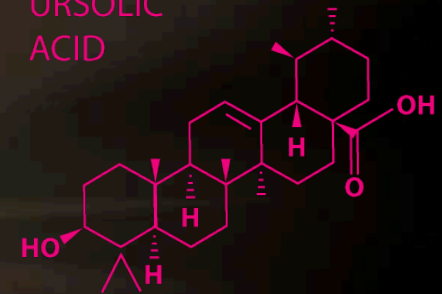


Extrait riche en acide ursolique

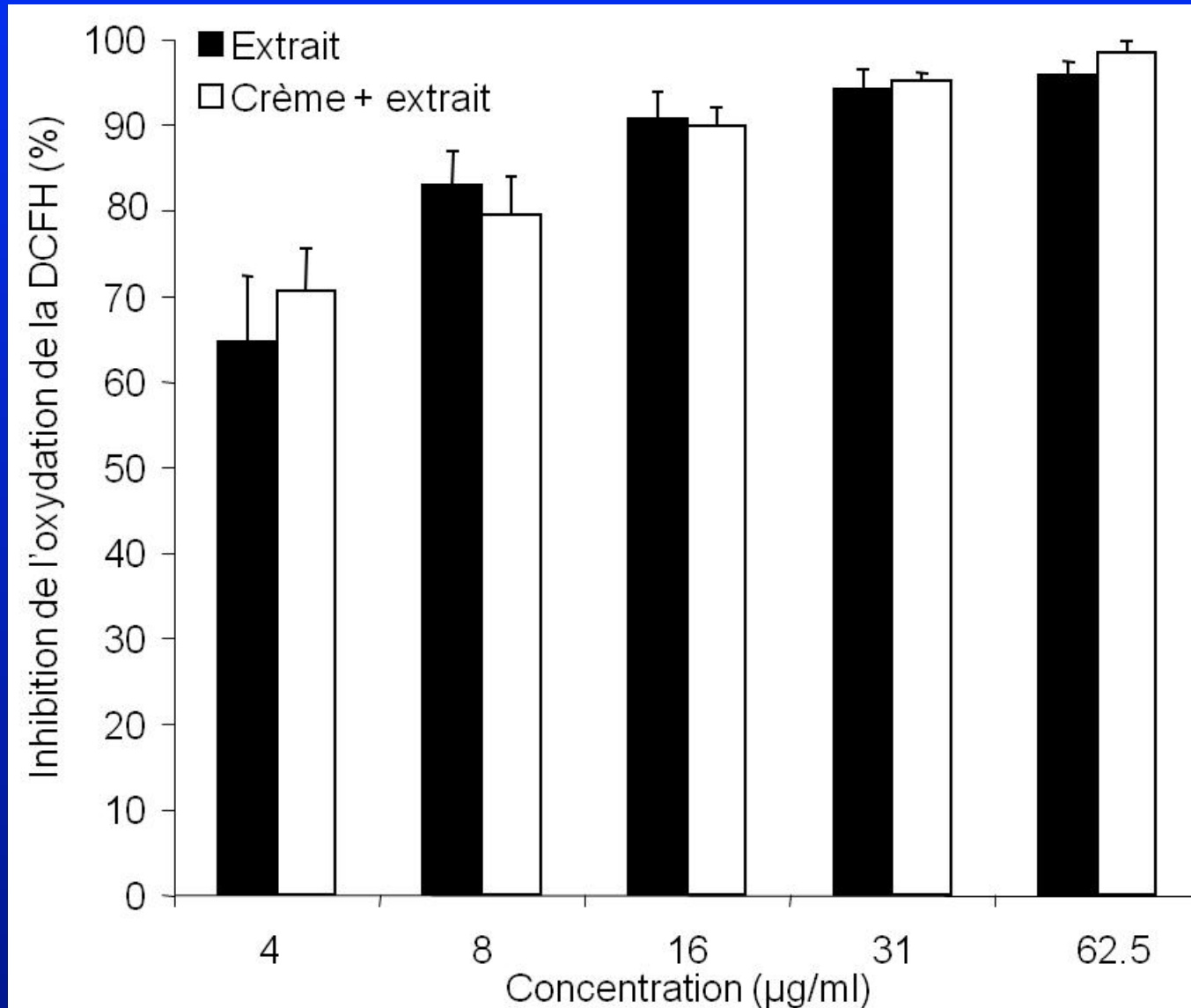
■ Propriétés anti-âge:

- Anti-inflammatoire
- Anti-élastase
- Anti-collagénase
- Stimule la production des ceramides

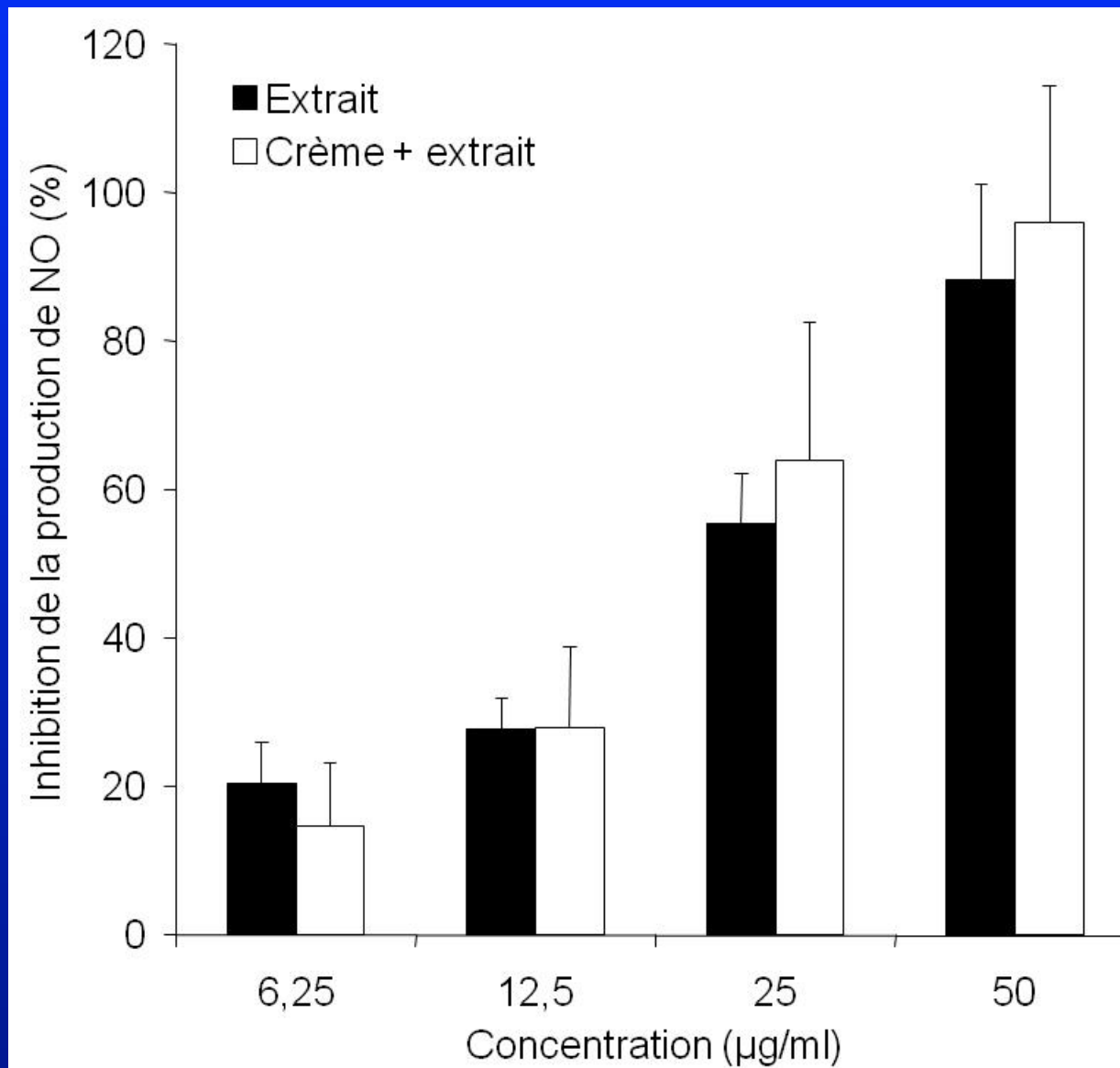
URSOLIC ACID



# Effet antioxydant de l'extrait sur des fibroblastes de peau humaine



# Effet anti-inflammatoire de l'extrait



# Conclusion-4 conditions cruciales

- En mesure d'évaluer l'activité biologique de matrices complexes.
- Trouver le coupable dans la matrice par fractionnement bio-guidé.
- Identifier la structure du composé responsable de l'activité biologique.
- Caractériser finement l'activité de l'extrait et des produits impliqués dans l'activité.



# Remerciements

, Balla Sylla, Marie-Anne Blackburn, Héloïse Côté, Marianne Piochon, Serge Lavoie, Philippe Plourde, Pierre-Yves Fleury, Michael Ouellet, Anne-Françoise Close, Éric Chiasson, Sylvain Mercier, Charles Gauthier, Doriane Avezard, Hubert Marceau, Alexis St-Gelais, Hassan Haffad, Vakhtang Mshvildadze, Hélène Gagnon, Carole Grenon, Simon Rondeau, Dominic Thibeault, Jimmy Bouchard, Philippe Dufour, Samuel Tremblay, Karl Girard-Lalancette, Cindy Tremblay, Catherine Dussault, Line Bouchard, Isabelle Côté.

# Remerciements

- UQAC, FQRNT, FCI, MEQ, FPL Pharma, UPA, FUQAC, INSERM, MRN, Scierie Thomas-Louis Tremblay, Consortium de recherche sur la forêt boréale commerciale, Développement économique Canada, Institut de recherche et de développement en agroenvironnement, Santé Canada et Centre d'études des procédés chimiques du Québec, Agriculture Canada, GR3MB.