

Activités antiplasmodiale et antioxydante des extraits de *Helichrysum gymnocephalum* (DC.) Humbert, (Asteraceae). Isolement de la cardamomin

Lalasoa R. RANARIVELO^{1*}, Faliarivony RANDRIAMIALINORO¹, Vahinalahaja Eliane RAZAFINTSALAMA¹, Stephan RAKOTONANDRASANA¹, Henintsoa RAKOTOARIVELO², Michel RATSIMBASON¹ et Sylvia Tiana RASOARIVELO RALAMBONIRINA¹

¹ Centre National d'Application de Recherches Pharmaceutiques, Rue R. P. Rahajarizafy A. de Padoue, Ambodivoanjo-Ambohitovo, BP 702, 101 Antananarivo, Madagascar

² Laboratoire de Chimie Organique, Spectrométrie de Masse, Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo, BP 906, 101 Antananarivo, Madagascar

* Correspondance, courriel : lrnarivelo@yahoo.com

Résumé

Ce travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation de l'extrait de dichlorométhane des parties aériennes de *Helichrysum gymnocephalum* de Madagascar en tant qu'antiplasmodial et antioxydant. Le screening phytochimique de cet extrait a révélé la présence des composés phénoliques et dérivés, qui sont représentés par des flavonoïdes dont les flavonols, des coumarines et des tanins condensés et des terpénoïdes dont les stéroïdes et les stérols insaturés. Les fractionnements guidés par l'activité antimalariale de l'extrait dichlorométhane ont conduit à l'isolement d'une chalcone, la cardamomin. Sa structure chimique a été établie par analyse en spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire mono et bidimensionnelle. L'activité antiplasmodiale a été mesurée in vitro contre *Plasmodium falciparum* FCM29, une souche résistante à la chloroquine. L'extrait dichlorométhane présente une activité antiplasmodiale avec une IC₅₀ égale à 29,67 µg / mL et la cardamomin une IC₅₀ à 43 µM. La méthode appliquée pour mesurer l'activité antioxydante est celle du piégeage des radicaux libres à l'aide du DPPH. L'extrait dichlorométhane réduit le DPPH à 95,21 % et la cardamomin à 52,89 %.

Mots-clés : *Helichrysum gymnocephalum*, Asteraceae, cardamomin, activité antiplasmodiale, activité antioxydante, résonance magnétique nucléaire.

Abstract

Antiplasmodial and antioxidant activities from extract of *Helichrysum gymnocephalum* (DC.) Humbert, (Asteraceae). Isolation of cardamomin

This work is part of the valuation of the dichloromethane extract of the aerial parts of *Helichrysum gymnocephalum* of Madagascar as antiplasmodial and antioxidant. Phytochemical screening of this extract showed the presence of phenolic compounds and derivatives, which are represented by flavonoids (flavonols), coumarins, condensed tannins and terpenoids including steroids and unsaturated sterols. Fractionations of the dichloromethane extract guided by antiplasmodial activity led to the isolation of a chalcone, cardamomin. Its chemical structure was established by mono and bidimensional Nuclear Magnetic Resonance analysis. The

antiplasmodial activity was measured *in vitro* against *Plasmodium falciparum* FCM29, a strain resistant to chloroquine. The dichloromethane extract showed an antiplasmodial activity with IC_{50} equal to 29.67 $\mu\text{g} / \text{mL}$ and cardamomin $IC_{50} = 43 \mu\text{M}$. The method used to measure the antioxidant activity were that of scavenging free radicals using the DPPH. The dichloromethane extract reduced DPPH to 95.21 % and cardamomin to 52.89 %.

Keywords : *Helichrysum gymnocephalum*, Asteraceae, cardamomin, antiplasmodial activity antioxydant activity, nuclear magnetic resonance.

1. Introduction

Les Asteraceae sont composées de plus de 22 700 espèces cosmopolites dans le monde [1]. A Madagascar, parmi les 540 espèces existantes, 88 % sont endémiques [2]. *Helichrysum*, un important genre de cette famille, comprend environ 600 espèces provenant des régions chaudes, en particulier en Europe et en Afrique [1]. A Madagascar, ce genre compte actuellement 112 espèces, toutes natives, dont 98,2 % sont propres à l'île [3] parmi laquelle figure *Helichrysum gymnocephalum* (DC.) Humbert. Cette plante est connue localement sous le nom de Rambiazinavavy. Selon la description de [4], c'est un arbuste pouvant atteindre jusqu'à 4 m de hauteur. Les rameaux ultimes sont couverts d'un tomentum aranéeux blanchâtre et très fin. Les feuilles sont lancéolées et longuement atténuées vers la base en pétioles courts, non ailées dans sa partie inférieure, couvertes sur les deux faces d'un tomentum aranéeux. Les fleurs sont petites et groupées en inflorescences composées. Les fruits sont des akènes papilleux. La floraison s'étale de Février à Mai. La plante pousse sur les sols ferrallitiques sur roches siliceuses de la région centrale de Madagascar, dans les formations végétales rocheuses et secondaires au-dessus de 800 m d'altitude. C'est une plante très utilisée localement. Les utilisations dans la littérature sont très diverses. On la trouve vendue chez les marchands de plantes médicinales [5, 6]. L'enquête menée par ces auteurs montre que la décoction des feuilles est fébrifuge et aphrodisiaque ; elle permet de soigner l'albumine, la toux. Elle permet également de traiter les maladies cardiaques et l'asphyxie. Elle est aussi réputée cicatrisante [5, 6].

Son huile essentielle est utilisée en aromathérapie pour ses vertus antimicrobienne [7], antalgique, anti-inflammatoire [8, 9]. Elle est utilisée en tant qu'expectorant et anti mucolytique [10]. Les travaux chimiques ont montré que l'huile essentielle contient du 1,8 -cinéole comme constituant majoritaire variant de 47,3 % à plus de 70 % [11, 12]. Les plantes médicinales sont des sources de molécules ayant des activités thérapeutiques et la découverte de la quinine et de l'artémisinine justifie l'utilisation empirique de leurs plantes contre la fièvre et le paludisme. Par ailleurs, Il a été montré que les plantes ayant une activité antioxydante peuvent diminuer l'infection paludéenne [13]. Chez l'animal, [14] ont prouvé que les antioxydants empêchent le développement des complications cérébrales provoquées par le paludisme. En 2011, [15] ont publié les activités cytotoxique, antimalariale et antioxydante de l'huile essentielle de *H. gymnocephalum*. Ils ont établi une corrélation entre l'activité biologique de l'huile essentielle et les constituants responsables de cette activité : β -sélinène, α -terpinolène and aromadendrene ont présenté une forte corrélation avec l'activité anticancéreuse. Calamenene ($R^2 = 0.70$) a montré une corrélation significative pour l'activité antiplasmodiale. Le présent travail repose encore sur la valorisation scientifique de la médecine traditionnelle et porte cette fois-ci sur l'évaluation des activités antimalariales et antioxydantes des extraits de *H. gymnocephalum* ainsi qu'à l'isolement et à la purification de la cardamomin. L'activité antioxydante a été abordée du fait de l'effet bénéfique des antioxydants sur le stress oxydatif induit chez les sujets infectés [13, 14].

2. Matériel et méthodes

2-1. Collecte et identification

Les parties aériennes de *Helichrysum gymnocephalum* ont été récoltées à Manjakandriana Antananarivo en Octobre 2014, dans le district de Manjakandriana, de la région Analamanga. Un herbier de référence sous le code HE1076 est déposé à l'Herbarium du CNARP.



Figure 1 : *Helichrysum gymnocephalum* photo : Rakotonandrasana, CNARP

2-2. Criblage phytochimique

Les criblages phytochimiques ont été réalisés pour détecter les familles de molécules présentes dans la plante [16]. Les méthodes sont basées sur l'utilisation des réactifs spécifiques pour chaque famille à détecter. Les réactions chimiques sont basées par la formation de complexes insolubles ou de complexes colorés à partir de poudre de plante ou d'extrait hydroéthanolique.

2-3. Préparation des extraits

Les parties aériennes de *H. gymnocephalum* ont été séchées, broyées puis macérées dans l'éthanol pendant 24 h à la température ambiante. Le filtrat est débarrassé du solvant par évaporation sous vide. L'extrait éthanolique brut est dissout dans le mélange méthanol / eau (60 / 40) puis soumis au partage liquide-liquide avec l'hexane. La solution méthanolique est débarrassée du méthanol par évaporation sous vide puis l'extrait sec est redissout dans l'eau et soumis à un fractionnement avec le dichlorométhane (5 fois). Les extraits hexanique, dichlorométhane et aqueux sont évaporés à sec.

2-4. Fractionnement et isolement

Les fractionnements de l'extrait dichlorométhane ont été effectués sur des colonnes chromatographiques en utilisant le gel de silice comme phase fixe et des solvants de polarités différentes comme phase mobile. La chromatographie sur couche mince (CCM) a été utilisée pour les suivis des fractionnements. La purification et l'isolement du produit ont été réalisés par chromatographie sur couche mince préparative (PTLC) d'épaisseur de phase 500 μm .

2-5. Analyses spectrales

Les analyses spectrales ont été réalisées au sein du Laboratoire de Pharmacognosie de l'Université Paris Descartes. Les spectres de RMN (¹H, ¹³C, COSY, COSY-LR, HMBC, HSQC) ont été enregistrés sur un appareil Bruker Avance 400 et les spectres de masse sur un appareil ZQ 2000 Waters à source d'électronébulisation Z-Spray (ESI-MS).

2-6. Analyses biologiques

2-6-1. Activité antimalariale

Cette étude est fondée sur la mesure de la fluorescence de la solution contenant le parasite *Plasmodium falciparum* par ajout d'un fluorophore, le SYBR Green I. Un mélange de 200 µL, composé de 100 µL de suspension de globules rouges infectés par la souche FCM29 de *P. falciparum* (1 % de parasitémie et 2 % d'hématocrite dans un milieu RPMI 1640 complété avec 20 % de sérum humain), de 50 µL du produit à tester dilué en série et de 50 µL de milieu non enrichi en sérum humain, est réparti dans une microplaque à 96 puits. La microplaque est ensuite incubée dans une atmosphère microaéroophile à 37°C pendant 72 h. Après incubation, un volume de 50 µL de solution de SYBR Green I (Microprobes, Oregon, États-Unis), dilué 20 fois dans un milieu supplémenté avec du sérum humain, est ajouté dans chaque puits. Les solutions résultantes sont mélangées et laissées au repos pendant 60 min à l'abri de la lumière à 37°C. La fluorescence est lue à deux longueurs d'ondes $\lambda_1 = 485$ nm, longueur d'onde d'excitation et $\lambda_2 = 518$ nm, longueur d'onde d'émission (Biotek - Lecteur de microplaques FLX800). Le taux de fluorescence est considéré comme proportionnel à la quantité de *P. falciparum* respective dans chaque puits. Les valeurs d'IC₅₀, les concentrations de médicaments qui réduisent de 50 % le taux de fluorescence, donc la croissance, sont ensuite déduites selon le calcul décrit par [17].

2-6-2. Activité antioxydante

- Méthode de DPPH

Le radical libre DPPH + est connu pour sa couleur violet-foncé et sa forte absorbance à 517 nm une fois dissous dans le méthanol. Un antioxydant aura la capacité de donner un électron singulet au radical DPPH + de couleur violette pour le stabiliser en DPPH de coloration jaune-verte. Ainsi, le pouvoir antioxydant des extraits de plantes est mis en évidence en suivant la disparition de la couleur violette, au cours du temps, d'une solution méthanolique contenant le radical libre DPPH +. La mesure de la décroissance de coloration se fait par la mesure de l'absorbance de la solution par spectrophotométrie. Cette activité est déterminée selon la méthode de [18]. 25 mg de DPPH sont dissous dans 100 mL de méthanol et gardés à -20 °C à l'abri de la lumière avant utilisation. Dans des tubes secs, 200 µL de la solution à tester sont introduits, puis 3800 µL de la solution de DPPH à 25 % sont ajoutés. Pour chaque concentration, un blanc constitué de 3800 µL de DPPH, additionné de 200 µL de méthanol est préparé. Après 30 min d'incubation à l'obscurité à la température ambiante, une mesure de l'absorbance à $\lambda = 517$ nm a été effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre. L'activité antioxydante qui exprime la capacité de piéger le radical libre est estimée par le pourcentage de décoloration du DPPH en solution dans le méthanol. Elle est donnée par la **Formule** suivante [19] :

$$\text{Pourcentage (\%)} d'Inhibition de DPPH = \left(\frac{Abs_{control} - Abs_{test}}{Abs_{control}} \right) \times 100 \quad (1)$$

où, Abs désigne l'absorbance à la longueur d'onde de $\lambda = 517$ nm.

Les résultats ont été exprimés par la moyenne de 3 mesures \pm écart type. Le pourcentage d'inhibition ainsi calculé a été comparé en utilisant deux courbes d'étalonnage de l' α - tocophérol des valeurs compris entre 6,25 μ M à 100 μ M et 150 μ M à 600 μ M.

3. Résultats et discussion

3-1. Rendement de l'extraction

120 g de poudre de plante (feuilles et tiges) ont donné 17,01 g d'extrait éthanolique soit un rendement de 14,2 %. Le fractionnement liquide-liquide de 5,69 g d'extrait éthanolique a donné 0,78 g d'extrait hexanique. 1,38 g d'extrait dichlorométhane (rendement = 24,3 %), indiquant une proportion significative de pigments apparentés à la chlorophylle, et 3,39 g d'extrait aqueux (rendement = 59,6 %).

3-2. Criblage phytochimique

Les résultats obtenus lors du screening phytochimique de *H. gymnocephalum* sont donnés dans le **Tableau 1**.

Tableau 1 : Résultats du criblage phytochimique des parties aériennes de *H. gymnocephalum*

Familles chimiques	Réactifs de caractérisation	Résultats
Composés phénoliques		
Coumarines	NaOH, lampe U.V. de λ 254 nm et 366 nm	+
Flavones	HCl, Mg	-
Flavonols	HCl, Mg, Alcool isoamylique	+++
Flavanones, flavanonols	HCl, Mg	-
Anthocyanes	HCl, NH ₄ OH	-
Leucoanthocyanes	HCl à chaud	-
Anthraquinones libres	Eau, Benzène, NH ₄ OH	-
Hétérosides anthracéniques	HCl, CHCl ₃ , NH ₄ OH	-
Tanins	NaCl, Gélatine	+++
Tanins condensés	FeCl ₃	+++
Tanins hydrolysables	FeCl ₃	-
Familles chimiques	Réactifs de caractérisation	Résultats
Composés phénoliques (suite)		
Polyphénols	Gélatine 1 %, H ₂ O NaCl	++
Phénols, flavanes	Vanilline chlorhydrique	+
Terpénoïdes		
Stérols insaturés	H ₂ SO ₄	+++
Stéroïdes lactoniques	Acide picrique, NaOH, Acide 3,5-dinitrobenzoïque, KOH	+++ +++
Stéroïdes	Anhydride acétique, H ₂ SO ₄	+++
Iridoïdes	HCl, Ethanol, Glycérol, CuSO ₄	-
Saponines	Hauteur mousse	-
Cardénolides	H ₃ PO ₄ , Acide trichloracétique, lampe U.V.	++
Hétérosides désoxy-2-sucre	FeCl ₃ , Acide acétique	-
Autres		
Alcaloïdes	KI, I ₂ , HgCl ₂ , Bi(NO ₃) ₃ , Acide tartrique	-
Hétérosides cyanogènes	CHCl ₃ , Picrate de sodium	-
Polysaccharides	Ethanol	-

- : test négatif : aucune réaction observée ;

+ : faible coloration ou formation de peu de précipité ;

++ : Coloration franche ou précipité abondante ou mousse abondante ;

+++ : Coloration intense ou floculation immédiate ou hauteur de mousse supérieure à 5 cm.

Ainsi, les métabolites secondaires détectés dans *Helichrysum gymnocephalum* comprennent :

- des composés phénoliques et dérivés, qui sont surtout représentés par des flavonoïdes dont les flavonols, des coumarines et des tanins condensés ;
- des terpénoïdes dont les stéroïdes et les stérols insaturés.

3-3. Fractionnement et isolement

Le fractionnement de 1 g d'extrait dichlorométhane de *H. gymnocephalum* sur colonne ouverte de gel de silice avec un gradient de CHCl_3 / EtOAc [98 : 2 à 93 : 7], puis 100 % EtOAc a permis d'obtenir 5 fractions numérotées DCL11 à DCL15. La fraction DCL12 (967,2 mg) a subi un deuxième fractionnement sur colonne ouverte de gel de silice avec un gradient de CHCl_3 / EtOAc de 99 : 1 à 100 % EtOAc pour donner 5 autres sous fractions notées DCL121 à DCL 125. Le produit DCL124b (21 mg) a été obtenu par chromatographie sur couche mince préparative de la fraction DCL 124 (56 mg), utilisant l'éluant CHCl_3 / MeOH [95 : 5].

3-4. Activités biologiques

3-4-1 Activité antiplasmodiale

L'extrait dichlorométhane présente une activité antiplasmodiale *in vitro* avec une IC_{50} égale à 29,67 $\mu\text{g} / \text{mL}$ et la cardamomin $\text{IC}_{50} = 43 \mu\text{M}$ contre *Plasmodium falciparum*, souche résistante à la chloroquine. Le produit de référence quinine a une $\text{IC}_{50} = 0,0037 \mu\text{M}$.

3-4-2 Activité antioxydante

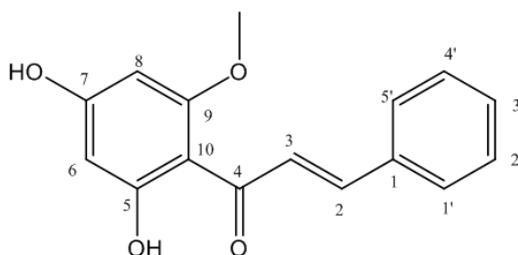
Tableau 2 : Activité antioxydante des extraits de *H. gymnocephalum* et du composé isolé DCL124b testés à 1mg / mL

Produit	% d'inhibition de DPPH	Equivalent α -Tocophérol ($\mu\text{M} / \text{mg} / \text{mL}$ d'extrait)
extrait brut éthanolique	95,21	556,63
extrait dichlorométhane	89,78	477,46
DCL124b (cardamomin)	52,89	59,16

Le **Tableau 2** indique que l'extrait brut éthanolique à 1 mg / mL, qui est équivalent en α -Tocophérol à 553 $\mu\text{M} / \text{mg} / \text{mL}$ d'extrait a réduit le DPPH à 95,21 % est doté d'une activité antioxydante très élevée. Le produit isolé cardamomin seul, à 1 mg / mL équivalent à 59,16 $\mu\text{M} / \text{mg} / \text{mL}$ de α -Tocophérol réduit le DPPH à 52,89 %. Cette forte activité de l'extrait brut peut être due aux composés phénoliques présents dans l'extrait brut éthanolique et confirmés lors du criblage phytochimique de *H. gymnocephalum* (**Tableau 1**). [20], ont suggéré que les composés polyphénoliques ont des effets inhibiteurs sur la mutagenèse et la cancérogenèse (des maladies dues aux radicaux libres) chez l'homme.

3-5. Détermination structurale du produit isolé DCL 124b

Le produit isolé a été soumis aux analyses RMN 1D et 2D dans MeOD et dans DMSO (1H, COSY, HSQCed, HMBC, RMN ¹³C), et en spectrométrie de masse. Son spectre RMN 1H montre des signaux à 6.02 ppm et 5.95 ppm avec $J = 2.1$ Hz qui sont caractéristiques des protons H-6 et H-8 d'un flavonoïde. On remarque les signaux à 7.94 ppm et 7.71 ppm avec $J = 15.6$ Hz caractéristiques de deux protons éthyléniques voisins (confirmés par leurs corrélations COSY). Ces protons éthyléniques sont enchaînés avec un C = O (à 192,3 ppm) d'après le spectre HMBC. Les multiplets entre 7,4 ppm et 7,7 ppm correspondent aux protons d'un cycle aromatique. La position du méthoxyle est obtenue grâce à la corrélation HMBC du CH3 avec le carbone à 163,4 ppm (C-9). L'ensemble de ces données permet d'écrire la structure de la chalcone suivante : [1 - (2,4-dihydroxy-6-methoxyphenyl)-3-phenylprop-2-en-1-one]. Il s'agit d'une chalcone connue appelée aussi cardamomin.



3-5-1. Relevés spectraux du produit isolé cardamomin

ESI+ / MS : m/z 293 [M + Na]⁺, M = 270 g / mol, C₁₆H₁₄O₄ ; 1H NMR (400 MHz, MeOD) δ ppm 7.94 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H, H-2), 7.71 (d, $J = 15.7$ Hz, 1H, H-3), 7.68 - 7.63 (m, 2H, H-1' et H-5'), 7.43 (m, 3H, H-2', H-3' et H-4'), 6.02 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H, H-8), 5.95 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, H-6), 3.95 (s, 3H, O-CH₃). 1H NMR (400 MHz, DMSO) δ ppm 7.84 (d, $J = 15.7$ Hz, 1H, H-2), 7.71 (dd, $J = 7.5, 1.7$ Hz, 2H, H-1' et H-5'), 7.65 (d, $J = 15.7$ Hz, 1H, H-3), 7.51 - 7.39 (m, 3H, H-2', H-3' et H-4'), 6.01 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H, H-8), 5.91 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H, H-6), 3.87 (s, 3H, O-CH₃). ¹³C NMR (75 MHz, MeOD) δ ppm 192.3 (C-4), 163.4 (C-9), 141.3 (C-3), 135.6 (C-1), 129.7 (C-1', C-5'), 128.6 (C-2', C-4'), 127.9 (C-3'), 127.5 (C-2), 95.8 (C-6), 91.30 (C-8), 54.9 (O-CH₃).

3-6. Discussion

L'activité antiplasmodiale est vérifiée scientifiquement dans cette plante car l'extrait de dichlorométhane ($IC_{50} = 29,67 \mu\text{g} / \text{mL}$), la cardamomin isolé ($IC_{50} = 43 \mu\text{M}$) présentent des activités antiplasmodiales *in vitro* contre *Plasmodium falciparum* FCM29, souche résistante à la chloroquine. Le produit de référence quinine a une $IC_{50} = 0,0037 \mu\text{M}$. Les composés phénoliques dont les flavonoïdes sont couramment rencontrés chez les plantes du genre *Helichrysum*. *H. arenarium* contient par exemple plus d'une dizaine de séries de flavonoïdes [21, 22]. *H. pamphylicum* contient des flavonoïdes à potentialité anticancéreuse [23]. Ainsi, à part le fait que ce genre végétal soit connu pour les huiles essentielles [15, 24], les flavonoïdes peuvent aussi être considérés comme leurs marqueurs chimiotaxonomiques. Ce travail est le premier rapport sur l'isolement de la chalcone cardamomin dans *H. gymnocephalum*. Elle a été isolée pour la première fois dans les graines de *Amomum subulatum* par [25]. Cardamomin a été isolée et représente le constituant majeur dans des plantes de la famille Zingiberaceae, notamment du genre *Alpinia* [26, 27], mais aussi dans *Boesenbergia* [28, 29] et *Syzygium samarangense* (Bloom) de la famille des Myrtaceae [30]. L'activité antioxydante que nous avons détectée de *H. gymnocephalum* peut être reliée avec sa richesse en composés phénoliques, dont les flavonoïdes. En effet, plusieurs recherches ont montré que ce genre végétal est connu pour cette activité

biologique [31, 32]. L'étude de l'activité antioxydante que nous avons effectuée a montré que l'activité de la cardamomin représente plus de la moitié de l'activité de l'extrait brut. Ce résultat est conforme aux données de la littérature sur cette molécule, en effet, elle est connue pour ses propriétés antioxydantes et anticancéreuses [27, 31 - 33].

4. Conclusion

Cette étude sur *H. gymnocephalum* (Asteraceae) endémique de Madagascar porte sur l'étude chimique de ses extraits. Le screening phytochimique a révélé la présence des composés phénoliques tels que des flavonoïdes en particulier des flavonols, des coumarines et des tanins condensés, mais également des terpénoïdes dont les stéroïdes et les stérols insaturés. L'extraction du broyat de la partie aérienne de la plante, suivie du fractionnement et de la purification de l'extrait dichlorométhane par diverses techniques chromatographiques ont conduit à l'isolement de la cardamomin. Le profil chimique du produit isolé, obtenu par analyses spectrales est en accord avec les résultats du criblage phytochimique. L'extrait de dichlorométhane et la cardamomin présentent des activités antiplasmodiales *in vitro* contre *Plasmodium falciparum* FCM29, souche résistante à la chloroquine avec respectivement $IC_{50} = 29,67 \mu\text{g} / \text{mL}$ et $IC_{50} = 43 \mu\text{M}$, celle de la quinine étant de $0,0037 \mu\text{M}$). Par la méthode DPPH, l'analyse des activités antioxydantes a montré la potentialité de l'extrait brut éthanolique, avec une valeur importante car il réduit le DPPH à 95,21 % et la cardamomin seule, le réduit à 52,89 %. La valorisation scientifique de la médecine traditionnelle doit aboutir notamment à la mise au point de médicaments à base de plantes. L'ensemble de ces résultats ouvre des perspectives sur la valorisation de cette plante, déjà utilisée localement pour ses vertus médicamenteuses, par la mise au point de phytomédicaments. Il s'ensuit des tests *in vivo*, sur les animaux afin de déterminer la toxicité, les doses efficaces, etc.

Remerciements

Nous adressons nos sincères remerciements, au Laboratoire de Pharmacognosie de l'Université Paris Descartes, au Docteur Raphaël GROUGNET pour les analyses spectrales du produit isolé, à l'Ambassade de France à Madagascar pour l'octroi des bourses aux chercheurs du CNARP.

Références

- [1] - D. J. MABBERLEY, The plant book. A portable dictionary of the plants. 2nd edition. Cambridge University Press, Cambridge, (2000).
- [2] - M. W. CALLMANDER, P. B. PHILLIPSON, G. E. SCHATZ, S. ANDRIAMBOLOLONERA, M. RABARIMANARIVO, N. RAKOTONIRINA, J. RAHARIMAMPIONONA, C. CHATELAIN, L. GAUTIER and P. P II LOWRY, The endemic and non-endemic vascular flora of Madagascar updated. *Plant Ecology and Evolution*, 144 (2) (2011) 121 - 125.
- [3] - L. GAUTIER, C. CHATELAIN, M. W. CALLMANDER and P. B. PHILLIPSON, Richness, similarity and specificity of Madagascar flora compared with Sub-Saharan Africa. *Plant Ecology and Evolution*, 145 (1) (2013) 55 - 64.
- [4] - H. HUMBERT, Compositae. Flore de Madagascar et des Comores. Tome II, (1962) 340 - 619.

- [5] - R. MIARISOA, Inventaire des plantes médicinales des forêts aux alentours des zones de conservation du projet Ambatovy en vue de leurs valorisations. Mémoire de fin d'études, Université d'Antananarivo, ESSA/Forêt, (2012).
- [6] - M. N. RANDRIAMIHARISOA, A. R. KUHLMAN, V. JEANNODA, H. RABARISON, N. RAKOTOARIVELO, T. RANDRIANARIVONY, F. RAKOTOARIVONY, A. RANDRIANASOLO and R. W. BUSSMANN, Medicinal plants sold in the markets of Antananarivo, Madagascar. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, (2012), DOI 10.1186/s13002-015-0046.
- [7] - A. R. P. RAMANOELINA, G. P. TERROM, J. P. BIANCHINI et P. COULANGES. Contribution à l'étude de l'action antibactérienne de quelques huiles essentielles extraites de plantes malgaches. *Arch. Inst. Pasteur Madagascar*, 53(1)(1987) 217 - 226.
- [8] - F. RAZAFINDRAKOTO, Elaboration et formulations des HE et extraits aromatiques dans des produits cosmétiques à vertus : anti-âge. http://www.univ-antananarivo.mg/IMG/pdf/razafindrakoto_fanoina_master2.pdf, consulté le 28 Avril 2016
- [9] - <https://sites.google.com/site/lemuressens/huile-essentielle-helichryse-helichrysum-gymnocephalum> consulté le 28 Avril 2016
- [10] - S. LEMESLE, Huiles essentielles et eaux florales de Madagascar : Guide pratique d'une aromathérapie innovante. Imp. Sologne Graphic, LamotteBeuvron, (2011), ISBN : 978-2-7466-5697-2.
- [11] - S. MÖLLENBECK, T. KÖNIG, P. SCHREIER, W. SCHWAB, J. RAJAONARIVONY and L. RANARIVELO, Chemical Composition and Analyses of Enantiomers of Essential Oils from Madagascar. *Flavour and Fragrance Journal*, 12 (2) (1997) 63 - 69.
- [12] - J. F. CAVALLI, L. RANARIVELO, M. RATSIMBASON, F. BERNARDINI and J. CASANOVA, Constituents of the essential oil of six *Helichrysum* species from Madagascar. *Flavour and Fragrance Journal*, 16 (4) (2001) 253 - 256.
- [13] - P. A. TARKANG, A. P. N. ATCHAN, J. R. KUIATE, F. A. OKALEBO, A. N. GUANTAI and G. A. AGBOR, Antioxidant Potential of a Polyherbal Antimalarial as an Indicator of Its Therapeutic Value. *Advances in Pharmacological Sciences*. Article ID 678458, (2013) 9 pages.
- [14] - P. A. REIS, C. M. COMIM, F. HERMANI, B. SILVA, et al., Cognitive dysfunction is sustained after rescue therapy in experimental cerebral malaria, and is reduced by additive antioxidant therapy. *PLoS Pathogens*, 6 (6) (2010), Article ID e1000963.
- [15] - S. AFOULOUS, H. FERHOUT, E. G. RAOELISON, A. VALENTIN, B. MOUKARZEL, F. COUDERC and J. BOUJILA. *Helichrysum gymnocephalum* Essential Oil : Chemical Composition and Cytotoxic, Antimalarial and Antioxidant Activities, Attribution of the Activity Origin by Correlations. *Molecules*, 16 (2011) 8273 - 8291.
- [16] - J. J. BRUNETON. Pharmacognosie, Phytochimie. Plantes médicinales. 2^{ème} édition. Paris, Lavoisier. Technique-Documentation, (1993).
- [17] - T. N. BENNETT, M. PAGUIO, B. GLIGORIJEVIC, C. SEUDIEU, A. D. KOSAR, E. DAVIDSON, and P. D. ROEPE. Novel, Rapid, and Inexpensive Cell-Based Quantification of Antimalarial Drug Efficacy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48 (5) (2004) 1807 - 1810.
- [18] - J. M. AWIKA, Screening method to measure antioxidant activity of sorghum (*Sorghum bicolor*) and Sorghum products. *J. Agric. Food Chem.*, 51 (2003) 6657 - 6662.
- [19] - M. K. YOO, H. C. LEE, B. K. MOON, Y. C. LEE, Relative antioxidant and cytoprotective activities of common herbs. *Food Chemistry*, 106 (2008) 929 - 936.
- [20] - M. TANAKA, C. W. KUEI, Y. NAGASHIMA, T. TAGUCHI, Application of antioxidative of antioxidative maillard reaction products from histidine and glucose to sardine products. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 54 (1998) 1409 - 1414.
- [21] - A. K. SAWILSKA, S. MIELCEREK, The content of flavonoids and polyphenolic acids in inflorescences of Sandy Everlasting [*Helichrysum arenarium*(L.) Moench] from natural stands and plantations. *Herba Polonica*, 55 (3) (2009) 118 - 126.

- [22] - M. BRYKSA-GODZISZ, Z. WEGLARZ, V. PRZYBYL, Phenolic compounds in yellow everlasting (*Helichrysum arenarium*) growing wild in the middle part of the Bug river valley. *Herba Polonica*, 52 (4) (2006) 26 - 31.
- [23] - Z. TOPCU, B. OZTURK, O. KUCUKOGLU and E. KILINC, Flavonoids in *Helichrysum pamphylicum* Inhibit Mammalian Type I DNA Topoisomerase. *Z. Naturforsch.*, 63c (2008) 69 - 74.
- [24] - C. BOUGATSOS, O. NGASSAPA, D. K. B. RUNYORO, and I. B. CHINO, Chemical Composition and *in vitro* Antimicrobial Activity of the Essential oils of two *Helichrysum* Species from Tanzania. *Z. Naturforsch.*, 59c (2004) 368 - 372.
- [25] - R. C. BHEEMASANKARA, R.T. NAMOSIVA, S. SURYAPRAKASAM, Cardamomin and alpinetin from the seeds of *Amomum subulatum*. *Planta Medica*, 29 (4) (1976) 391 - 392.
- [26] - Le H. TRAM, P. M. GIANG, P. T. SON, Further study on chemical constituents and biological activities of *Alpinia conchigera* Griff. (Zingiberaceae). *Journal of Chemistry*, 45 (2) (2007) 260 - 264.
- [27] - X. XIAO, X. SI, X. TONG, G. LI. Preparation of flavonoids and diarylheptanoid from *Alpinia katsumadai hayata* by microwave-assisted extraction and high-speed counter-current chromatography. *Separation and Purification Technology*, 81 (2011) 265 - 269.
- [28] - A. A. G. R. YADNYA-PUTRA, A. CHAHYADI and ELFAHMI, Production of Panduratin A, Cardamomin and Sitosterol Using Cell Cultures of Fingerroot (*Boesenbergiapandurata* (Roxb.) Schlechter). *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 11 (1) (2014) 43 - 52.
- [29] - A. Y. L. CHING, T. S. WAH, M. A. SUKARI, G. E. C. LIAN, M. RAHMANI and K. KHALID, Characterization of flavonoid derivatives from *Boesenbergia rotunda* (L.). *The Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 11 (1) (2007) 154 - 159.
- [30] - M. J. SIMIRGIOTIS, S. ADACHI, S. TO, H. YANG, K. A. REYNERTSON, M. J. BASILE, R. R. GIL, I. B. WEINSTEIN and E. J. KENNELLY. Cytotoxic chalcones and antioxidants from the fruits of a *Syzygiums amarangense* (Wax Jambu). *Food Chem.*, 107 (2) (2008) 813 - 819.
- [31] - S. C. GOUVEIA-FIGUEIRA, C. A. GOUVEIA, M. J. CARVALHO, A. I. RODRIGUES, M. L. NORDING and P. C. CASTILHO, Antioxidant Capacity, Cytotoxicity and Antimycobacterial ; Activity of Madeira Archipelago Endemic *Helichrysum* Dietary and Medicinal Plants. *Antioxidants*, 3 (2014) 713 - 729.
- [32] - S. ALBAYRAK, A. AKSOY, O. SAĞDIC, U. BUDAK, Phenolic compounds and antioxidant and antimicrobial properties of *Helichrysum* species collected from eastern Anatolia, Turkey. *Turk. J. Biol.*, 34 (2010) 463 - 473.
- [33] - H.T. LÜ, Y.L. ZOU, R. DENG and H. SHAN. Extraction, Purification and Antiradical Activities of Alpinetin and Cardamomin from *Alpinia katsumadai* Hayata. *Asian Journal of Chemistry*, 25 (17) (2013) 9503 - 9507.