

BURKINA FASO



UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU



UNITÉ DE FORMATION ET DE RECHERCHE EN SCIENCES DE LA SANTE
(UFR/SDS)



SECTION PHARMACIE



ANNÉE UNIVERSITAIRE 2011-2012

THESE N° 121

**ETUDE DES PROPRIETES ANTIRADICALAIRE ET
ANTIPROLIFERATIVE D' EXTRAITS DE FEUILLES ET DE RAMEAUX
DE *SALVADORA PERSICA* L. (SALVADORACEAE)**

THESE

Présentée et soutenue publiquement le **19 juillet 2012** pour l'obtention du grade de
DOCTEUR EN PHARMACIE (Diplôme d'état)

Par

Mohamed Yacine Martial CONGO

(Né le 08 janvier 1982 à Ouagadougou)

Jury

Directeur de thèse :

Pr Jean Baptiste NIKIEMA

Co Directeurs :

Pr Jacques SIMPORE

Dr Charlemagne GNOULA

Président du jury: Pr Ag. T. Issa SOME

Membres du jury : Dr Marius LOMPO

Dr Charlemagne GNOULA

Dr Estelle N. Hoho YOUL

**LISTE DES RESPONSABLES
ADMINISTRATIFS ET DES
ENSEIGNANTS DE L'UFR/SDS ANNÉE
ACADÉMIQUE 2011-2012**

DEDICACES

*Etude des propriétés antiradicalaire et antiproliférative d'extraits de feuilles et de rameaux
de *Salvadora persica* L.*

Je dédie ce travail,

A tous les malades du cancer.

Puisse ce travail contribuer a améliorer votre état de santé!

A ma mère Géralde Blandine (in mémorium)

Maman ce document est entièrement dédié à ta mémoire !

Il est l'accomplissement de toutes tes souffrances,

J'espère que de ta demeure tu continue à me protéger

Soit toujours fière de moi. Merci. Repose en paix.

A mon père Moussa Edouard. Merci papa !

L'éducation et la réussite de tes enfants ont toujours été une préoccupation pour toi, voici le fruit de ton soutien permanent. Je ne cesserais jamais de remercier les cieux pour m'avoir donné un père comme toi. Puisse Dieu te protéger et te maintenir sur la voie du salut.

A ma tante Lucie

Tu es une deuxième mère pour moi. Merci pour toutes les prières et tous les sacrifices consentis, a attendre pendant longtemps la fin de cette « étude qui ne finissait pas ». Que DIEU puisse te donner longue vie afin d'en profiter.

A mes frères et sœurs : Dr. CONGO Désire ; Aristide ; Gaël ; Inès ; Marie ange ; Uriel

Merci pour votre soutien moral, votre affection. Puisse le fruit de ces études nous réunir à jamais.

A mes oncles, mes tantes, mes cousins et cousines

Recevez ici toute ma gratitude.

A toute la grande famille CONGO

Puissions nous resté toujours unis.

*Etude des propriétés antiradicalaire et antiproliférative d'extraits de feuilles et de rameaux
de *Salvadora persica* L.*

A mes “potos” du groupe de rap “TOTEM” : Inoussa “Black” et Amado “Bado”

La musique a été pour moi une source d'inspiration et une arme redoutable pour surmonter mes moments difficiles. Merci de m'avoir toujours accepté à vos cotés.

A tous mes promotionnaires

Pour toutes ces belles années passées ensemble au cours de notre formation. Plein de succès dans vos carrières.

A tous mes formateurs, mes camarades et mes élèves du “Taekwondo center”

A mes amis et compagnons de “boileau”: Tondé (interne des hopitaux), Hetié, Kodjo, Dr. Guigmdé Raogo, Dr. Sawadogo Serges, Dr. Bidiga Ismael.

A ma bien aimée.

Ton amour et ta tendresse m'ont permis d'être heureux.

REMERCIEMENTS

*Etude des propriétés antiradicalaire et antiproliférative d'extraits de feuilles et de rameaux
de *Salvadora persica* L.*

Nos sincères remerciements à tous ceux qui, d'une manière ou d'une autre ont contribué à la réalisation de ce travail, et en particulier :

A tous mes enseignants de l'école et du lycée : merci pour les rudiments mathématiques, sciences de la vie et de la terre, physique chimie et grammaire.

A tous mes enseignants de l'UFR/SDS et à tous mes Maîtres de stages : merci pour les enseignements reçus, profondes reconnaissances.

A notre Maître et Directeur de thèse le Professeur Jean Baptiste NIKIEMA

Cher Maître, nous ne cesserons jamais de vous remercier pour avoir initié cette étude. Votre prodigieux esprit de chercheur, votre rigueur scientifique et votre amour pour l'excellence, font de vous un Grand Maître de notre Université.

A notre Maître et Co-directeur de thèse le Professeur Jacques SIMPORE

Cher Maître, nous ne cesserons jamais de vous remercier pour avoir initié cette étude. C'est une grande fierté pour nous d'avoir réalisé notre étude au CERBA.

A notre Maître et Co-directeur Dr. Charlemagne GNOULA,

Pour m'avoir si bien encadré lors de ce travail. Sincères remerciements pour les encouragements, les conseils et les suggestions dont j'ai bénéficié pour la réalisation de cette étude.

Aux étudiants thésards de Dr. GNOULA : Tondé, Hetie, Bayala, Nathalie Vous avez facilité la collecte de mes données. Merci pour tout !

Aux : Dr. FOFANA Souleymane, Dr. KIHINDO Aziz, Dr. NGUESSAN Saya. Merci pour vos soutiens multiformes.

A Mohamed (à Oursy) : Tu as été indispensable dans la récolte de ma plante.

*Etude des propriétés antiradicalaire et antiproliférative d'extraits de feuilles et de rameaux
de *Salvadora persica* L.*

Le corps professoral de l'UFR/SDS

Merci pour les enseignements et la formation reçus, profonde reconnaissance.

Au Dr Souleymane GANABA

Pour m'avoir orienté dans la recherche et la récolte du matériel végétal

Au Pr Eloi PALE

Pour m'avoir accueilli dans son laboratoire pour la lyophilisation de mes extraits,

J'exprime mes plus sincères remerciements et ma profonde gratitude à :

Docteur Karim KABORE et au personnel de la pharmacie NOOM WENDE.

Docteur Kadi TRAORE et au personnel du laboratoire d'analyse biologique sainte Elisabeth,

A tout le personnel du CERBA

Que tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué directement ou indirectement à la réalisation de ce modeste travail, trouvent ici nos sentiments de profonde gratitude et de reconnaissance infinie.

Très chaleureusement!

**A NOS MAITRES ET
JUGES**

A notre Maître et Président du jury :

Le professeur Issa Touridomon SOME,

Professeur agrégé de Chimie analytique à l'UFR/SDS

Honorable maître, nous sommes comblés de l'immense honneur que vous nous faites en acceptant de présider ce jury malgré vos lourdes responsabilités.

Votre disponibilité, vos qualités intellectuelles, d'homme de rigueur et de discipline dans le travail forcent notre admiration.

Recevez cher Maître l'expression de notre profonde gratitude.

A Notre Maître et Juge

Le Docteur Marius LOMPO,

Maître de Recherche de pharmacologie à l'IRSS

Enseignant vacataire en pharmacologie à l'UFR/SDS

Honorable maître, la spontanéité avec laquelle vous avez accepté de juger ce travail malgré vos occupations, nous reconforte à plus d'un égard.

Vos connaissances scientifiques et votre ardeur au travail forcent notre admiration. Trouvez ici l'expression de notre gratitude et de notre profond respect.

**A Notre Maître et Codirecteur de thèse
Le Docteur Charlemagne GNOULA
Maitre-assistant en Chimie thérapeutique à l'UFR/SDS
Chercheur au CERBA**

Honorable Maître, nous avons beaucoup de chance d'être votre élève. Dieu merci que vous soyez rentrés de vos études ! Cher maître, vous avez initié ce travail ; votre disponibilité et votre attachement au travail bien fait sont autant de qualités qui ont facilité la réalisation de ce travail. Votre rigueur scientifique et votre humanisme n'ont d'égal que votre générosité et votre modestie. Nous avons été marqués par vos qualités exceptionnelles de bon pédagogue et d'encadreur qui sait vite déceler les moments difficiles du travail et motiver l'étudiant. Nous vous en sommes infiniment reconnaissants. Puisse ce travail être à la hauteur de vos attentes. Tous nos vœux de succès et de prospérité dans votre carrière d'enseignant. Veuillez recevoir ici, cher Maître, l'expression de notre considération distinguée.

**A notre Maître et juge :
Le Docteur Estelle Noëla Hoho YOUL,
Assistant en Pharmacologie à l'UFR/SDS**

Honorable Maître, nous sommes très comblés par l'honneur que vous nous faites en acceptant de participer à l'amélioration de ce travail. Nous avons été très touchés par votre constante disponibilité, votre approche facile, votre esprit scientifique et par votre attention malgré vos multiples occupations. Trouvez ici cher Maître, l'expression de notre grand respect et de notre profonde gratitude.

"Par délibération, l'UFR/SDS a arrêté
que les opinions émises dans les
dissertations qui seront présentées
doivent être considérées comme propres
à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur
donner aucune approbation ni
improbation."

SIGLES

ET

ABREVIATIONS

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

ADN : Acide Désoxyribo-Nucléique

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

ARN : Acide Ribo-Nucléique

AINS : Anti Inflammatoire Non Stéroïdien

CHU-YO : Centre Hospitalier Universitaire Yalgado Ouédraogo

CCM : Chromatographie sur Couche Mince

CERBA : Centre de Recherche en Biologie Moléculaire Pietro Annigoni

cm: centimètre

°C : degré Celsius

DCM : Dichlorométhane

DPPH : Diphényl Picryl-Hydrazyl

DMSO : Diméthyl Sulfoxide

DMEM : Duplecco's Modified Eagle's Medium

DPF : Département Productions Forestières

ERO : Espèce Réactive de l'Oxygène

FBS : Foetal Bovine Serum

FAS : Fatty Acid Synthase

IARC : Institut Américain de Recherche sur le Cancer

IC₅₀ : Inhibitor Concentration 50

LDL:Low Density Lipoproteins

Log [Conc] : Logarithme de la concentration

*Etude des propriétés antiradicalaire et antiproliférative d'extraits de feuilles et de rameaux
de *Salvadora persica* L.*

mL: millilitre

m: mètre

m²: mètre carré

mm: millimètre

MeOH: Méthanol

MTT: Mitochondrial Tetrazolium Test

NCI : National Cancer Institute

nm: nanomètre

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

ORL : Oto-Rhino-Laryngologie

% : Pourcentage

PBS : Phosphate Buffered saline Solution

SDO : Superoxyde dismutase

SEM : Standard Error of Mean

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

V/V : Volume/ Volume

m/V: masse/ Volume

UFR/SEA : Unité de Formation et de Recherche en Sciences Exactes et Appliquées

UFR/SDS : Unité de Formation et de Recherche en Sciences de la Santé

µg : microgramme

µL : microlitre

UV : Ultra-Violet

LISTE DES TABLEAUX

&

FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Composition du mélange réactionnel du test de réduction du DPPH.....	42
Tableau II: Rendement d'extraction de la poudre de drogue de feuilles et rameaux.....	47
Tableaux III: Familles chimiques mises en évidence dans les différents extraits.....	48
Tableau IV: Tableau récapitulatif des effets antiradicalaires des extraits de poudres des feuilles de <i>Salvadora persica</i>	54
Tableau V: Tableau récapitulatif des effets antiradicalaires des extraits de poudres des rameaux de <i>Salvadora persica</i>	55
Tableau VI: Valeurs des IC ₅₀ (en µg/mL) des extraits de feuilles et rameaux déterminées par MTT après évaluation de l'effet de ces substances sur la croissance globale des cellules cancéreuse du colon LoVo.....	61
Tableau VII: Valeurs des IC ₅₀ (en µg/mL) des extraits de feuilles et rameaux déterminées par MTT après évaluation de l'effet de ces substances sur la croissance globale des cellules cancéreuse du colon A549.....	66
Tableau VIII: Valeurs des IC ₅₀ (en µg/mL) des extraits de feuilles et rameaux déterminées par MTT après évaluation de l'effet de ces substances sur la croissance globale des cellules cancéreuse du colon MCF-7.....	70
Tableau IX: Valeurs de IC ₅₀ (en µg/mL) du paclitaxel et de l'étoposide déterminées par MTT après évaluation de l'effet de ces substances sur la croissance globale des cellules cancéreuse des poumons A549; des seins MCF-7 et du colon LoVo.....	70

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Les étapes de formation du cancer.....	7
Figure 2: Structure générale des alcaloïdes de la pervenche de Madagascar.....	15
Figure 3: Structure du paclitaxel.....	16
Figure 4: Structure de la carboplatine.....	17
Figure 5: Structure du méthotrexate.....	18
Figure 6 : Photographie des fruits de <i>Salvadora persica</i> (Salvadoraceae).....	26
Figure 7 : Photographie des feuilles de <i>Salvadora persica</i> (Salvadoraceae).....	26
Figure 8 : Extraction par des solvants de polarité croissante de la poudre de feuilles et de rameaux de <i>S.persica</i>	37
Figure 9 : Photo du lyophilisateur utilisé pour sécher les extraits aqueux de <i>S.persica</i>	38
Figure 10 : Photo du Rotavapor utilisé pour concentrer sous vide les extraits de <i>S.persica</i> ..	38
Figure 11 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.....	42
Figure 12 : Illustration d'une plaque 96 puits dans laquelle un test colorimétrique MTT a été réalisé.....	45
Figure 13 : Courbe représentant l'effet antiradicalaire de l'extrait aqueux des rameaux de <i>Salvadora persica</i>	50
Figure 14 : Courbe représentant l'effet antiradicalaire de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Salvadora persica</i>	50
Figure 15 : Courbe représentant l'effet antiradicalaire de l'extrait DCM des feuilles de <i>Salvadora persica</i>	51
Figure 16 : Courbe représentant l'effet antiradicalaire de l'extrait DCM /MeOH des feuilles de <i>Salvadora persica</i>	51
Figure 17 : Courbe représentant l'effet antiradicalaire de l'extrait DCM des rameaux de <i>Salvadora persica</i>	52

***Etude des propriétés antiradicalaire et antiproliférative d'extraits de feuilles et de rameaux
de *Salvadora persica* L.***

Figure 18 : Courbe représentant l'effet antiradicalaire de l'extrait MeOH des feuilles de <i>Salvadora persica</i>	52
Figure 19 : Courbe représentant l'effet antiradicalaire de l'extrait MeOH des rameaux de <i>Salvadora persica</i>	53
Figure 20 : Courbe représentant l'effet antiradicalaire de la quercétine utilisée comme référence.....	53
Figure 21 : Courbe montrant l'inhibition de la prolifération cellulaire globale de l'extrait aqueux de feuilles sur les cellules de la lignée LoVo.....	56
Figure 22 : Courbe montrant l'inhibition de la prolifération cellulaire globale de l'extrait DCM de feuilles sur les cellules de la lignée LoVo.....	57
Figure 23 : Courbe montrant l'inhibition de la prolifération cellulaire globale de l'extrait DCM/MeOH de feuilles sur les cellules de la lignée LoVo.....	57
Figure 24 : Courbe montrant l'inhibition de la prolifération cellulaire globale de l'extrait Ether de pétrole de feuilles sur les cellules de la lignée LoVo.....	58
Figure 25 : Courbe montrant l'inhibition de la prolifération cellulaire globale de l'extrait MeOH de feuilles sur les cellules de la lignée LoVo.....	58
Figure 26 : Courbe montrant l'inhibition de la prolifération cellulaire globale de l'extrait aqueux de rameaux sur les cellules de la lignée LoVo.....	59
Figure 27 : Courbe montrant l'inhibition de la prolifération cellulaire globale de l'extrait DCM de rameaux sur les cellules de la lignée LoVo.....	59
Figure 28 : Courbe montrant l'inhibition de la prolifération cellulaire globale de l'extrait Ether de pétrole de rameaux sur les cellules de la lignée LoVo.....	60
Figure 29 : Courbe montrant l'inhibition de la prolifération cellulaire globale de l'extrait MeOH de rameaux sur les cellules de la lignée LoVo.....	60
Figure 30 : Courbe montrant l'inhibition de la prolifération cellulaire globale de l'extrait MeOH de feuilles sur les cellules de la lignée A549.....	62
Figure 31 : Courbe montrant l'inhibition de la prolifération cellulaire globale de l'extrait Ether de pétrole de feuilles sur les cellules de la lignée A549.....	62
Figure 32 : Courbe montrant l'inhibition de la prolifération cellulaire globale de l'extrait DCM/MeOH de feuilles sur les cellules de la lignée A549.....	63

*Etude des propriétés antiradicalaire et antiproliférative d'extraits de feuilles et de rameaux
de *Salvadora persica* L.*

Figure 33 : Courbe montrant l'inhibition de la prolifération cellulaire globale de l'extrait DCM de feuilles sur les cellules de la lignée A549.....	63
Figure 34 : Courbe montrant l'inhibition de la prolifération cellulaire globale de l'extrait aqueux de rameaux sur les cellules de la lignée A549.....	64
Figure 35 : Courbe montrant l'inhibition de la prolifération cellulaire globale de l'extrait DCM de rameaux sur les cellules de la lignée A549.....	64
Figure 36 : Courbe montrant l'inhibition de la prolifération cellulaire globale de l'extrait MeOH de rameaux sur les cellules de la lignée A549.....	65
Figure 37 : Courbe montrant l'inhibition de la prolifération cellulaire globale de l'extrait aqueux de feuilles sur les cellules de la lignée MCF-7.....	67
Figure 38 : Courbe montrant l'inhibition de la prolifération cellulaire globale de l'extrait MeOH de feuilles sur les cellules de la lignée MCF-7.....	67
Figure 39 : Courbe montrant l'inhibition de la prolifération cellulaire globale de l'extrait DCM/MeOH de feuilles sur les cellules de la lignée MCF-7.....	68
Figure 40 : Courbe montrant l'inhibition de la prolifération cellulaire globale de l'extrait MeOH de rameaux sur les cellules de la lignée MCF-7.....	68
Figure 41 : Courbe montrant l'inhibition de la prolifération cellulaire globale de l'extrait aqueux de rameaux sur les cellules de la lignée MCF-7.....	69

TABLE DES MATIÈRES

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION – ENONCE DU PROBLEME.....	1
PREMIERE PARTIE : GENERALITES.....	4
I. GENERALITES SUR LE CANCER.....	5
I.1. Définition	5
I.2. La Carcinogénèse	5
I.3. Facteurs de risques	7
I.3.1. Les facteurs de risques exogènes	8
I.3.2. Les facteurs de risques endogènes	9
I.4. Traitements	10
I.4.1 Préventif.....	10
I.4.2 Curatif.....	12
I.5. Classification et mécanisme d'action des médicaments anticancéreux.....	15
I.5.1 Les antimétabolites ou poisons du fuseaux.....	15
I.5.2 Les alkylants (ou alcoylants)	17
I.5.3 Les antimétabolites	18
I.5.4 Les inhibiteurs des topoisomérases	19
II.GENERALITES SUR LES ANTIOXYDANTS.....	20
II.1 .Définition	20
II.2. Rappel sur les Antioxydants.....	20
II.3. Les radicaux libres.....	21
II.3.1 Définition.....	21
II.3.2 Origine des radicaux libres	21
II.4. Les sources d'antioxydants.....	21
II.4.1 Médicaments.....	21
II.4.2 Source alimentaire.....	22
II.4.3 Antioxydants naturels.....	22
II.5 Mécanisme d'action des antioxydants.....	24

II.6 Méthodes d'évaluation des propriétés antioxydantes	24
II.6.1 Test mesurant l'activité antioxydante contre le lysosome.....	24
II.6.2 Réduction du radical diphényl picrylhydrazyle (DPPH).....	24
II.6.3 Test mesurant l'activité antioxydante au moyen de caroténoïdes.....	24
III. DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES SUR <i>Salvadora persica</i>	25
III.1. Classification	25
III.2. Description botanique	25
III.3. Ecologie et distribution	27
III.4. Utilisation traditionnelle	27
III.5. Etudes pharmacologiques	28
III.6. Etudes chimiques	28
DEUXIEME PARTIE : NOTRE ETUDE	29
I. OBJECTIFS DE L'ETUDE	30
I.1. Objectif général	31
I.2. Objectifs spécifiques	31
II. METHODOLOGIE	32
II.1. Cadre de l'étude	33
II.2. Type d'étude	33
II.3. Matériels d'étude	33
II.3.1. Matériel végétal.....	33
II.3.2. Matériels d'étude phytochimique.....	33
II.3.3. Matériels pour l'étude biologique.....	34
II.4. Méthode d'étude	35
II.4.1. Méthode d'étude phytochimique.....	35
II.4.2. Méthode d'étude pharmacologique.....	41
III. RESULTATS DE L'ETUDE	46
III.1. Résultats phytochimiques	47
III.1.1 Rendement d'extraction.....	47
III.1.2 Les principaux groupes chimiques caractérisés.....	48
III.2. Résultats des tests pharmacologique	49

*Etude des propriétés antiradicalaire et antiproliférative d'extraits de feuilles et de rameaux
de *Salvadora persica* L.*

III. 2.1. Evaluation de l'activité antiradicalaire des extraits de poudres de <i>Salvadora persica</i>	49
III. 2.2. Evaluation de l'activité antiproliférative des extraits de poudres de <i>Salvadora persica</i>	55
IV. DISCUSSION DES RESULTATS	71
IV.1. Etudes phytochimiques	72
IV.1.1 Le rendement de l'extraction.....	72
IV.1.2. La caractérisation phytochimique.....	72
IV.2. Etudes biologiques	73
IV.2.1. Etude <i>in vitro</i> de l'activité antiradicalaire	73
IV. 2.2. Etude <i>in vitro</i> de l'activité antiproliférative	74
IV.2.3 Relation entre nos deux expérimentations.....	77
CONCLUSION	80
PERSPECTIVES	81
BIBLIOGRAPHIE	82
ANNEXES	91
RESUME	96

**INTRODUCTION ET
ENONCE DU PROBLÈME**

INTRODUCTION ET ENONCE DU PROBLEME

Le cancer est une maladie caractérisée par une croissance et une propagation incontrôlées de cellules anormales.(Mareel et Leroy, 2003).

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS, 2006), le cancer représente une cause majeure de décès dans le monde. En effet, sur un total de 58 millions de décès enregistrés en 2005 au niveau mondial, 13% (soit 7.6 millions) étaient dues au cancer, soit plus que la proportion de décès causés par le VIH/SIDA, la tuberculose et le paludisme réunis.

Dans les pays industrialisés, le cancer constitue la deuxième cause de mortalité après les maladies cardiovasculaires, (OMS, 2006) ; On estime que 40% des habitants contracteront un jour cette maladie, et que plus d'un habitant sur cinq en décèdera (Moulinoux J-P., 2006).

Contrairement aux apparences, les populations des pays en développement sont également concernées. En effet, plus de 70% des décès dû au cancer survenus en 2005 étaient enregistrés dans les pays à faible revenu ou à revenu intermédiaire (CIRC, 2008). Selon des projections de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), d'ici à 2020 le nombre de décès dû au cancer va connaître une augmentation considérable dans les pays en développement, aussi bien en Asie, en Afrique qu'en Amérique Latine, et ce, principalement en raison du vieillissement constant de la population humaine et de l'augmentation de la pollution (Rastogi T. et coll., 2004).

En Afrique, le nombre de nouveaux cas de cancer est estimé à 667.000 dont 314.000 chez les hommes et 353.000 chez les femmes avec 580.000 décès dont 252.000 hommes et 266.000 femmes (Boyle P. et Levin B., 2008).

Au Burkina Faso, les données statistiques laissent penser que la maladie cancéreuse est une affection fréquente et pourrait être une préoccupation médicale dans les années à venir. En effet l'OMS a estimé, en 2002, à environ 8000 cas de cancer avec 3% de décès. En 2005, les cancers représentaient 3,3% des causes de décès; et représenteraient en 2030 environ 6,0% des causes de décès (OMS, 2005).

Le traitement du cancer a pour but de guérir, de prolonger la vie et d'améliorer la qualité de vie des patients. Les moyens thérapeutiques, disponibles pour le traitement du cancer, ont connu un essor important ces dernières années grâce aux progrès enregistrés sur la connaissance de la maladie. Ces moyens thérapeutiques sont la chirurgie, la radiothérapie, la chimiothérapie, l'hormonothérapie, la greffe de moelle osseuse ou de cellules souches et plus récemment les

thérapeutiques ciblées ; ils sont le plus souvent associés en fonction des types de cancers. Malheureusement le coût de ces thérapies est très onéreux. De plus, les médicaments anticancéreux disponibles, présentent de nombreux effets indésirables du fait de leur mécanisme d'action peu selectif. Ce qui doit motiver la recherche et le développement de nouvelles molécules afin de proposer des thérapies beaucoup plus spécifiques des maladies cancéreuses.

Les moyens et protocoles thérapeutiques sont relativement accessibles à l'ensemble des malades pris en charge dans les pays développés, parce qu'ils sont disponibles, et parce qu'il existe une couverture sociale pour la majorité des malades. La situation est différente dans les pays en voie de développement comme le Burkina Faso.

Au Burkina Faso en effet, les moyens thérapeutiques qui pourraient être accessibles aux malades sont la chirurgie, la chimiothérapie et l'hormonothérapie. Dans la réalité, peu de malades ont accès à ces thérapeutiques, les causes étant multiples et diverses, nous pouvons citer entre autres :

- La difficulté de financement du traitement proposé, dont le coût est largement au-dessus des revenus des patients. A titre d'exemple, dans le service de Chirurgie Générale et Digestive du CHU-YO, sur 3788 malades hospitalisés entre 1991 et 1994, 120 y étaient pour une pathologie tumorale mammaire. La chimiothérapie étant trop onéreuse seulement 9 malades en ont bénéficiés (Sano D. et coll., 1997);
- Aucune pharmacie hospitalière ou privée n'assure la préparation ou le reconditionnement des anticancéreux au Burkina.
- Selon la Direction des Etudes et de la Planification (D.E.P) du ministère de la santé il n'existerait pas de centres spécialisés dans le traitement des cancers et la stratégie nationale de prise en charge est en cours de réalisation

La prise en charge du cancer au Burkina pose donc à l'évidence la question fondamentale de l'insuffisance d'accès des malades aux soins.

Dans ce contexte la recherche et le développement de phytomédicaments à partir de plantes pourraient apporter une solution alternative. En effet, de nombreuses études ont démontré que le règne végétal constitue une source intéressante de molécules antitumorales; Par exemple, la vinblastine et la vincristine ont été développées à partir de *Catharantus roseus*, le paclitaxel à partir de *Taxus brevifolia*, la podophyllotoxine à partir de *Podophyllum peltatum*, et la camptothécine à partir de *Camptotheca acuminata*).

Dans la perspective de rechercher, et développer, des phytomédicaments antitumoraux, à partir de plantes de la flore du Burkina Faso, notre choix a porté sur *Salvadora persica*, une plante ligneuse de la famille des Salvadoraceae très répandue. *Salvadora persica* est décrite dans la littérature comme étant une plante riche en composés polyphénoliques, présentant un pouvoir antioxydant très marqué (Ribéreau-Gayon, 1968), et pourrait jouer un rôle intéressant dans la prévention du cancer.

A notre connaissance, les propriétés antiprolifératives de *Salvadora persica* n'ont jamais été étudiées. Ainsi nous nous proposons dans la présente étude d'évaluer *in vitro* les propriétés antiradicalaire et antiproliférative d'extraits de feuilles et de rameaux de cette plante.

PARTIE I : GENERALITES

I/ GENERALITE SUR LE CANCER

I.1. DEFINITION

Des cancers étaient déjà décrits dans des textes égyptiens vers 3500 avant notre ère (Wikipedia 2006). C'est Hippocrate qui donna la première définition de la maladie, appelée alors «carcinome» ou « squirre » : une tumeur (gonflement), dure non inflammatoire, ayant tendance à récidiver et à se généraliser jusqu'à la mort (Wikipedia 2009).

Le cancer peut se définir comme étant une croissance et une dissémination incontrôlable de cellules anormales (clone cellulaire original) pouvant affecter quasiment n'importe quel tissu. C'est un phénomène biologique appelé oncogenèse ou carcinogenèse. (IFMT-MS 2006)

I.2. LA CARCINOGENESE

Il existe 3 étapes dans le développement du cancer dont les deux premières sont inévitablement successives sinon le processus cancéreux ne peut aboutir : l'initiation, la promotion tissulaire et la progression.

✓ **L'initiation** : c'est le passage de la cellule normale à la cellule potentiellement cancéreuse : il s'agit donc d'une transformation maligne à l'échelon cellulaire, mais dont l'apparition sous forme d'une tumeur nécessite une deuxième étape (la promotion) ; C'est un phénomène irréversible pouvant apparaître après un contact avec le cancérigène (physique, chimique, viral) .

Il est lié à une modification de l'ADN : mutation ou surtout translocation d'un fragment entier.

- La carcinogenèse chimique correspond à une activation par mutation dans un oncogène. Elle se caractérise par deux stades successifs : l'initiation et la promotion. Un oncogène peut être activé par mutation avec une substance chimique « initiatrice » pour former des tumeurs bénignes, qui, elles, sont susceptibles de dégénérer en cancer sous l'action d'une substance « promotrice ».

- La carcinogenèse virale comprend deux sortes d'activation. La première implique des virus lents qui, par insertion, activent un oncogène. La seconde concerne des virus qui portent un gène transformant, capable de transformer la cellule en cellule tumorale.

- L'amplification d'un oncogène correspond à une activation par multiplication du nombre de copies de l'oncogène dans la cellule. Il s'agit souvent d'un événement tardif au cours de la progression tumorale.

L'amplification de l'A.D.N ou de l'A.R.N d'un oncogène conduit à l'augmentation d'une protéine pouvant lutter contre le produit d'un autre gène, un gène suppresseur de la transformation tumorale (anti oncogène). La quantité de protéine oncogène l'emporterait sur celle de la protéine suppresseur de tumeur, provoquant ainsi le cancer. D'autres facteurs sont impliqués : activité anormale de gènes contrôlant des enzymes (télomérases) et de gènes bloquant l'apoptose et permettant la formation de nouveaux vaisseaux sanguins qui alimentent le tissu tumoral.

✓ **La promotion** : c'est la phase de stimulation du clone transformé, « initié », aboutissant à la phase de croissance tumorale pluri-cellulaire ;

Elle doit survenir après l'initiation pour entraîner l'apparition de la tumeur cancéreuse.

Son rôle est de maintenir l'initiation, et de lui permettre de s'exprimer.

Elle est caractérisée par une grande instabilité génomique et une augmentation de la perte d'homéostasie. La cellule cancéreuse perd la capacité à reconnaître sa «vieillesse», initier sa mort et réparer les dommages de son ADN.

✓ **La progression** : elle correspond à l'acquisition des propriétés de multiplication non contrôlée, l'acquisition de l'indépendance, la perte de la différenciation, l'invasion locale et métastatique.

La capacité de s'étendre, localement et à distance, sous forme de métastase est une propriété spécifique des tumeurs malignes.

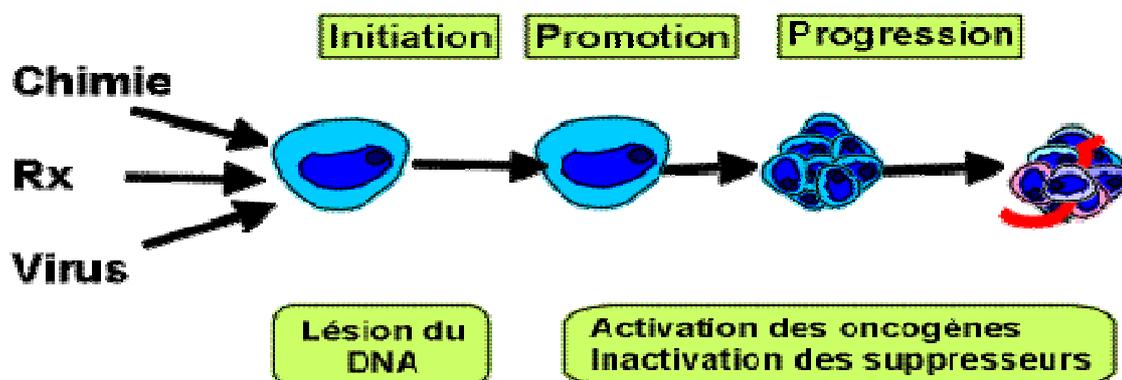


Figure 1 : les étapes de formation du cancer (OUDARD,S 2005, pp5-6)

Une métastase est une tumeur maligne constituée de cellules issues de la tumeur primitive et se développant à distance de celle-ci. Le mécanisme de dissémination commence par le détachement des cellules tumorales de la tumeur primitive ensuite les cellules libérées vont emprunter diverses voies telles que la voie lymphatique, vasculaire et intra cavitaire. Elles vont se fixer sur le site métastatique et se développer en favorisant l'angiogénèse (formation de néo vaisseaux).

C'est une étape essentielle à la croissance des tumeurs primaires et à la formation de métastases puisqu'elle permet aux cellules cancéreuses d'accéder à la circulation sanguine (Folkmann ; 2003). En effet, tout comme dans les tissus normaux, les tumeurs ont besoin d'un apport adéquat en oxygène et en nutriments.

I.3. FACTEURS DE RISQUES

Il existe plusieurs facteurs capables d'augmenter le risque d'apparition de la maladie cancéreuse. Dans les pays ayant un niveau de développement socio-économique élevé, le régime alimentaire et la sédentarité favorisent l'apparition de cancers du colon, de la prostate et du sein qui seraient responsables de 35% des décès par cancer. Le tabagisme serait à l'origine de 30% des décès par cancer, l'alcool et les infections de 10%. Les fréquences probablement sous estimées, des décès par cancers dus aux expositions professionnelles, à la pollution et aux produits industriels seraient respectivement de 4%, 2% et moins de 1% (www.invs.sante.fr). On peut classer les facteurs de risque en deux grands groupes.

I.3.1. Les facteurs de risques exogènes

a- Le tabac

Le tabagisme est la principale cause connue de cancer dans le monde et constitue la cause environnementale de cancer la plus étudiée (OMS, 2005). Le risque de cancer de poumon est lié, pour un fumeur, à la dose de l'agent cancérigène, à la durée d'administration et à l'intensité de l'exposition (OMS, 2005). La consommation du tabac provoque en plus du cancer du poumon, des tumeurs du larynx, du pancréas, du rein et de la vessie (IARC, 1986). Le tabagisme serait responsable de près de 25% de l'ensemble des cancers chez l'homme, 4% chez la femme, environ 16% de tous les cancers dans les pays développés et 10% dans les pays les moins développés (Pakin et coll. 1994).

b- Les expositions professionnelles

Certains produits chimiques (les amines aromatiques, le benzène, l'amiante, les métaux, le goudron de houille) présents sur certains lieux de travail, sont associés à une augmentation du risque de cancer chez les travailleurs (OMS, 2005). Les cancers liés aux expositions professionnelles affectent souvent les poumons, la peau, le foie et la vessie (Alderson, 1986 ; IARC, 1972-2001).

c- La pollution environnementale

Les « facteurs environnementaux » au sens large sont impliqués dans le développement de la majorité des cancers chez l'homme (Tomatis et coll., 1990).

Cependant, dans le contexte présent, la « pollution environnementale » concerne un sous-ensemble spécifique de facteurs environnementaux cancérigènes, à savoir les polluants de l'air, de l'eau et du sol. Parmi les polluants cancérigènes, on retrouve l'amiante, les agents toxiques présents dans l'air urbain, les polluants de l'air intérieur, les sous-produits chlorés, ainsi que les émissions industrielles. La pollution environnementale serait responsable de 1 à 4% des cancers dans les pays développés (Doll et coll. 1981).

d- L'alimentation

Près de 30% des cancers humains sont liés à l'alimentation et à la nutrition (OMS, 2005). Le régime alimentaire dit de type occidental hautement calorique, riche en graisse et en protéines

animales, souvent combiné à un mode de vie sédentaire et donc à un déséquilibre énergétique, augmente le risque de cancer du colon, du sein, de la prostate, de l'endomètre (OMS, 2005).

e- Les rayonnements

L'exposition aux rayonnements ionisants de source naturelle, industrielle ou médicale, peut entraîner une grande variété de néoplasmes dont la leucémie, le cancer du sein et de la thyroïde. Le rayonnement solaire est de loin la source la plus importante d'irradiation aux ultraviolets et entraînent plusieurs types de cancer de la peau (OMS, 2005).

f- Les infections chroniques

Des données expérimentales et biologiques indiquent qu'une grande variété d'agents infectieux est responsable de nombreux cas de cancer dans le monde (Pisani et coll., 1997). Les virus en sont les principaux agents avec au moins huit types de virus différents (les virus de l'hépatite B et C, le virus du papillome humain, le virus d'Epstein-Barr, le virus de l'immunodéficience humaine, le virus T-lymphotrope humain, l'herpès virus humain). Les autres agents infectieux impliqués dans la survenue de cancers sont des parasites (*Opisthorchis viverrini*, *Clonorchis sinensis* qui sont deux douves du foie, *Schistosoma haematobium* et *Schistosoma japonicum* qui sont deux trématodes) et une bactérie (*Helicobacter pylori*) (IARC, 1994-1997).

Les localisations organiques les plus fréquentes sont le foie (hépatite B et C), le col de l'utérus (virus du papillome humain), les tissus lymphoïdes (virus d'Epstein Barr), l'estomac (*Helicobacter pylori*) et l'appareil urinaire (*Schistosoma hématobium*).

Le mécanisme de la cancérogénicité associé aux agents infectieux peut être direct par exemple par l'intermédiaire de protéines oncogènes produits par l'agent infectieux (cas du virus du papillome humain) ou indirectement en entraînant une inflammation chronique avec nécrose des tissus (Zur Haussen, 1999).

I.3.2 Les facteurs de risque endogènes

a- L'immunodépression

Une dépression persistante du système immunitaire entraîne un risque accru de cancer.

Les agents infectieux à l'origine d'une immunodépression grave comme le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) sont associés à une incidence Kaposi (OMS, 2005).

b- Les prédispositions génétiques

Il existe trois grandes catégories de gènes associées aux pathologies cancéreuses (OMS, 2005) :

- Les oncogènes qui sont des régulateurs positifs de la prolifération cellulaire. Ils deviennent hyperactifs et leur modification est dominante car il suffit qu'un ou deux des copies soient modifié. Les oncogènes les plus connus et les plus étudiés sont les gènes MYC, ERBB2, RAS, et BCL2.
- Les gènes suppresseurs de tumeurs qui sont des régulateurs négatifs de la prolifération cellulaire. Les deux copies de ces gènes sont inactivées dans les cancers. Un grand nombre de gènes suppresseurs de tumeurs sont associés à des syndromes cancéreux familiaux. Cependant deux d'entre eux, p53 et CDKN2A (inhibiteur de la kinase cycline-dépendante 2), sont généralement modifiés dans la plupart des cancers. Le gène p53 est le gène le plus fréquemment muté dans les cancers humains (OMS, 2005). Il code pour une phosphoprotéine de poids moléculaire de 53 000 daltons, qui s'accumule dans le noyau en réponse à différents types de stress, notamment aux lésions de l'ADN. Dans ce contexte, le gène p53 agit comme un régulateur transcriptionnel, faisant augmenter ou diminuer l'expression de plusieurs dizaines de gènes intervenant dans le contrôle du cycle cellulaire, dans l'induction de l'apoptose (mort cellulaire programmée de type I), dans la réparation de l'ADN et dans le contrôle de la différenciation. Ensemble, ces gènes exercent des effets complexes et antiprolifératifs.
- Les gènes des multiples systèmes de réparation qui sont capables de détecter et de réparer les lésions de l'ADN. Ces gènes sont inactivés dans les cellules cancéreuses (OMS, 2005).

I.4. TRAITEMENTS

I.4.1. Préventifs

C'est l'ensemble des mesures qui visent à lutter contre l'exposition aux facteurs de risque de carcinogénèse (prévention primaire) et à traiter les états précancéreux (prévention secondaire).

a. Prévention primaire

Elle repose sur la modification des modes de vie et du comportement, facteurs de risque les plus fréquents.

- Le tabac est responsable de 30 % de la totalité des décès par cancer. Plus de 90 % des cancers bronchopulmonaires, première cause de mortalité par cancer dans le monde, et des voies aérodigestives (cancers oro-pharyngo-laryngés et œsophagiens) lui sont directement imputables.

- L'alcoolisme, non directement carcinogène, mais très souvent associé au tabagisme, a un rôle de cofacteur multiplicatif de risque pour les cancers des voies aérodigestives supérieures : 9/10 de ceux-ci s'observent chez des individus consommateurs d'alcool et de tabac.

- L'alimentation, lorsqu'elle est riche en graisses saturées et en protéines, et pauvre en fibres, multiplie le risque des cancers digestifs (estomac, côlon et rectum), mais aussi celui des cancers hormonodépendants (sein, endomètre, prostate). Une consommation excessive d'aliments fumés majore le risque de cancer de l'estomac.

- Les autres facteurs de risque, comme les expositions prolongées au soleil ou les infections à papillomavirus (maladies virales sexuellement transmissibles), favorisent respectivement l'apparition de cancers cutanés, notamment des mélanomes malins, et de cancers anogénitaux.

Les virus des hépatites B et C exposent au risque du cancer du foie. L'infection par le virus d'immunodéficience humaine (V.I.H.) favorise l'apparition de cancers, en particulier certaines formes de sarcomes cutanés, cancer du col utérin et cancers du système lymphatique.

b. Prévention secondaire

Elle repose sur trois types de mesures :

- le traitement des états précancéreux, reconnus par dépistage systématique lors de la surveillance de sujets à haut risque ou à l'occasion de toute consultation (traitement des lésions tissulaires et histologiques bénignes : dystrophies, dysplasies, métaplasies, tumeurs bénignes) ;

- la prescription de médicaments capables de corriger des états dysplasiques ou métaplasiques des muqueuses (vitamine A et acides rétinoïques dans l'usage actuel), associée à l'arrêt de l'exposition aux carcinogènes ;

- l'ablation chirurgicale des lésions précancéreuses (colectomie préventive dans la polypose colique familiale, ablation de lésions cutanées à haut risque néoplasique, de lésions dysplasiques du col utérin).

I.4.2. Curatif

Le but du traitement du cancer est, au mieux, d'obtenir la guérison ou, a défaut, de stopper l'évolution le plus longtemps possible tout en atténuant les symptômes de la maladie. Il existe deux grandes modalités du traitement du cancer : le traitement a visée locorégionale (chirurgie, radiothérapie) et les traitements médicaux systématiques tels que la chimiothérapie, immunothérapie et l'hormonothérapie, ces traitements sont utilisés seuls ou, le plus souvent, en association.

a. La chirurgie

La principale approche du traitement du cancer consiste à retirer chirurgicalement la tumeur. Autrefois, cela impliquait également l'ablation de tous les tissus et organes qui risquaient d'être atteints, y compris les tissus adjacents et les ganglions de la région.

b. La radiothérapie

Les rayonnements ionisants, électromagnétiques ou particulaires, détruisent les tissus. La sensibilité des tumeurs aux rayonnements est très variable, mais elle est généralement plus importante que celle des tissus normaux environnants. Cette technique est donc relativement peu nocive pour les tissus sains, à condition que le rayonnement soit bien dosé. On a recours à la radiothérapie dans les cas de tumeur de l'utérus, de cancer de la peau, du larynx ou du tissu lymphoïde, et en particulier contre les métastases.

Tout comme la chirurgie, la radiothérapie présente aussi des limites: elle n'éradique pas toutes les cellules cancéreuses, et ne peut traiter toutes les métastases disséminées (Hellman et Vokes, 1996).

c. L' hormonothérapie

Certains cancers sont hormonodépendants, c'est-à-dire qu'ils sont sensibles à telle ou telle hormone présente dans l'organisme, qui active leur prolifération : le cancer du sein, de la prostate, de l'endomètre et de la thyroïde. On peut alors prescrire des médicaments, qui sont d'ailleurs également des hormones, mais qui suppriment la source des hormones stimulantes (par exemple, qui inhibent la sécrétion ovarienne spontanée d'une malade).

Elle consiste à antagoniser l'effet pro-tumoral de divers types d'hormones, dont les œstrogènes dans le cas du cancer du sein (Lewis et coll., 2004), les androgènes dans le cas du

cancer de la prostate (Lieberman, 2002) ou encore certains neuropeptides dans une forme particulière du cancer du poumon, le carcinome à petites cellules (Moody, 2006).

d. La chimiothérapie

La chimiothérapie est le traitement du cancer par des substances chimiques. Les médicaments sont véhiculés dans tout l'organisme par l'intermédiaire de la circulation sanguine. Il existe un très grand nombre de médicaments anticancéreux, mais presque tous fonctionnent selon le même mécanisme : ils interfèrent avec la synthèse ou l'expression de l'ADN, ou avec les mécanismes de division cellulaire. Les cellules les plus sensibles à ces substances sont celles qui se divisent le plus fréquemment. Or, les tumeurs possèdent une plus forte proportion de cellules en cours de division que les tissus sains. Ces derniers sont donc plus résistants au traitement, mais certains d'entre eux, dont les cellules, proliférant rapidement (moelle osseuse, tissus du tube digestif), restent relativement sensibles. Les risques d'effets indésirables liés à ces tissus et organes limitent les doses que l'on peut administrer au cours des chimiothérapies. Le traitement chimiothérapeutique actuel du cancer fait appel à une majorité de produits d'origine naturelle : près de 60% des médicaments antitumoraux proviennent de végétaux, animaux et micro-organismes (Hellman et Vokes, 1996) qui sont pour la plupart des antimétabolites.

e. La phytothérapie

La phytothérapie est pratiquée partout dans le monde que ce soit dans les pays industrialisés ou en voie de développement. Les produits de la phytothérapie ont acquis une part de marché importante et en constante progression en Europe et aux Etats-Unis, avec des chiffres d'affaire annuels atteignant 19 milliard de Dollars en 2006, et qui, selon les estimations, devraient atteindre les 26 milliards de Dollars en 2011 (Saklani et Kutty 2008).

Les produits de la phytothérapie sont généralement des préparations à base de plantes médicinales, parfois standardisées, utilisées dans divers pays pour traiter diverses pathologies, souvent dans le domaine des médicaments dits "de confort". Elles sont utilisées pour soulager ou pour préserver de la maladie (Wargovich et coll. 2001), mais leur intégration dans les traitements modernes, y compris dans le traitement du cancer, pose encore des problèmes de qualité, d'efficacité et surtout d'innocuité (Fong, 2002). C'est pourquoi les produits de la phytothérapie font l'objet d'une grande attention de la part des scientifiques, notamment dans le domaine du cancer. En effet les phytomédicaments doivent être pris en compte, tant pour leurs éventuels

effets bénéfiques, que pour les toxicités (dose-dépendantes ou idiosyncrasiques) ou les échecs thérapeutiques qu'ils sont susceptibles d'engendrer, via soit leurs constituants propres, une altération de la préparation et/ou une interaction contre-indiquée avec la chimiothérapie anticancéreuse (Routledge, 2008). Ainsi, bien que souvent controversée par les médecins, on estime que plus de 50% des patients diagnostiqués avec un cancer recourent, de façon suivie ou individuelle, à la phytothérapie durant ou après une chimiothérapie (Boon et Wong, 2004). Trois raisons semblent motiver les patients à choisir la phytothérapie : le contrôle des symptômes, l'amélioration de la qualité de vie, la récurrence des cancers (Cassileth et coll. 2000). Les patients cancéreux recourent le plus souvent à la phytothérapie dans le but de prévenir une hépatotoxicité, de potentialiser la chimiothérapie ou de traiter une hépatotoxicité après chimiothérapie (Greenlee H et coll., 2007). Ces produits qui peuvent être doués à la fois de propriétés antioxydante, anti-inflammatoire et proapoptotique, offriraient l'avantage d'agir simultanément et de manière synergique sur diverses cibles moléculaires. (Treasure, 2005 ; Liu, 2004).

f. L'immunothérapie

Elle fait appel à deux mécanismes: l'immunothérapie passive et l'immunothérapie active.

- L'immunothérapie passive est représentée par la thérapie cellulaire qui consiste à injecter au malade des cellules T cytotoxiques isolées de la tumeur.

Ces cellules sont multipliées *in vitro* afin d'en disposer en quantité suffisante pour leur administration au patient cancéreux (Old 1996).

- L'immunothérapie active est représentée par la vaccination. Pour exemple, le concept de la vaccination anti-mélanome vise, après identification des antigènes spécifiques de la tumeur donnée, à induire une réponse immunitaire spécifique en les injectant au malade et à aboutir ainsi (en théorie) au rejet des cellules tumorales (Carter 2001).

L'immunothérapie, qu'elle soit passive ou active, n'a pas rencontré les succès cliniques que laissaient entrevoir de nombreux travaux de recherche (Bodey et coll. 2000; Mocellin et coll. 2004).

g. Les traitements adjuvants

Traitement de la douleur cancéreuse : on note une altération de l'état général avec la chimiothérapie ou de manière spontanée associant des douleurs atroces qu'il faut rompre précocement par les analgésiques; la prise en charge des effets secondaires émétisants par les antidopaminergiques et antisérotoninergiques et les Glucocorticoïdes.

I.5. CLASSIFICATION PHARMACOLOGIQUE ET MECANISME D'ACTION DES MEDICAMENTS ANTICANCEREUX

Ces médicaments ont pour cible l'ADN ou des protéines nécessaires à la mitose. Leur activité n'est pas spécifique des cellules néoplasiques et ils ont aussi une toxicité notable sur les cellules normales de l'hôte, d'où l'étrécissement de leur marge thérapeutique. Ils sont généralement plus efficaces sur les cellules en cycle que sur les cellules quiescentes, d'où leur efficacité insuffisante dans de nombreuses tumeurs solides d'évolution lente. On les classe selon leur cible biochimique et leur famille chimique;

1.5.1 Les antimitotiques ou poisons du fuseaux

1.5.1.1 Alcaloïdes de la pervenche

a- Structure

Leur structure générale est constituée d'une molécule dihydroindolique de type « aspidospermane » et d'une molécule indolique. Ils diffèrent entre eux par la nature du substituant sur l'azote de la partie dihydroindolique.

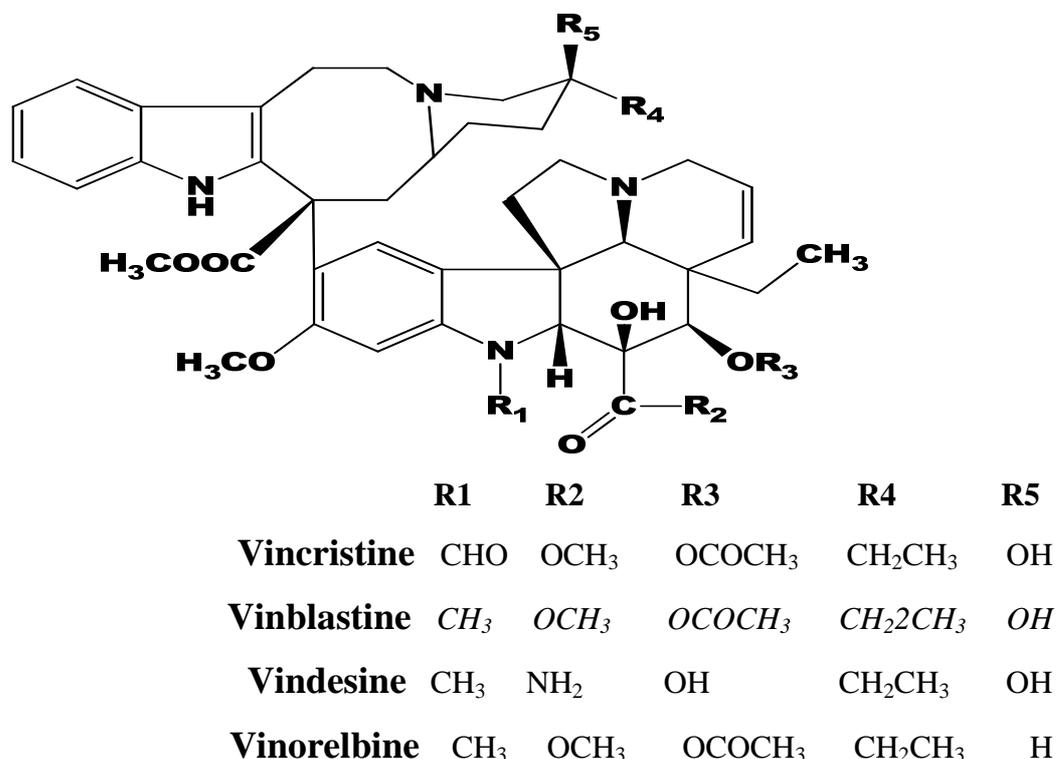


Figure 2 : structure des alcaloïdes de la pervenche de Madagascar

b- Source

La vinblastine, vincristine, la vindesine et la vinorelbine sont des alcaloïdes extraits des parties aériennes de la pervenche de Madagascar (*Catharanthus roseus*).

c- Mécanisme d'action

Ils inhibent la polymérisation de la tubuline qui joue un rôle essentiel dans la formation du fuseau mitotique. Ils bloquent la cellule en une métaphase prolongée, ce qui déclenche l'apoptose. Ce sont les seuls véritables "antimitotiques". Cependant la polymérisation de la tubuline est nécessaire au flux axonal qui assure la trophicité des nerfs périphériques, d'où la neurotoxicité des vinca-alcaloïdes. Ils s'emploient par voie intraveineuse stricte; leur extravasation provoque des nécroses cutanées.

d- Principales indications

Vincristine Oncovin[®], IV: leucémies, lymphomes,...

Vinblastine Velbe[®], IV: maladie de Hodgkin et lymphomes non Hodgkiniens, sarcome de Kaposi, cancers du testicule, ovaires, sein, reins,...

Vindésine Eldisine[®] : LAL réfractaires à la chimiothérapie, cancers du sein, de l'œsophage, broncho-pulmonaires, mélanomes.

Vinorelbine Navelbine[®] : cancers du poumon non à petites cellules, cancer métastatique du sein.

I.5.1.2 Les alcaloïdes d'if (Taxanes)

a- Structure

Le chef de fil de ce groupe est le paclitaxel.

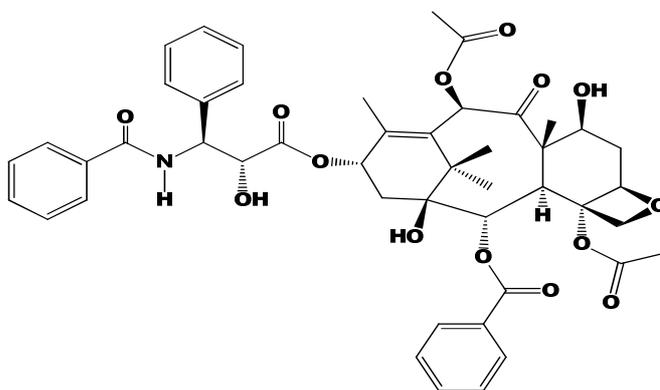


Figure 3 : Structure du paclitaxel

b- Source

Le paclitaxel a été initialement extrait en faible quantité (0,01%) des écorces de tronc d'if du pacifique (*Taxus brevifoli* Nutt.) (Taxaceae). Pour préserver l'espèce, une production industrielle de la molécule a été mise au point. Ainsi, la mise en culture de cultivars a permis d'avoir une source exploitable et renouvelable de paclitaxel. Une autre voie d'accès au taxol consiste à le préparer, par hémisynthèse, à partir d'analogues structuraux comme la 10-désacétylbaccatine III. Ce diterpène est largement présent dans les feuilles de l'if d'Europe, *T. baccata* ou encore celle de différents cultivars d'autres espèces.

c- Mécanisme d'action

Ils inhibent la dépolymérisation des microtubules entraînant ainsi le blocage de la cellule en métaphase . Ce sont aussi des antiméitotiques vrais.

d- Principales indications

paclitaxel (Taxol[®]) et docétaxel (Taxotère[®]): cancer de sein, sarcome de l'ovaire.

I.5.2 Les alkylants (ou alcoylants)

a- Structure

Les agents alkylants appartiennent à plusieurs familles chimiques différentes. On peut citer comme exemple, les moutardes azotées (chlorambucil, busulfan, melphalan) les dérivés du Platine (Cisplatine, Carboplatine).

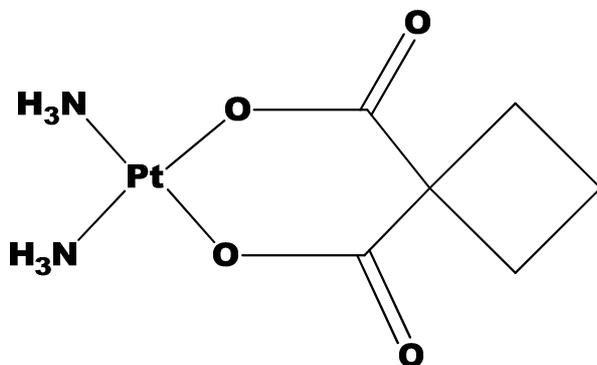


Figure 4: Structure de la carboplatine

b- Mécanisme d'action

Les agents alkylants sont des composés capables de fixer un groupe alkyl (R-CH₂) sur des acides nucléiques (ADN) ou des protéines (Espinosa et al, 2003). Ils se fixent sur deux sites proches pour créer des ponts (intra ou inter-brins) dans les chaînes de l'ADN et créent des lésions complexes, ce qui peut entraîner un arrêt du cycle cellulaire, une mort cellulaire par apoptose et l'inhibition de la croissance tumorale (Espinosa et al, 2003).

c- Principales indications

lymphomes, cancer du sein, maladies auto-immunes sévères, leucémies myéloïdes chroniques, tumeurs cérébrales mélanomes, maladie de Hodgkin, cancer de testicule, cancer du poumon, cancer du pancréas, de l'estomac, traitement intravésical des tumeurs superficielles de vessie.

I.5.3 Les antimétabolites

On distingue les antipurines et les antifoliques avec comme chef de file le méthotrexate

a- Structure

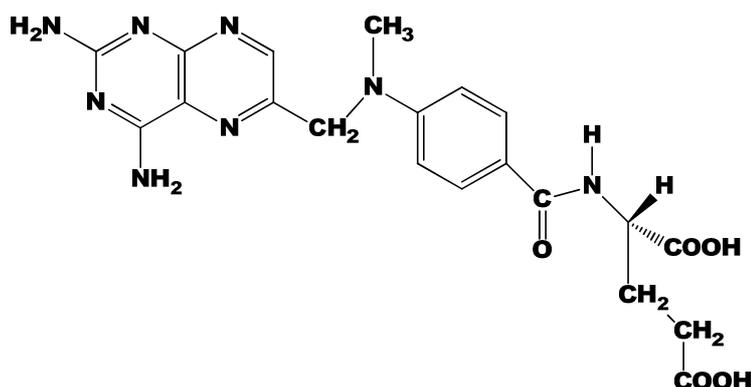


Figure 5: Structure du méthotrexate

b- Mécanisme d'action

La Dé-Hydro-Folate Réductase (DHFR) catalyse la transformation de l'acide folique en acide folinique. Le méthotrexate inhibe la DHFR et bloque de ce fait, la synthèse de l'ADN.

c- Principales Indications

Leucémie lymphoblastique aiguë de l'enfant, cancers bronchiques, pulmonaires de la langue, du pharynx, de la vessie et des testicules.

I.5.4 Les inhibiteurs des topoisomérase

Les topoisomérase I et II sont des enzymes qui relaxent les contraintes de torsions de l'ADN lors des processus de réplication, de transcription ou de réparation. Pour ce faire, les topoisomérase rompent un (topoisomérase I) ou deux brins (topoisomérase II) de la double hélice, les décroisent puis relient immédiatement les brins. Les inhibiteurs de topoisomérase se lient aux enzymes et empêchent la religation des brins d'ADN. Si les cassures monobrins ou double brins sont trop nombreuses, la cellule ne peut les réparer et meurt par apoptose.

- Les inhibiteurs de topoisomérase I sont une classe récente de médicaments anticancéreux.

Ce sont des dérivés hydrosolubles de la camptothécine :

- Irinotecan (CAMPTO®)
- Topotecan (HYCAMTIN®)

- Les inhibiteurs de topoisomérase II sont représentés par les anthracyclines et l'étoposide :

- Adriamycine ou Doxorubicine (ADRIBLASTINE) est le chef de file de la famille des anthracyclines qui comprend :

- Epiadriamycine (FARMORUBICINE®)
- Daunorubicine (CERUBIDINE®)
- Idarubicine (ZAVEDOS®)
- Mitoxantrone (NOVANTRONE®)
- Etoposide (VP16®, CELLTO®)

Ce sont des antibiotiques cytotoxiques intercalants (excepté l'étoposide qui est un antiméiotique) extraits de cultures de champignons microscopiques (*Streptomyces pencetius caesius*) et modifiés chimiquement par héli-synthèse. Les anthracyclines ont une toxicité cardiaque prononcée provoquant une cardiomyopathie dilatée au delà d'une dose cumulative.

Principales indications : cancer du colon, cancer de l'ovaire, cancer du sein, lymphomes, maladie de Hodgkin, sarcomes, leucémies, cancer de prostate.

II. GENERALITES SUR LES ANTIOXYDANTS

II.1. DÉFINITION :

Un antioxydant se définit comme toute substance qui, lorsqu'elle est présente en faible concentration comparée à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient de manière significative l'oxydation de ce substrat.

II.2. RAPPEL SUR LES ANTIOXYDANTS

Le concept selon lequel l'oxygène, molécule indispensable pour la vie, peut entraîner des dommages cellulaires importants par formation de dérivés oxygénés activés tels que les radicaux libres, est encore mal perçu dans le milieu médical. Pourtant, de très nombreuses études épidémiologiques et cliniques ont démontré le rôle de ces espèces réactives de l'oxygène (ERO) dans le développement de nombreux processus pathologiques comme l'athérosclérose. Pour se protéger des effets toxiques de l'oxygène, l'organisme a développé des systèmes de défenses antioxydants composés d'enzymes (la glutathion peroxydase), de vitamines (A, C, E), d'oligo-éléments (le sélénium), de protéines (la ferritine).

En situation physiologique, ces systèmes antioxydants ont la capacité de réguler parfaitement la production des ERO. Un stress surviendra lorsqu'il y a un déséquilibre dans cette balance prooxydants/antioxydants en faveur des ERO. Chaque individu ne possède pas le même potentiel antioxydant selon ses habitudes alimentaires, son mode de vie (le tabagisme), ses caractéristiques génétiques ou l'environnement dans lequel il vit. Déterminer le statut de stress oxydant d'un individu devient donc un sujet de priorité en terme de prévention de maladies. Ceci se justifie sur la base de très nombreuses études montrant que les personnes ayant des concentrations sanguines faibles en antioxydants (vitamines A, C ou E) ou des concentrations élevées en marqueurs d'oxydation des lipides ou de l'ADN, ont plus de risques de développer des maladies cardiovasculaires ou un cancer que des personnes ayant un bilan antioxydant normal résultant d'une alimentation équilibrée en fruits et légumes. Sur base de bilans sanguins perturbés, prendre des compléments en antioxydants à des doses physiologiques pourra donc se justifier à condition que ceci soit réalisé sous un contrôle médical strict. (Joël et coll., 2002).

II.3. LES RADICAUX LIBRES

II.3.1 Définition

On définit comme radical libre, n'importe quelle molécule indépendante contenant un ou plusieurs électrons non appariés. Bien que le terme de radical libre ait souvent été assimilé à une espèce réactive ou à un oxydant, il est important de signaler que tous les radicaux libres ne sont pas forcément des oxydants. De même que, tous les oxydants ne sont pas des radicaux libres.

II.3.2 Origine des radicaux libres

L'origine des radicaux libres est diverse : tout d'abord, la pollution de notre environnement peut générer la formation d'espèces réactives de l'oxygène. Une bouffée de cigarette contient environ 10¹⁴ radicaux. Ces mêmes cigarettes contiennent également des traces d'ions métalliques qui peuvent réagir avec le peroxyde d'hydrogène pour former des radicaux hydroxyles.

II.4. LES SOURCES D'ANTIOXYDANTS

En plus des substances propres à l'organisme, les médicaments, l'alimentation et les plantes peuvent être également des sources d'antioxydants.

II.4.1 Médicaments

Ils constituent une source importante d'antioxydants. Actuellement, les classes thérapeutiques comme les anti-inflammatoires non stéroïdiens, les anti-hyperlipoprotéïnémiques, les bêtabloquants et autres antihypertenseurs ont été évalués pour leurs propriétés antioxydantes. Les AINS : Le mécanisme d'action commun de tous les AINS est la diminution de la production de prostaglandines du fait de l'inhibition de la cyclo-oxygénase. Les antihypertenseurs (diurétiques) : Ils agissent en inhibant la réabsorption des ions Na⁺ et Cl⁻ à différents niveaux. Le probucol par exemple est un médicament qui en plus de ses effets reconnus dans la baisse de cholestérol, prévient l'athérogenèse en agissant comme antioxydant et en supprimant la modification oxydative des lipoprotéines de basse densité (LDL).

II.4.2 Source alimentaire

Certaines substances ingérées sont utilisées par l'organisme comme antioxydants. Ce sont principalement: la vitamine C, la vitamine E, le sélénium et le β -carotène. La vitamine C ou acide ascorbique : C'est un puissant réducteur. Il joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E. Il est présent dans les légumes, le chou, le poivron, les agrumes. (Colette E., 2003).

La vitamine E ou tocophérol : prévient la peroxydation des lipides membranaires *in vivo* en capturant les radicaux peroxydes. Elle est présente dans les huiles végétales, les noix, les amandes, les graines, le lait, les œufs et les légumes à feuilles vertes (Ahamet S., 2003).

Le sélénium : C'est l'oligo-élément le plus utilisé pour ses propriétés antioxydantes avérées. Jadis comme un toxique, ses effets bénéfiques sur l'organisme ne sont connus que depuis un quart de siècle. Il neutralise les métaux toxiques (plomb, mercure). Il aurait aussi une action préventive sur certains cancers (Ahamet S., 2003).

Le β -carotène : outre l'activité pro vitaminique A, possède la capacité de capter l'oxygène singulet. Il est retrouvé dans les légumes verts, les épinards, la salade, les carottes, l'abricot, le melon, la papaye et d'autres fruits jaunes. (Ahamet S., 2003).

II.4.3 Antioxydants naturels

En ce qui concerne les plantes médicinales bien connues et économiquement importantes, nous pouvons citer l'ail (*Allium sativum* L ; Liliaceae) et le ginkgo (*Ginkgo biloba* L ; Ginkgoaceae) qui sont utilisés dans le traitement des maladies cardio-vasculaires et circulatoires dues au vieillissement (Igor L.B., 2002).

- Les flavonoïdes :

Présentes dans la plupart des plantes, les flavonoïdes sont des pigments polyphénoliques qui sont responsables de la plupart des colorations des fleurs et des fruits. Ils possèdent de nombreuses vertus thérapeutiques. Ils sont particulièrement actifs dans le maintien d'une bonne circulation. Certains ont aussi des propriétés anti-inflammatoires et anti virales, d'autres ont des effets protecteurs sur le foie. Des flavonoïdes comme l'hespéridine et la rutine, présentes dans plusieurs plantes, dont le Sarrasin et le Citronnier, renforcent les parois capillaires et préviennent l'infiltration dans les tissus voisins.

L'étude des relations structures et activités antioxydantes des flavonoides et des composés phénoliques ont montré que l'activité antioxydante était déterminée par la position et le degré d'hydroxylation (Igor L.B., 2002).

- Les tanins

Toutes les plantes en contiennent à des degrés différents. Ce sont des composés polyphénoliques qui permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections. Ces tanins sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produits au cours de la peroxydation. Des radicaux tanniques plus stables sont alors formés, ce qui a pour conséquence de stopper la réaction en chaîne de l'auto oxydation des lipides (Cavin A., 1999).

- Les coumarines

Les coumarines, de différents types, se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses. Ils sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes. Les conditions structurales requises pour l'activité antiperoxydante des coumarines sont similaires à celles signalées pour les flavonoides (Igor L.B., 2002).

- Les phénols

Il existe une très grande variété de phénols, de composés simples comme l'acide salicylique, molécule donnant par synthèse l'aspirine, à des substances plus complexes comme les composés phénoliques auxquels sont rattachés les glucosides. Les phénols sont anti-inflammatoires et antiseptiques. On suppose que les plantes, en les produisant, cherchent à se prémunir contre les infections et les insectes phytophages. Les acides phénoliques, comme l'acide rosmarinique, sont fortement antioxydants et anti-inflammatoires et peuvent avoir des propriétés antivirales. Parmi les dérivés phénoliques, le resvératrol est le composé qui est le plus étudié. En effet, ce stilbène, isolé du raisin possède de fortes propriétés antioxydantes (Igor L.B., 2002).

- Les xanthones

Leurs principales propriétés pharmacologiques sont leur activité antimicrobienne, leur cytotoxicité et surtout l'inhibition de la monoamine-oxydase (Sidibé F.,2003).

La manguiférine est une xanthone qui possède la propriété d'inhibition sur la peroxydation des lipides, ainsi que des propriétés de capteurs de radicaux libres contre les anions super oxydes (Anderson et al., 1996).

II.5 MÉCANISME D'ACTION DES ANTIOXYDANTS

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulet, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la complexation d'ions et de métaux de transition. Cet intérêt a plusieurs origines ; en tant que constituants alimentaires, ces antioxydants d'origine naturelle semblent contribuer de manière significative à la prévention des maladies telles que le cancer ou encore des maladies cardio-vasculaires.

II.6 MÉTHODES D'ÉVALUATION DES PROPRIÉTÉS ANTIOXYDANTES

I.6.1 Test mesurant l'activité antioxydante contre le lysosome

Principe : Détection de l'activité antioxydante d'une substance par oxydation des lysosomes par le 2,2'-azobis,2-amidino propane (Bossopki I.P.L,2002).

II.6.2 Réduction du radical 1,1 diphenyl-2-picrylhydrazyle (DPPH)

Il s'agit de déposer des extraits, fractions ou produits purs à tester sur des plaques CCM de gel de silice GF₂₅₄ en aluminium et développées dans les systèmes de solvants appropriés. Après séchage, révéler les plaques CCM avec une solution méthanolique à 2mg/ml de DPPH. Des activités antiradicalaires apparaissent sous forme de spots de couleur jaune-blanc sur fond violet. (Cavin A., 1999).

II.6.3 Test mesurant l'activité antioxydante au moyen de caroténoïdes

Les plaques CCM sont préparées de la même manière que pour le test du DPPH, puis révélées avec une solution chloroformique à 0.5mg/ml de β-carotène. La plaque CCM est ensuite exposée sous une lampe UV à 254 nm jusqu'à décoloration de la plaque. Les zones antioxydantes apparaissent en jaune sur fond blanc. Il faut faire particulièrement attention aux substances déjà colorées en jaune, car elles peuvent donner de faux positifs (Cavin A., 1999).

III / DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES SUR *Salvadora persica* L. (SALVADORACEAE)

III.1. CLASSIFICATION (Brandis D., 1874)

Salvadora persica de son nom vernaculaire Kacaaci en peulh; Kanba dosaade en soninké; Hirigesé en bambara; Talakiya en haoussa; et Hiro en Zarma, est une plante appartenant à la famille des Salvadoraceae et poussant dans les zones sahéliennes.

Embranchement:	Magnoliophyta
Classe :	Magnolopsida
Sous-classe	Rosidées
Ordre :	Brassicales
Famille :	Salvadoraceae
Genre :	<i>Salvadora</i>
Espèce :	<i>Salvadora persica</i>

III.2. DESCRIPTION BOTANIQUE

Salvadora persica est un arbuste plus ou moins sarmenteux ou petit arbre, à fût mal conformé, à cime étalée et assez dense, de 4-9 m de haut, l'écorce est lisse à peu rugueuse puis écailleuse, de couleur blanche verdâtre devenant grise claire, à tranches jaune à rose pâle ; Le rameau est glabre, portant des cicatrices entre les feuilles, gris verdâtre, strié dans la longueur ; Le stipule est triangulaire et petit, de 1mm de long ; Les feuilles sont opposées, épaisses, presque charnues, glabres, vert glauques, ovales lancéolées, à sommet acuminé ou obtus, parfois mucroné, à base aiguë ou arrondie ; Le pétiole glabre, de 1,5cm de long ; Les nervures sont pennées, irrégulières, peu saillantes sur les deux faces, à 6-8 paires de nervures secondaires devenant parallèles au bord du limbe. L'inflorescence en grappe lâche et glabre, disposée à la base des feuilles et plutôt répartie en bout de branche, de 5-10cm de long. Les fleurs jaunes, courtement pédicellées, calice à 3-4 dents, avec 4 pétales imbriqués, d'environ 3mm de diamètre. Le fruit est une baie globuleuse, glabre, portant le reste du style au sommet et le calice persistant à la base, de 6mm de diamètre, rouge à maturité (Galadima M., 2008).



Figure 6 : Photographie des fruits de *Salvadora persica* (Salvadoraceae)

Source: http://en.wikipedia.org/wiki/Salvadora_persica



Figure 7 : Photographie des feuilles de *Salvadora persica* (Salvadoraceae)

Source: http://en.wikipedia.org/wiki/Salvadora_persica

III.3. ECOLOGIE ET DISTRIBUTION

Salvadora persica est très répandue, surtout dans les plaines inondables des déserts, les fleuves et les végétations des berges et des savanes herbeuses. *S persica* préfère les endroits où les eaux sont souterraines facilement accessibles par des berges, sur des périmètres de trous d'eau, et dans les zones arides. On trouve également la plante dans les vallées, sur les dunes et sur les termitières. L'arbre est capable de tolérer un environnement très sec avec une pluviométrie annuelle moyenne inférieure à 200 mm. Hautement tolérant au sel, il peut se développer sur les régions côtières et à l'intérieur des sols salins (Albrecht J., 1993).

III.4. UTILISATIONS TRADITIONNELLES

Selon la Société française d'ethnobotanique 2008 :

- La poudre de feuilles mélangée avec de la farine de millet + du miel en petites boulettes prises chaque matin pendant 40 jours dans le traitement de la syphilis (Algérie, Egypte, Libye).
- La poudre d'écorces de racines, mélangée à de l'huile de table pour obtenir une pâte, application locale 3 x / J contre la candidose buccale (Tanzanie).
- Les petites racines bouillies, utilisées en infusion, provoque une forte transpiration ce qui est exploité pour traiter le paludisme. Les tiges sont utilisées comme brosses à dents. (Kenya)
- Cinquante grammes de la poudre de racines sont mélangés avec une demie tasse d'eau, la pâte obtenue est utilisée en application locale dans le traitement des furoncles.
- Pour le traitement du paludisme, une poignée de la poudre de l'écorce des racines mélangée à un demi verre d'eau froide, en application locale 1 x / jour durant 3 jours (Somalie).
- Pour les maux de dos, les racines sont pilées, trempées dans l'eau puis prise par voie orale (Ouganda).
- Pour le traitement du paludisme les écorces de tiges, de rameaux et de tronc de *Salvadora persica* de *Capparis decidua* de *Ziziphus mucronata*, tige feuillée de *Jatropha chevalieri*, en macération, et prise par voie orale (Sénégal).
- Pour les maladies des bronches, les feuilles de *Guiera senegalensis*, de *Combretum glutinosum* de *Salvadora persica*, séchées et broyées, la poudre du mélange obtenue est délayée dans de l'eau et prise oralement (Sénégal).

III.5. ETUDES PHARMACOLOGIQUES

L'écorce de la tige de *Salvadora persica* contient un alcaloïde, la salvadorine, qui a des propriétés anticoagulantes (Chaeib K, Zmantar T, Ksouri R et coll., 2007). *S. persica* présente des propriétés antibactériennes contre les caries dentaires, des études ont montré que les extraits de la plante ont un effet biologique comparable à celui des désinfectants oraux et les agents antiplaques, comme le gluconate de chlorhexidine, si ils sont utilisés à des concentrations élevées (Almas K., 2002 ; Skaug N, Almas K, Ahmad I., 2007). Les huiles essentielles extraites des feuilles de *Salvadora persica* ont montré un effet antibactérien sur plusieurs espèces de bactéries aérobies impliquées dans les infections digestives (Al-Ali et Al-Lafi, 2003) ; L'extrait aqueux de *S. persica* a montré une activité antimicrobienne lors d'une étude au Pakistan et dans d'autres pays asiatiques (Almas K., 2001). La plante entière possède un effet antimycosique (Al-Bagieh et. al., 1994). Les décoctions de tige de *Salvadora persica* sont capables de réduire le taux plasmatique du cholestérol et des LDL sans changer le taux des HDL et triglycérides (Galati M et coll., 1999).

III.6. ETUDES CHIMIQUES

Plusieurs groupes chimiques sont décrits dans différentes parties de la plante. Il s'agit notamment des Triméthylamines, des alcaloïdes dont la salvadorine ayant une activité antimicrobienne (Haberland carrodegua et coll., 2002); des chlorides, des taux élevés de fluorides et de silices, du soufre, de la vitamine C et E (Gamma tocophérol et alpha tocophérol), des tannins.

La présence de saponines, de flavonoïdes et de stérols (bêta-sitostérol, campestérol, stigmastérol, delta 5-avenasterol sont les plus prédominants des stérols) ont été également rapportés (Lachoria R, Jain PC, Agrawal SC., 1999). Les graines de *Salvadora persica* contiennent environ 40 % d'huile avec une composition en acide gras qui est de 20 % en acide laurique et en acide palmitique, 55 % en acide myristique et 5 % en acide oléique.

PARTIE II : NOTRE ETUDE

I. OBJECTIFS

I/ OBJECTIFS

I.1 OBJECTIF GÉNÉRAL

Etudier *in vitro* les propriétés antiradicalaire et antiproliférative d'extraits de feuilles et de rameaux de *Salvadora persica L.* (salvadoraceae)

I.2 OBJECTIFS SPÉCIFIQUES

- Réaliser des extraits à partir des poudres de feuilles et de rameaux de *Salvadora persica L.*;
- Caractériser dans les extraits, les groupes chimiques à activité potentiellement cytotoxique et antiradicalaire, par les reactions générales de caracterisation;
- Déterminer *in vitro* l'activité antiradicalaire des extraits de la plante;
- Evaluer *in vitro* l'activité antiproliférative des extraits sur des lignées de cellules cancéreuses.

II. METHODOLOGIE

II/ METHODOLOGIE

II.1 CADRE DE L'ETUDE

Notre étude a été menée :

- ✓ au laboratoire de chimie organique et physique appliquée de l'Unité de Formation et de Recherche en Science Exacte et Appliquée (UFR/SEA) de l'Université de Ouagadougou pour l'étude phytochimique ;
- ✓ au Centre de Recherche en Biologie moléculaire Pietro Annigoni (CERBA) à Ouagadougou pour les études biologiques.

II.2 TYPE D'ETUDE

Il s'agit d'une étude expérimentale : il a été question pour nous dans un premier temps, de comparer la croissance d'une population de cellules cancéreuses, mise en contact avec des extraits à tester, avec celle d'une population de cellules n'ayant pas été en contact avec les extraits ; dans un second temps de comparer la diminution de l'absorbance d'une solution de radical libre stable mise en contact avec des extraits à tester avec celle d'une solution de radical libre n'ayant pas été en contact avec les extraits.

II.3 MATÉRIELS D'ÉTUDE

II.3.1 Matériel végétal

Il était constitué d'une part de la poudre de feuilles et d'autre part de la poudre des rameaux de *Salvadora persica*. Les feuilles et rameaux ont été récoltés le 08 Aout 2010 à taima, dans la commune d'Oursi à 360 km de Ouagadougou, dans la région du sahel au Burkina Faso. Un échantillon de la plante a été ensuite identifié et authentifié par un botaniste (Dr. GANABA Souleymane ; DPF).

II.3.2 Matériels d'étude phytochimique

- Matériels d'extraction et de caractérisation
 - La verrerie de laboratoire

- Un rotavapor de type Buchi R 215 couplé à un bain marie de type Buchi B 491 et à une pompe à vide de type Buchi V 700
- Une balance Scout pro spu 4001(sensibilité 1/10 grammes ; portée maximale 4000 grammes).

➤ **Solvants d'extraction**

- Ether de pétrole
- Dichlorométhane
- Méthanol
- Eau distillée

II.3.3 Matériels pour l'étude biologique

➤ **Les lignées cellulaires et les milieux de culture**

- Cellules de cancer du poumon non-à-petites cellules (NSCLC) A549 (code ATCC, CCL-185), de cancer du colon LoVo (code ATCC, CCL-229) et de cancer du sein MCF-7 (code ATCC, HTB-22). Ces cellules ont été gracieusement offertes par le Professeur R. Kiss du laboratoire de toxicologie de l'institut de pharmacie de l'Université Libre de Bruxelles (ULB).
- Les milieux de cultures étaient composés du DMEM/high modified (Dublecco's Modified Eagle's Medium) enrichi avec de la glutamine (0,6 mg/ml) et du RPMI 1640 (Roswell Park Memorial Institute). Tous les milieux de culture ont été complétés avec une solution de Pen-Strep (0,2 UI/ml de pénicilline et 0,2 µg/ml de streptomycine), une solution de sulfate de kanamycine (0,1mg/ml) et de FBS (foetal bovine sérum) (5 % v/v)

➤ **Matériels de laboratoire**

- une hotte à flux laminaire avec lampe ultra-violet LN 120 nüve
- un incubateur à CO₂ avec filtre HEPA de marque Purcell
- un lecteur de microplaques ELx808 de marque Biotek couplé à un ordinateur piloté par un logiciel GEN 5 1.07
- un agitateur de plaques Heidolph titrimax 1000
- un microscope à phase inversé
- un bain marie de marque Nüve
- une balance analytique

- des plaques multipuits (96 puits) Falcon à fond rond et plat
- des flasques de culture cellulaire Falcon (25 mL/ 12,5 cm² et 250 mL/ 80 cm²)
- des tubes polypropylène fond conique de 15 ml et 50 ml (Falcon[®])
- des pipettes sérologiques stériles à usage unique de 5 et 10 mL
- des micropipettes électroniques et manuelles de marque Eppendorf
- des tips

➤ **Solvants et substances du test de cytotoxicité**

- Sel de Tétrazolium [3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl) – 2,5 diphenyltétrazolium bromure]
- diméthylsulfoxyde (DMSO)
- phosphate buffered saline solution (PBSS)

➤ **Solvants et substances du test antiradicalaire**

- 1-1- diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) (VWR, France) ;
- Quercétine (VWR, France) ;
- méthanol ;
- diméthylsulfoxyde (DMSO).

II.4 MÉTHODE D'ÉTUDE

II.4.1 Méthode d'étude phytochimique

a- Méthode d'extraction

- Extraction par épuisement successif de la poudre végétale (200 g poudre de feuilles et 200 g poudre de rameaux)
 - Ether de pétrole
 - Dichlorométhane
 - Dichlorométhane - méthanol 50-50 v/v
 - Méthanol à 96 °C
- Extraction aqueuse totale de la poudre végétale (100 g poudre de feuilles et 70,3 g poudre de rameaux)

- Eau distillée

✓ Extraction par épuisement successif

La méthode d'extraction était un épuisement successif de la drogue végétale avec des solvants de polarité croissante.

Trois cent grammes (300 g) de la drogue végétale (la poudre des feuilles ; poudre des rameaux) ont été réparties en deux, soient 200 g pour un épuisement successif et 100 g destinés à une extraction aqueuse totale.

Les 200 g ont été mis à percoler avec une solution d'éther de pétrole pour un volume total de 1390 mL. L'extrait étherique a été concentré sous vide au rotavapor et le marc résiduel après épuisement a été séché à la température ambiante du laboratoire puis percolé avec une solution de dichlorométhane pour un volume total de 1700 mL conformément à la technique citée ci-dessus permettant d'obtenir un extrait dichloromethanoïque, Le marc résiduel a été séché à la température ambiante du laboratoire puis percolé avec une solution de mélange dichlorométhane-méthanol : 50:50 v/v pour un volume total de 1620 mL conformément à la technique citée ci-dessus, permettant d'obtenir un extrait dichloromethanoïque /méthanolique. Le marc résiduel a été séché à la température ambiante du laboratoire puis percolé avec une solution de méthanol de volume 1790 mL, l'extrait méthanolique a été obtenu par la méthode citée ci-dessus.

✓ Extraction aqueuse totale

Cent grammes (100 g) de poudres de feuilles et 70,3 g de poudres de rameaux ont été mis à macérer dans un percolateur pendant 24 h avec 1 litre d'eau distillée; le filtrat obtenu a été lyophilisé.

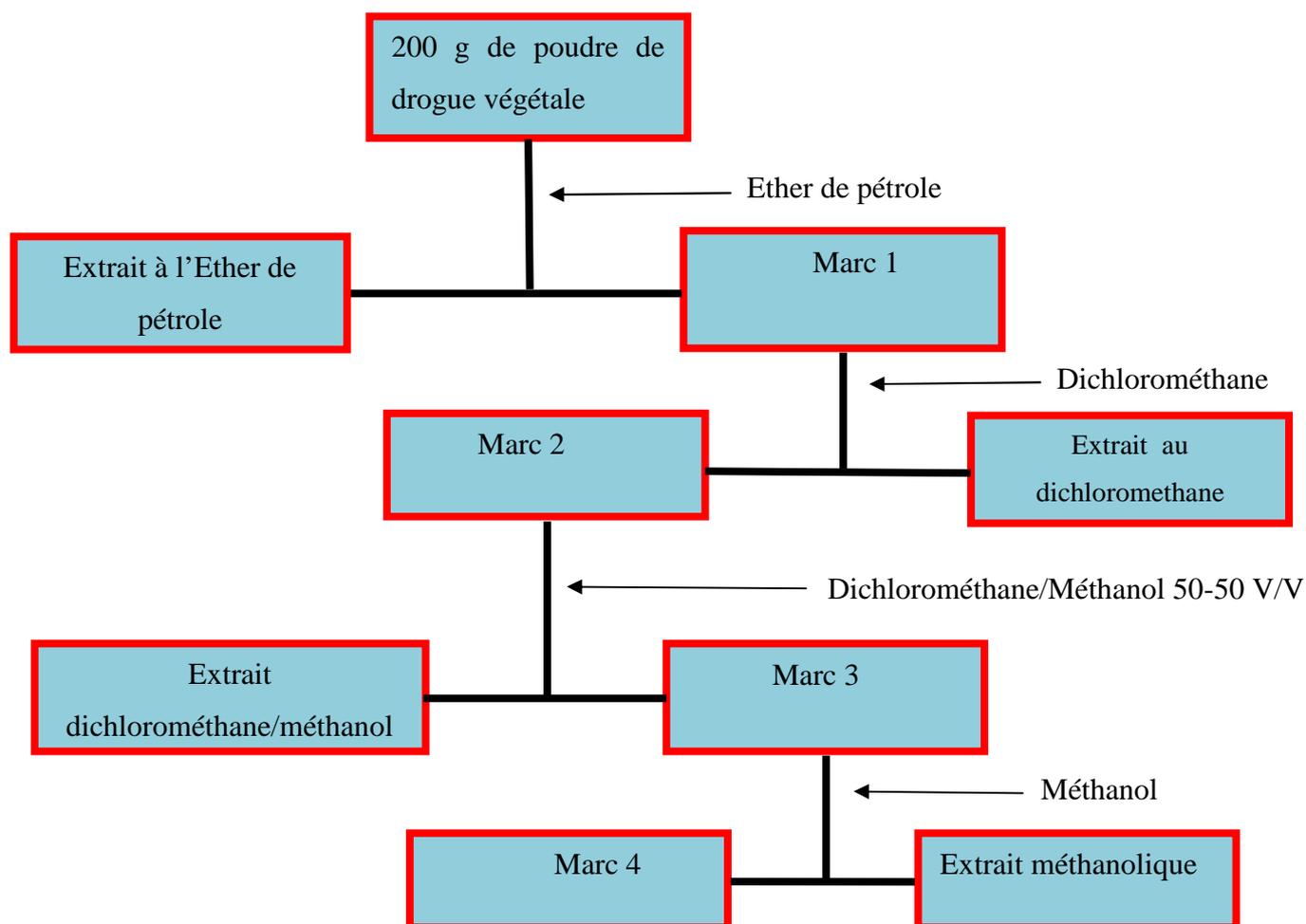


Figure 8 : Extraction par des solvants de polarité croissante de la poudre de feuilles et de rameaux de *S. persica*



Figure 9 : Photo du lyophilisateur utilisé pour sécher les extraits aqueux de *S. persica*



Figure 10 : Photo du Rotavapor utilisé pour concentrer sous vide les extraits de *S. persica*

b- Rendement des extractions

Le rendement de l'extraction (%) a été estimé selon la formule :

$$r = (m/M) \times 100$$

M = prise d'essai pour l'extraction

m = masse d'extrait obtenu

c- Caractérisation phytochimique

La caractérisation phytochimique des extraits a pour but de mettre en évidence les différents groupes chimiques présents dans chacun des extraits. Elle a été réalisée selon la méthode classique de Ciulei (1982) sur les extraits bruts.

Les tests de caractérisation chimique suivants ont été utilisés :

- le test de Shibata pour l'identification des flavonoïdes ;
- le test de Dragendorff et de Meyer pour l'identification des alcaloïdes (bases et sels) ;
- le test de Liebermann-Burchard pour l'identification des aglycones triterpéniques et stéroïdiques ;
- les réactions d'identification des coumarines, des saponosides et des polyphénols (tanins).

c.1. Caractérisation des composés apolaires

Pour la réalisation des tests de caractérisation, les extraits bruts ont été redissous dans les solvants d'extraction d'origine.

c.1.1. Caractérisation des alcaloïdes bases

Les tests de Dragendorff et de Meyer ont été utilisés : 5 mL des extraits au dichlorométhane ont été évaporé à sec et le résidu a été dissous dans 2 mL d'acide chlorhydrique 2 %. La solution a été filtrée sur coton et le filtrat utilisé pour faire réagir les réactifs de Dragendorff et de Meyer dans deux tubes à essai 1 et 2.

L'apparition d'un précipité jaune blanchâtre ou d'une opalescence en présence de 2 à 3 gouttes du réactif de Meyer témoigne de la présence des alcaloïdes bases dans l'extrait.

Le développement d'un précipité rouge orangé en présence de 2 à 3 gouttes du réactif de Dragendorff justifie la présence d'alcaloïdes sels dans l'extrait.

Les même tests ont été aussi effectués avec 5 mL des extraits à l'éther de pétrole.

c.1.2. Caractérisation des coumarines

Deux (02) mL des extraits au dichlorométhane ont été dissous dans 2 mL d'eau distillée chaude. Après refroidissement, 0,5 mL d'ammoniaque 10 % a été ajouté suivi d'une observation sous la lampe ultraviolet ($\lambda = 365$ nm).

L'apparition d'une fluorescence intense bleu verdâtre ou violette indique la présence des coumarines.

Le même test a été effectué avec 2 mL des extraits à l'éther de pétrole.

c.1.3. Caractérisation des aglycones triterpéniques et stéroïdiques

La réaction de Liebermann-Burchard a été utilisée :

Cinq (05) mL des extraits au dichlorométhane ont été dissous dans 0,25 mL d'anhydride acétique et 0,25 mL de dichlorométhane. La solution a été transférée dans un tube à essai et 1 mL d'acide sulfurique a été ajouté au sommet du liquide.

La réaction est positive lorsqu'un anneau rouge brun ou violet brun se forme séparant les deux liquides. Le surnageant devient bleu verdâtre ou violet en cas de présence de stérols et de triterpènes.

La même réaction a été effectuée avec 5 mL des extraits à l'éther de pétrole.

c.2. Caractérisation des composés moyennement polaires

c.2.1. Caractérisation des alcaloïdes sels

Cinq (05) mL des extraits au dichlorométhane/méthanol 50 : 50 v/v ont été ajoutés à 10 mL d'acide chlorhydrique 2 % . La solution a été filtrée sur du coton hydrophile puis alcalinisée à pH = 8-9 par de l'ammoniaque à 10 % . Les tests de Dragendorff et de Meyer ont été appliqués aux solutions obtenues.

c.2.2. Caractérisation des flavonoïdes

Cinq (05) mL des extraits dichlorométhane/méthanol 50 : 50 v/v ont été dissous dans 2 mL d'éthanol 50%. La solution obtenue a été légèrement chauffée dans un bain-marie chaud. Des fragments de tournures de magnésium (2 à 3) ont été ajoutés à la solution et 3 gouttes d'acide chlorhydrique concentré ont été aussi ajoutées. La solution a été laissée à barboter dans le bain-marie. L'apparition d'une coloration rouge (flavonols) ou orange (flavanones) indique la présence de flavonoïdes.

c.3. Caractérisation des composés polaires

c.3.1 Caractérisation des saponosides

Deux (02) mL de l'extrait méthanoliques et 2 mL de l'extrait aqueux ont été dilués chacun de moitié avec de l'eau distillée dans un tube à essai et agités pendant 15 minutes au vortex. L'apparition d'une colonne de mousse d'au moins 1 cm de haut persistant pendant au moins 15 minutes indique la présence de saponosides.

c.3.2. Caractérisation des tanins

Un (01) mL de l'extrait aqueux et 1 mL de l'extrait méthanolique ont été dilués chacun dans 1mL d'eau distillée et additionnés de 3 gouttes d'une solution diluée de trichlorure de fer (FeCl₃ 1 %).

L'apparition d'une coloration bleu foncé indique la présence de tanins galliques.

L'apparition d'une coloration vert foncé indique la présence de tanins catéchiques.

Une coloration hybride indique la présence de tanins galliques et catéchiques.

II.4.2. Méthode d'étude pharmacologique

a. Tests *in vitro* de l'activité antioxydante par la méthode au DPPH

L'activité antiradicalaire a été évaluée *in vitro* par le test de réduction du DPPH qui évalue la capacité de l'extrait à céder des atomes d'hydrogène.

➤ **Principe de la réaction**

Le 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl ou le α - diphényl - β -picrylhydrazyl (DPPH) est un radical libre stable, de couleur violet foncé avec une absorption maximale autour de 520 nm. Lorsqu'il est en présence d'une substance pourvoyeuse d'atome d'hydrogène, il se réduit et devient jaune. Le changement de la coloration du violet au jaune est proportionnel à l'activité antioxydante



Z^{\bullet} : DPPH non réduit AH : corps réducteur ZH : DPPH réduit A^{\bullet} : Corps oxydé

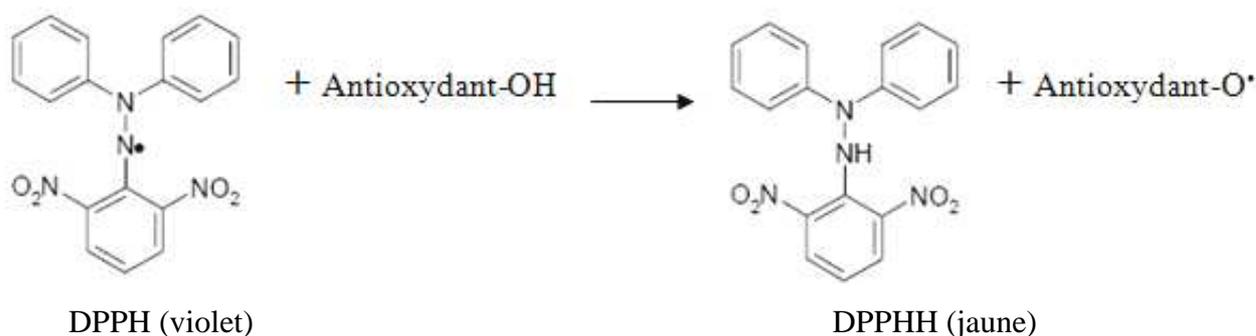


Figure 11 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.

➤ **Protocole expérimental**

Le mélange réactionnel contenait 0,9 mL d'une solution methanolique de DPPH (0,004 %) et 0,1 mL des différents extraits de plante à des concentrations croissantes. Les drogues ont été dissoutes dans du DMSO. Après une incubation de 30 minutes à la température ambiante et à l'abri de la lumière, la densité optique a été lue à 517 nm contre un blanc constitué d'un mélange de méthanol (0,9 mL) et 0,1 mL de l'extrait. Un contrôle négatif (0,9 mL de DPPH + 0,1 mL du DMSO) a été également utilisé. La quercétine a été utilisée comme antioxydant de référence.

Tableau I : Composition du mélange réactionnel du test de réduction du DPPH (mL)

Substances (mL)	Test	Contrôle négatif	Blanc du contrôle négatif	Blanc du test
DPPH	0,9	0,9	-	-
Extrait/référence	0,1	-	-	0,1
Méthanol	-	-	0,9	0,9
DMSO	-	0,1	0,1	-
Total	1	1	1	1

L'absorbance mesurée a été convertie en pourcentage d'activité antioxydante calculée selon la formule suivante :

$$\text{Activité antioxydante (\%)} = \frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100$$

A_c : absorbance du contrôle négatif ; **A_s** : absorbance corrigée du test

b. La culture cellulaire

Les lignées cellulaires étaient conservées dans de l'azote liquide et ont été cultivées durant deux à trois semaines avant le début des tests. Les lignées cellulaires ont été cultivées dans des milieux de culture DMEM et RPMI. Ces milieux ont été enrichis en glutamine (0,6 mg/mL) et en sérum de veau fœtal (5 % v/v). Un mélange d'antibiotique a été ajouté au milieu : pénicilline (0,2 UI/mL), streptomycine (0,2 µg/mL), kanamycine (0,1 mg/mL). Les cellules ont été cultivées en monocouche dans des flasques de culture cellulaire. Les milieux de culture étaient renouvelés le lendemain de la mise en culture et ensuite toutes les 48 heures.

Les boîtes de culture étaient maintenues dans un incubateur humide à 37 °C, avec 5 % de CO₂ jusqu'à confluence des cellules (quand les cellules occupent plus de 80 % de la surface du flasque).

Le milieu de culture était alors éliminé et une solution de trypsine (0,05 % m/v) était introduite dans les flasques de culture pour les rincer (deux fois) et permettre de détacher les cellules de leur support. L'effet de la trypsine était stoppé en rajoutant du milieu de culture dans les flasques. Selon la densité cellulaire obtenue, une fraction de la suspension cellulaire (1 à 4 mL selon la taille des flasques) était remise dans d'autres flasques et incubée dans les conditions précédentes.

c. Le test antiprolifératif

Le test antiprolifératif permet la recherche d'un effet antiprolifératif sur un type cellulaire par une méthode évaluant la croissance cellulaire. Son but est de déterminer la concentration inhibitrice 50 % (IC₅₀) qui est la concentration qui inhibe de moitié la prolifération cellulaire globale.

Nous avons étudié l'effet antiprolifératif de notre extrait sur le taux de croissance globale de trois lignées cellulaires cancéreuses par le test colorimétrique MTT. Ce test fait partie des méthodes fondées sur des perturbations de la perméabilité des cellules et utilise le sel de tétrazolium MTT qui est un colorant nécessitant une étape de métabolisation une fois avoir pénétré dans les cellules vivantes.

Le test colorimétrique MTT a été décrit par Mosmann (1983) puis modifié par Carmichael et collaborateurs (1987). Il est basé sur la mesure du nombre de cellules vivantes, métaboliquement actives et capables de réduire l'anneau de tétrazolium contenu dans le sel de tétrazolium par leur succinate déshydrogénase mitochondriale en cristaux de Formazan violets. L'intensité de cette coloration est proportionnelle au nombre de cellules vivantes présentes lors du test et est quantifié par spectrophotométrie en utilisant un lecteur de microplaques à 490 nm.

Avant le début du test les cellules ont été comptées en utilisant le bleu Trypan qui est un colorant vital qui colore seulement les cellules mortes. La cellule de Neubauer a servi pour le comptage des cellules vivantes sous un microscope à phase inversée.

Les lignées cellulaires ont étéensemencées au jour J0 dans des plaques de 96 puits dont 200 μ L de suspension cellulaire par puit (à raison de 10 000 cellules / mL de milieu de culture) et incubées durant 24 heures pour assurer une adhésion adéquate des cellules. La première rangée de la plaque multi puits a été utilisée comme blanc et pour ce fait ne contenait que le milieu de culture.

A J1, une autre plaque de 96 puits (à fond rond) a été utilisée pour faire les dilutions nécessaires (chaque condition expérimentale a été analysée en quadruplicat, avec dix huit concentrations, de 500 μ g/ml à 0,0038 μ g/ml). Les concentrations des différents extraits étaient de 2,5 mg/mL m/v. Une fraction de DMSO (pas plus de 1 % v/v) était ajoutée sur les extraits pour une meilleure dissolution.

Les extraits ont été ainsi mis en contact avec les cellules et remises en incubation pendant 72 heures. Les rangées 5 et 9 de la plaque ont servi de contrôles et ne contenaient donc que des cellules vivantes.

A J4, le sel de tétrazolium dissout dans du PBS à une concentration de 0,5 mg/mL est introduit dans les 96 puits (200 μ L) après avoir versé le surnageant. Les plaques ont été incubées pendant 2 heures puis débarrassées de leur surnageant. 200 μ L de DMSO ont été introduits dans les puits afin de dissoudre les cristaux de Formazan. Les plaques ont été agitées pendant environ 30 minutes puis lues au spectrophotomètre à 490 nm.

Des courbes dose-réponse (concentration en fonction du pourcentage d'inhibition) par le logiciel PRISM (Graph Pad 5.0) sont réalisées pour chaque extrait sur les lignées cellulaire A549, LoVo et MCF7. Ces courbes nous ont permis de calculer l'IC₅₀ de chaque extrait.

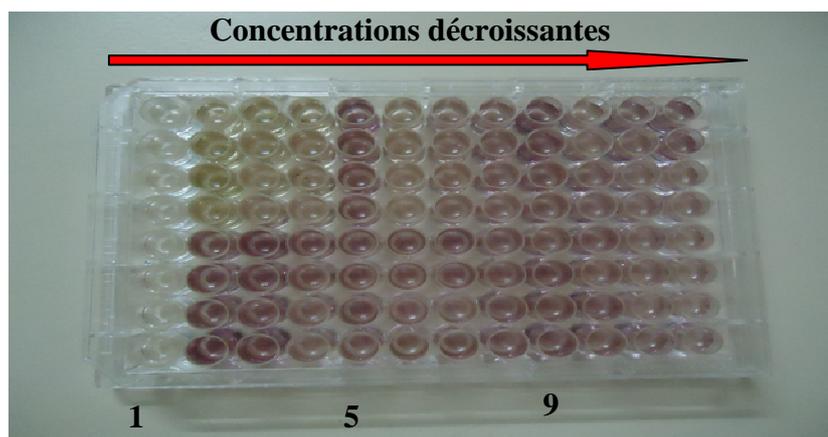


Figure 12 : Illustration d'une plaque 96 puits dans laquelle un test colorimétrique MTT a été réalisé.

Les puits 1 correspondent aux blancs, les puits 5 et 9 correspondent aux controls négatifs.

4.2.3 Analyse statistique

Les données ont été traitées au moyen des logiciels Microsoft Office Excel 2010 et Graph Pad Prisme version 5.0.

Les résultats ont été analysés à l'aide du test non paramétrique de MANN WHITNEY pour la comparaison de plusieurs moyennes.

Un seuil $p < 0,05$ a été considéré comme statistiquement significatif.

III. RÉSULTATS

III. RESULTATS

III.1 RESULTATS PHYTOCHIMIQUES

III.1.1. Rendements d'extraction

Le tableau II présente les rendements d'extraction obtenus après épuisement successif par des solvants de polarité croissante et par extraction aqueuse totale. Ces solvants selon leur polarité ont permis d'obtenir successivement des extraits contenant des composés apolaires liposolubles, des composés moyennement polaires et des substances polaires hydrosolubles.

Tableau II : Rendement d'extraction de la poudre de drogue de feuilles et rameaux

Solvants d'extraction	Rendement (%)	
	Feuilles	Rameaux
Ether de pétrole	1.45	0.55
Dichlorométhane	1.2	0.55
Dichlorométhane/méthanol 50-50 v/v	2.37	Non déterminé
méthanol	3.47	4.7
Eau distillée	7.2	5.68

Les extraits de feuilles de façon générale présentent un meilleur rendement que ceux des rameaux.

Le meilleur rendement a été obtenu avec les extraits aqueux, aussi bien pour les feuilles que pour les rameaux, suivie des extraits méthanoliques.

III.1.2 Les principaux groupes chimiques caractérisés

Les résultats obtenus après caractérisation en tube des principaux groupes chimiques des extraits de feuilles et de rameaux sont consignés dans le tableau III. Cette caractérisation a été faite selon la méthode classique de Ciulei. (1982).

Tableau III : Familles chimiques mises en évidence dans les différents extraits

Solvants d'extraction	Groupes chimiques	Drogues	
		Rameaux	Feuilles
Ether de pétrole	Stérols et triterpènes	+++	+++
	Alcaloïdes bases	-	-
	Coumarines	+	+
Dichlorométhane	Stérols et triterpènes	++	++
	Alcaloïdes bases	-	-
	Coumarines	++	++
Dichlorométhane- méthanol 50:50	Alcaloïdes sels	Non réalisés	+
	Flavonoïdes	Non réalisés	++
Méthanol	Saponosides	++	++
	Tanins	+++	+++
Eau distillée	Saponosides	++	++
	Tanins	+++	++

(+++): Réaction franchement positive

(++): Réaction moyennement positive

(+): Traces

(-): Absence

On note au regard de ce tableau, que les stérols, les triterpènes et les tanins sont très abondants aussi bien dans les rameaux que dans les feuilles. Les flavonoïdes et les saponosides sont présents mais en moyenne quantité, les alcaloïdes sels sont en traces. Cependant nous

n'avons pas décelé d'alcaloïdes bases dans les rameaux et les feuilles, aussi bien pour l'extrait éther de pétrole que pour l'extrait dichlorométhane.

III.2 RÉSULTATS DES TESTS PHARMACOLOGIQUES

III.2.1 Evaluation de l'activité antiradicalaire des extraits de poudre de *Salvadora persica*.

Nous avons procédé par la méthode qui utilise le DPPH (diphényl picryl-hydrazyl) comme un radical libre relativement stable.

L'extrait méthanolique des rameaux a présenté le meilleur effet antiradicalaire avec une IC_{50} de l'ordre $6,5 \pm 0,1 \mu\text{g/mL}$ suivi de l'extrait aqueux des feuilles avec une IC_{50} de $45,30 \pm 0,53 \mu\text{g/mL}$.

L'extrait au dichlorométhane/méthanol et à l'éther de pétrole des feuilles et l'extrait à l'éther de pétrole des rameaux ont donné chacun une IC_{50} supérieure à $1000 \mu\text{g/mL}$.

Nous n'avons pas effectué d'évaluation dose dépendante pour l'extrait dichlorométhane/méthanol des rameaux.

A des fins comparatives, la quercétine, un antioxydant standard, a été testée dans les mêmes conditions que nos différents extraits. La concentration inhibitrice 50 % (IC_{50}) a été de $4,50 \pm 0,14 \mu\text{g/mL}$. Les tableaux IV et V résument les résultats du test antiradicalaire au DPPH des différents composés testés.

EFFET ANTI-OXYDANT DE L' EXTRAIT AQUEUX DES RAMEAUX

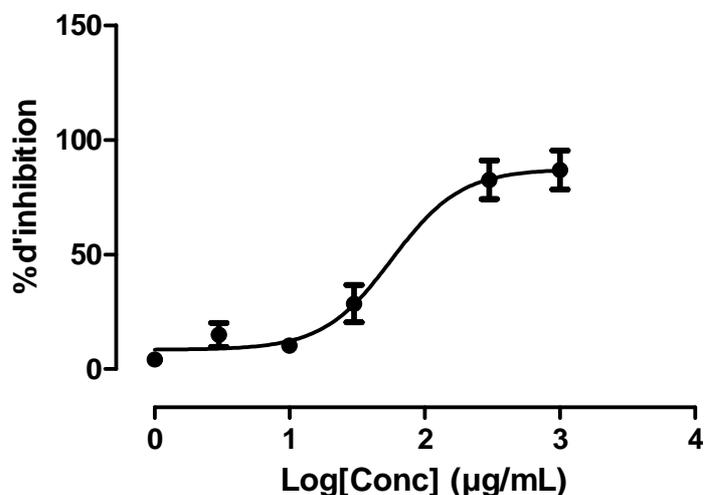


Figure 13 : Courbe représentant l'effet antiradicalaire de l'extrait aqueux des rameaux de *Salvadora persica*.

Le pourcentage de reduction du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait a été mesuré par le test colorimétrique. Chaque évaluation a été faite en triple et les données présentées sont des moyennes de ces 3 déterminations \pm leur écart types.

EFFET ANTIOXYDANT DE L'EXTRAIT AQUEUX DES FEUILLES

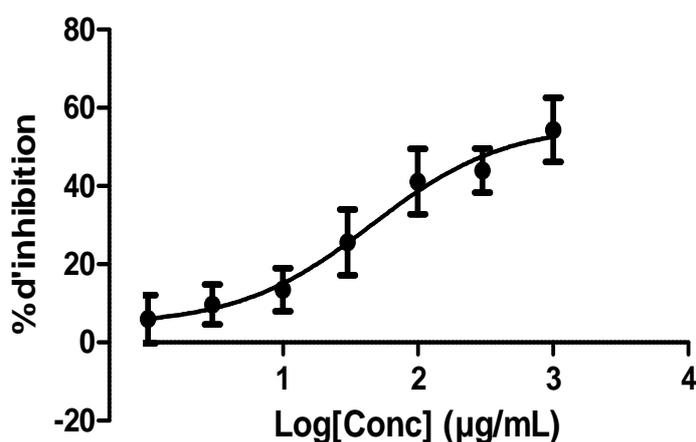


Figure 14 : Courbe représentant l'effet antiradicalaire de l'extrait aqueux des feuilles de *Salvadora persica*.

Le pourcentage de reduction du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait a été mesuré par le test colorimétrique. Chaque évaluation a été faite en triple et les données présentées sont des moyennes de ces 3 déterminations \pm leur écart types.

EFFET ANTIOXYDANT DE L'EXTRAIT DCM DES FEUILLES

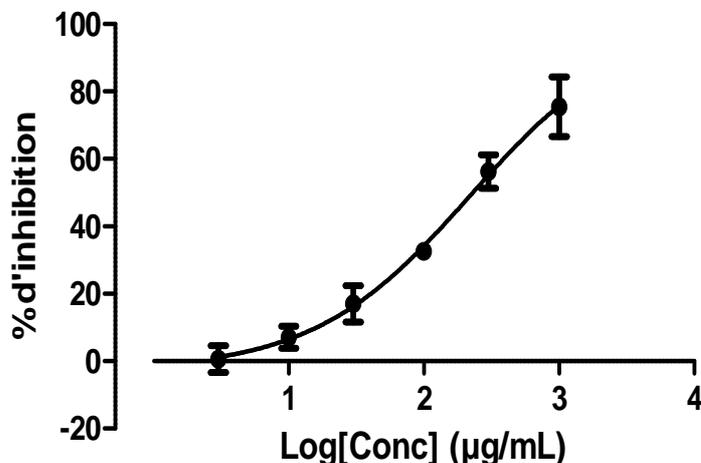


Figure 15 : Courbe représentant l'effet antiradicalaire de l'extrait Dichlorométhane des feuilles de *Salvadora persica*.

Le pourcentage de réduction du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait a été mesuré par le test colorimétrique. Chaque évaluation a été faite en triple et les données présentées sont des moyennes de ces 3 déterminations \pm leur écart types.

EFFET ANTIOXYDANT DE L'EXTRAIT DCM /MeOH DES FEUILLES

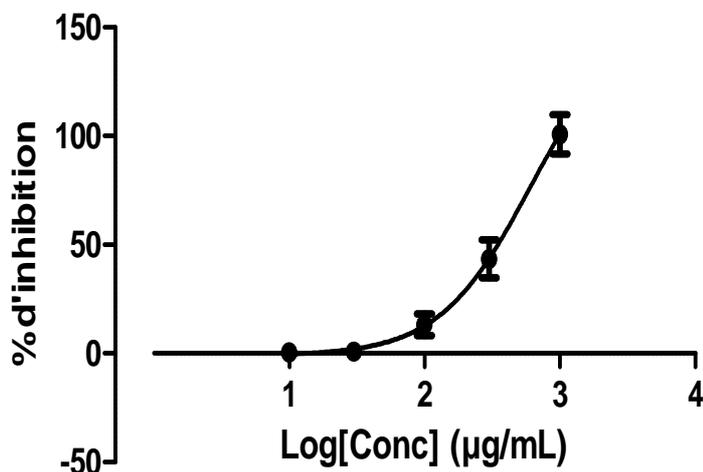


Figure 16 : Courbe représentant l'effet antiradicalaire de l'extrait Dichlorométhane /Méthanol des feuilles de *Salvadora persica*.

Le pourcentage de réduction du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait a été mesuré par le test colorimétrique. Chaque évaluation a été faite en triple et les données présentées sont des moyennes de ces 3 déterminations \pm leur écart types.

EFFET ANTIOXYDANT DE L'EXTRAIT DCM DES RAMEAUX

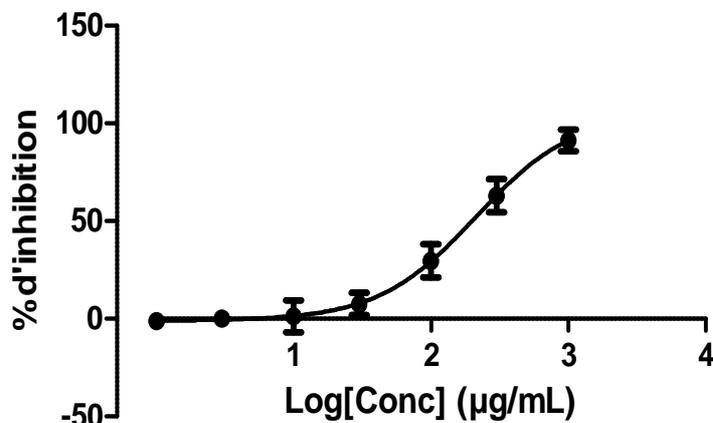


Figure 17 : Courbe représentant l'effet antiradicalaire de l'extrait Dichlorométhane des rameaux de *Salvadora persica*.

Le pourcentage de réduction du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait a été mesuré par le test colorimétrique. Chaque évaluation a été faite en triple et les données présentées sont des moyennes de ces 3 déterminations \pm leur écart types.

EFFET ANTIOXYDANT DE L'EXTRAIT MeOH DES FEUILLES

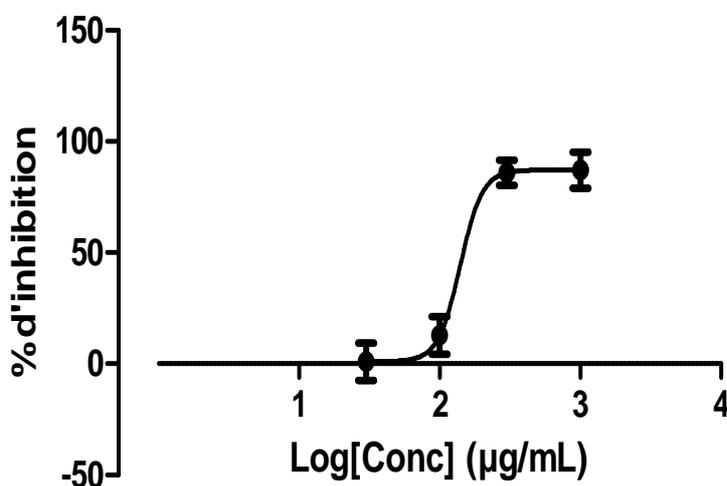


Figure 18 : Courbe représentant l'effet antiradicalaire de l'extrait Méthanolique des feuilles de *Salvadora persica*.

Le pourcentage de réduction du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait a été mesuré par le test colorimétrique. Chaque évaluation a été faite en triple et les données présentées sont des moyennes de ces 3 déterminations \pm leur écart types.

EFFET ANTIOXYDANT DE L'EXTRAIT MeOH DES RAMEAUX

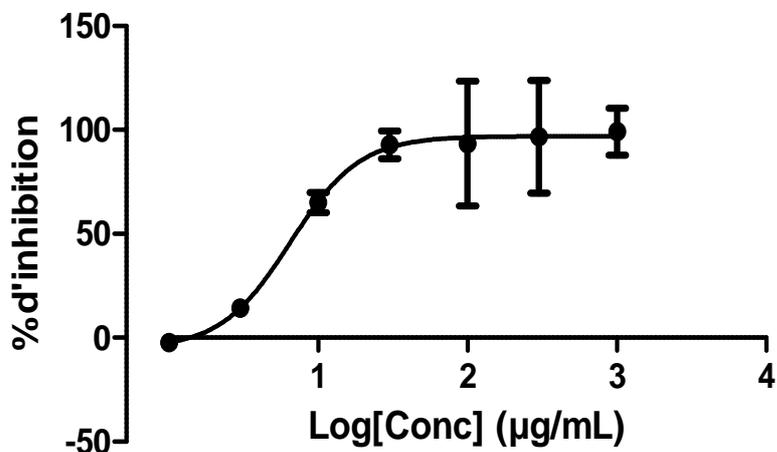


Figure 19 : Courbe représentant l'effet antiradicalaire de l'extrait Méthanolique des rameaux de *Salvadora persica*.

Le pourcentage de reduction du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait a été mesuré par le test colorimétrique. Chaque évaluation a été faite en triple et les données présentées sont des moyennes de ces 3 déterminations \pm leur écart types.

QUERCETINE

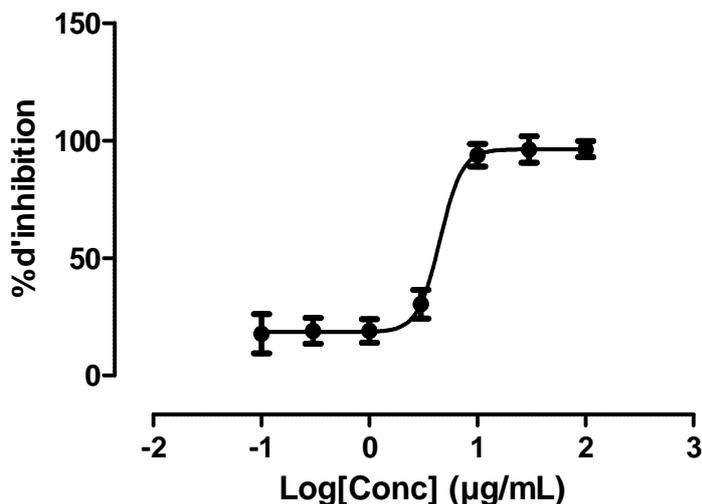


Figure 20 : Courbe représentant l'effet antiradicalaire de la quercétine utilisée comme référence.

Le pourcentage de reduction du DPPH en fonction de la concentration de la quercétine a été mesuré par le test colorimétrique. Chaque évaluation a été faite en triple et les données présentées sont des moyennes de ces 3 déterminations \pm leur écart types.

Tableau IV : Tableau récapitulatif des effets antiradicalaires des extraits de poudres des feuilles de *Salvadora persica*.

Ces valeurs correspondent à la concentration pouvant piéger 50 % des radicaux libre présent dans la solution de DPPH, après 30 minutes d'incubation en présence des composés testés.

EXTRAITS DE POUDRE DE FEUILLES	IC ₅₀ (µg/mL)	SEM (µg/mL)
Ether de pétrole	> 1000	
Dichlorométhane	219,80	± 7,10
Dichlorométhane/Méthanol 50:50	> 1000	
Méthanol	239,30	± 1,29
Aqueux	45,30	± 0,53

Les valeurs représentent la moyenne de 3 essais ± SEM

Tableau V : Tableau récapitulatif des effets antiradicalaires des extraits de poudres des rameaux de *Salvadora persica*.

Ces valeurs correspondent à la concentration pouvant piéger 50 % des radicaux libre présent dans la solution de DPPH, après 30 minutes d'incubation en présence des composés testés.

EXTRAIT DES POUDRES DE RAMEAUX	IC ₅₀ (µg/mL)	SEM (µg/mL)
Ether de pétrole	>1000	
Dichlorométhane	211,8	± 5,3
Dichlorométhane/Méthanol 50:50	Non déterminée	
Méthanol	6,5	± 0,1
Aqueux	57,16	± 0,35
Quercétine	4,50	± 0,14

Les valeurs représentent la moyenne de 3 essais ± SEM

III.2.2. Evaluation de l'activité antiproliférative des extraits de poudre de *Salvadora persica*

Nous avons évalué l'activité de nos différents extraits sur le taux de croissance globale des lignées de cellules cancéreuses des poumons (A549), du colon (LoVo) et des seins (MCF7) et ce à l'aide du test colorimétrique de cytotoxicité MTT. Il a permis de déterminer, pour chaque extrait testé, les indices IC₅₀ (concentration qui inhibe la croissance de 50 % des cellules) à partir des courbes dose-réponse de cytotoxicité (Figure 21 à 41).

Le tableau VI reprend les résultats du test de cytotoxicité MTT des différents composés testés, sur la lignée cellulaire LoVo ; Ces résultats indiquent que tous les extraits de feuilles et de rameaux ont visiblement des effets antiprolifératifs sur cette lignée cellulaire. Le meilleur résultat sur les LoVo a été obtenu avec les extraits Dichlorométhane /méthanol des feuilles, qui a montré une IC₅₀ de 3,935 ± 0,103 µg/mL suivie de l'extrait à l'ether de pétrole des rameaux avec une IC₅₀ de 6,527 ± 0,223 µg/mL ; Ces extraits montrent ainsi un effet antiprolifératif nettement supérieur à celui de l'étoposide mais sensiblement égal à celui du paclitaxel.

La plus faible activité a été obtenue avec l'extrait méthanolique des feuilles qui a présenté une IC_{50} de $216,8 \pm 2,5 \mu\text{g/mL}$.

Le tableau VII résume les résultats obtenus avec la lignée A549 par le même test ; La meilleure activité a été obtenue avec l'extrait à l'ether de pétrole des rameaux, qui a montré une IC_{50} de $7,106 \pm 3,106 \mu\text{g/mL}$ suivi de l'extrait Dichlorométhane des feuilles avec une IC_{50} de $7,356 \pm 0,557 \mu\text{g/mL}$. Ces activités sont nettement supérieures à celle de l'étoposide mais sensiblement égales à celle du paclitaxel (Tableau IX).

Le tableau VIII résume les résultats obtenus avec la lignée MCF7 par le même test; La meilleure activité est obtenue avec l'extrait methanolique des rameaux avec une IC_{50} égal à $3,6 \pm 0,3 \mu\text{g/mL}$ suivi de l'extrait aqueux des rameaux avec une IC_{50} de $5,834 \pm 0,723 \mu\text{g/mL}$.

Le tableau IX reprend les travaux de Gnoula en 2007, sur les valeurs de IC_{50} (en $\mu\text{g/mL}$), par le test de cytotoxicité MTT de deux molécules anticancéreuses de référence (Paclitaxel et Etoposide), sur les lignées de cellules cancéreuses A549, MCF7 et LoVo.

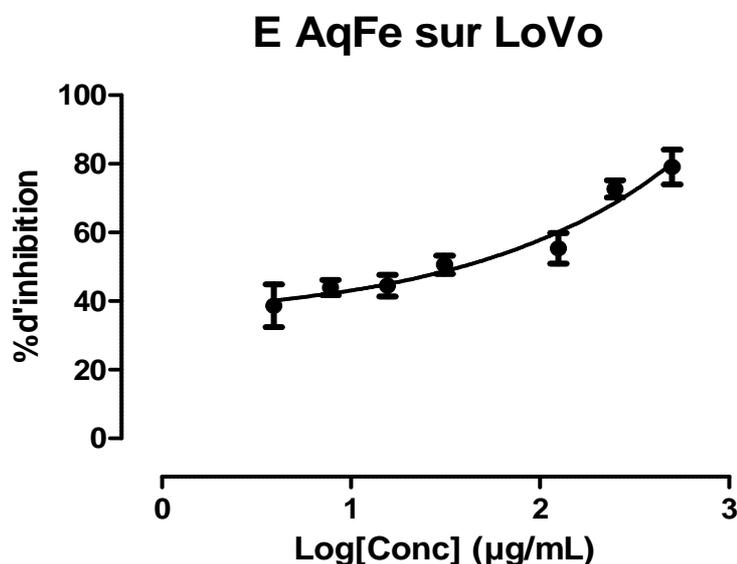


Figure 21 : Courbe montrant l'inhibition de la prolifération cellulaire globale de l'extrait aqueux de feuilles sur les cellules de la lignée LoVo.

L'inhibition de la croissance cellulaire globale a été mesurée par le test colorimétrique MTT. Chaque évaluation a été faite en quadruplicat et les données présentées sont des moyennes de ces 4 déterminations \pm leur écart types.

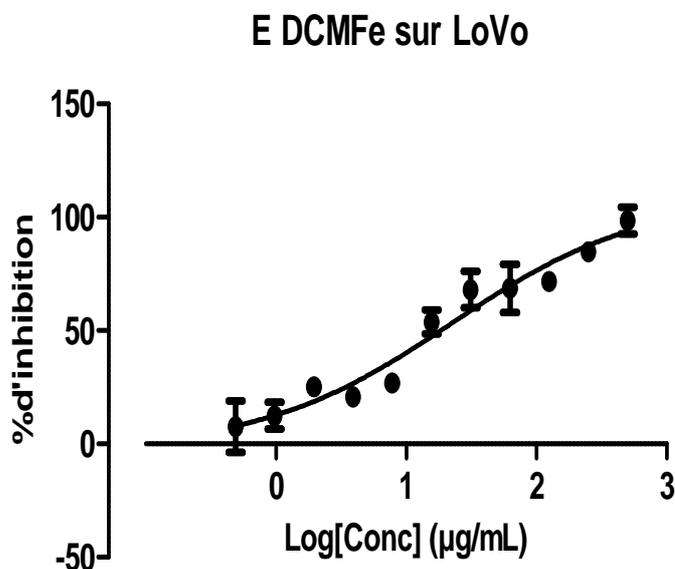


Figure 22 : Courbe montrant l'inhibition de la prolifération cellulaire globale de l'extrait Dichlorométhane de feuilles sur les cellules de la lignée LoVo.

L'inhibition de la croissance cellulaire globale a été mesurée par le test colorimétrique MTT. Chaque évaluation a été faite en quadruplicat et les données présentées sont des moyennes de ces 4 déterminations \pm leur écart types.

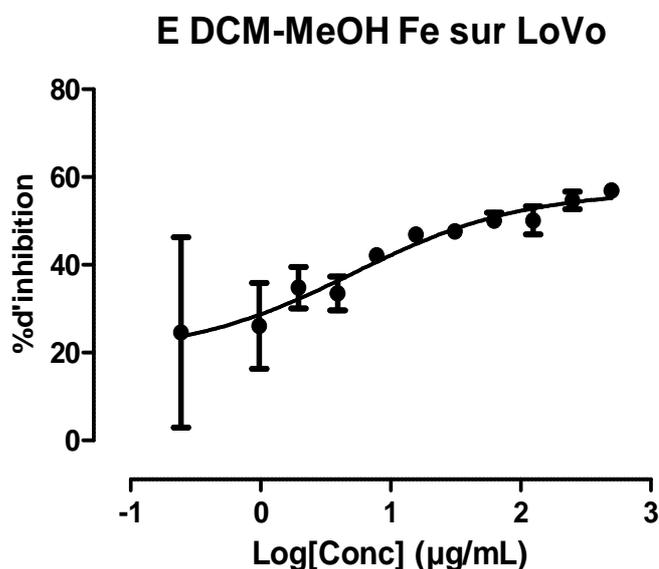


Figure 23 : Courbe montrant l'inhibition de la prolifération cellulaire globale de l'extrait Dichlorométhane/méthanol de feuilles sur les cellules de la lignée LoVo.

L'inhibition de la croissance cellulaire globale a été mesurée par le test colorimétrique MTT. Chaque évaluation a été faite en quadruplicat et les données présentées sont des moyennes de ces 4 déterminations \pm leur écart types.

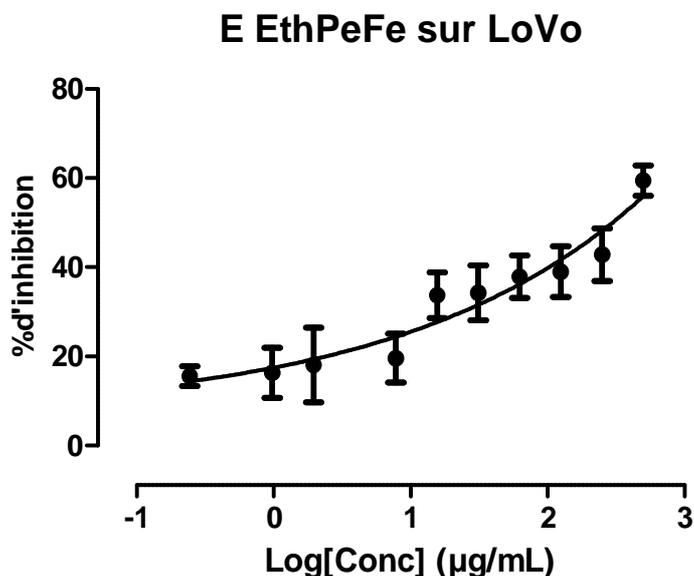


Figure 24 : Courbe montrant l'inhibition de la prolifération cellulaire globale de l'extrait éthérique de pétrole de feuilles sur les cellules de la lignée LoVo.

L'inhibition de la croissance cellulaire globale a été mesurée par le test colorimétrique MTT. Chaque évaluation a été faite en quadruplicat et les données présentées sont des moyennes de ces 4 déterminations \pm leur écart types.

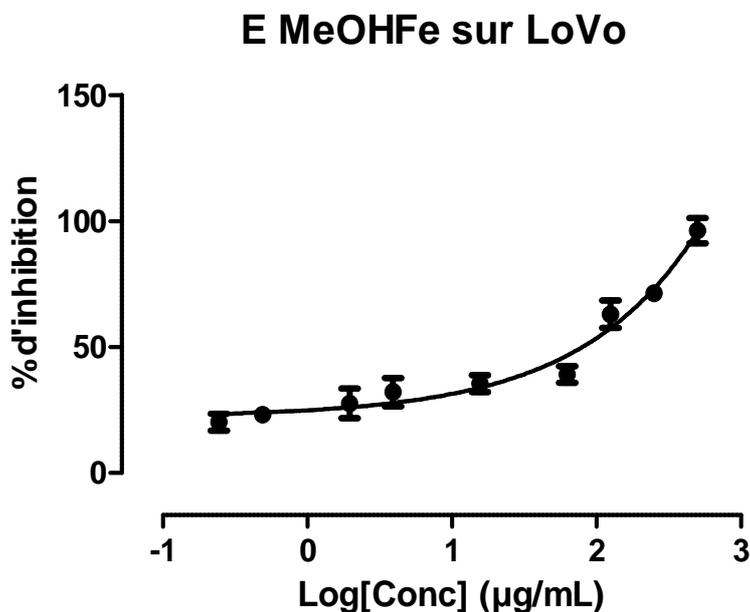


Figure 25 : Courbe montrant l'inhibition de la prolifération cellulaire globale de l'extrait Méthanolique de feuilles sur les cellules de la lignée LoVo.

L'inhibition de la croissance cellulaire globale a été mesurée par le test colorimétrique MTT. Chaque évaluation a été faite en quadruplicat et les données présentées sont des moyennes de ces 4 déterminations \pm leur écart types.

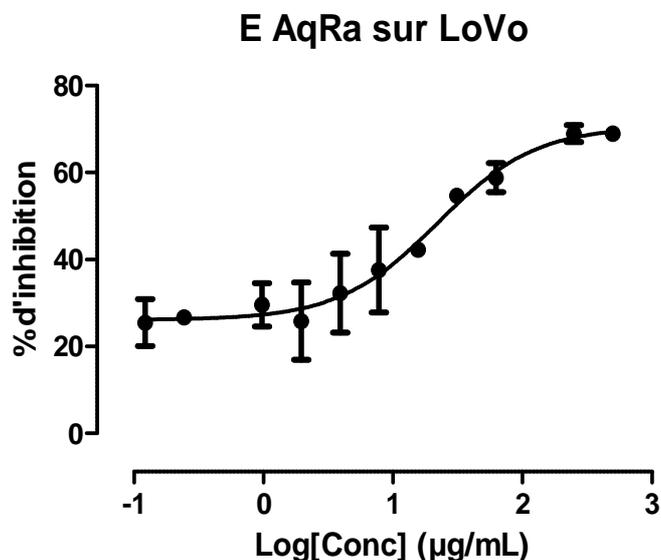


Figure 26 : Courbe montrant l'inhibition de la prolifération cellulaire globale de l'extrait aqueux de rameaux sur les cellules de la lignée LoVo.

L'inhibition de la croissance cellulaire globale a été mesurée par le test colorimétrique MTT. Chaque évaluation a été faite en quadruplicat et les données présentées sont des moyennes de ces 4 déterminations \pm leur écart types.

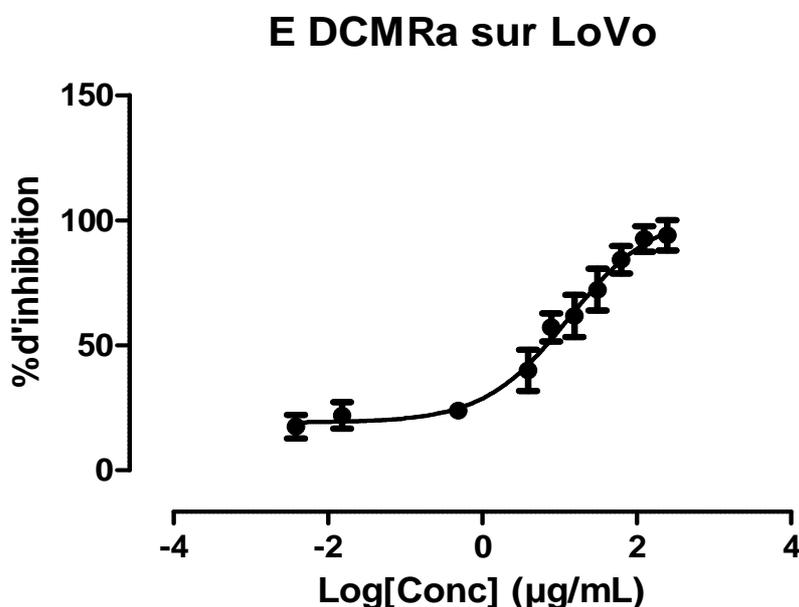


Figure 27 : Courbe montrant l'inhibition de la prolifération cellulaire globale de l'extrait Dichlorométhane de rameaux sur les cellules de la lignée LoVo.

L'inhibition de la croissance cellulaire globale a été mesurée par le test colorimétrique MTT. Chaque évaluation a été faite en quadruplicat et les données présentées sont des moyennes de ces 4 déterminations \pm leur écart types.

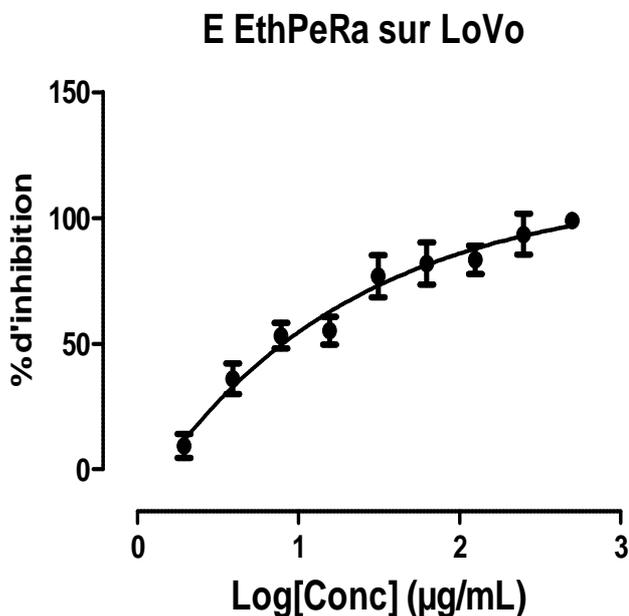


Figure 28 : Courbe montrant l'inhibition de la prolifération cellulaire globale de l'extrait étherique de pétrole de rameaux sur les cellules de la lignée LoVo.

L'inhibition de la croissance cellulaire globale a été mesurée par le test colorimétrique MTT. Chaque évaluation a été faite en quadruplicat et les données présentées sont des moyennes de ces 4 déterminations \pm leur écart types.

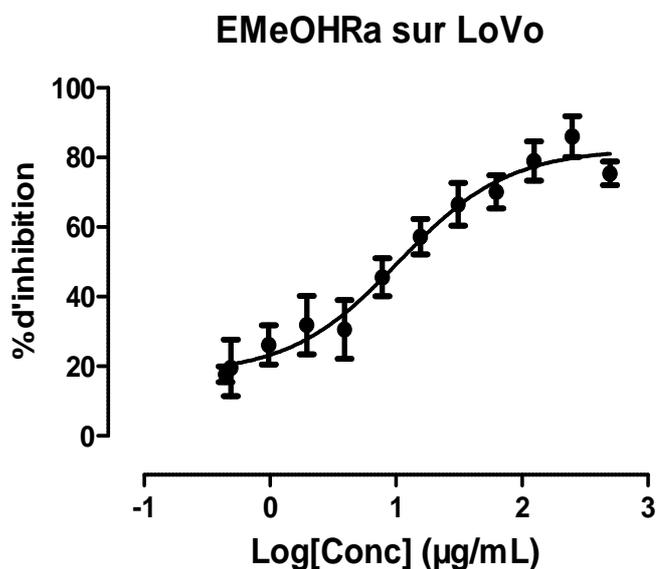


Figure 29 : Courbe montrant l'nhibition de la prolifération cellulaire globale de l'extrait Méthanolique de rameaux sur les cellules de la lignée LoVo.

L'inhibition de la croissance cellulaire globale a été mesurée par le test colorimétrique MTT. Chaque évaluation a été faite en quadruplicat et les données présentées sont des moyennes de ces 4 déterminations \pm leur écart types.

Tableau VI : Valeurs de IC₅₀ (en µg/mL) des extraits de feuilles et de rameaux déterminées par MTT après évaluation de l'effet de ces substances sur la croissance globale des cellules cancéreuse du colon LoVo.

Les valeurs de IC₅₀ correspondent aux concentrations qui réduisent de 50 % la croissance cellulaire globale de la lignée cancéreuse LoVo après 3 jours d'incubation en présence des composés testés.

EXTRAITS TESTES	FEUILLES IC ₅₀ (µg/mL)	RAMEAUX IC ₅₀ (µg/mL)
Ether de pétrole	41,52 ± 12,13	6,527 ± 0,223
Dichlorométhane	17,88 ± 4,42	11,27 ± 2,43
Dichlorométhane/Méthanol 50:50	3,935 ± 0,103	Non déterminée
MeOH	216,8 ± 2,5	8,20 ± 1,78
Aqueux	19,780 ± 4,002	23,17 ± 2,92

Les valeurs représentent la moyenne de 4 essais ± SEM

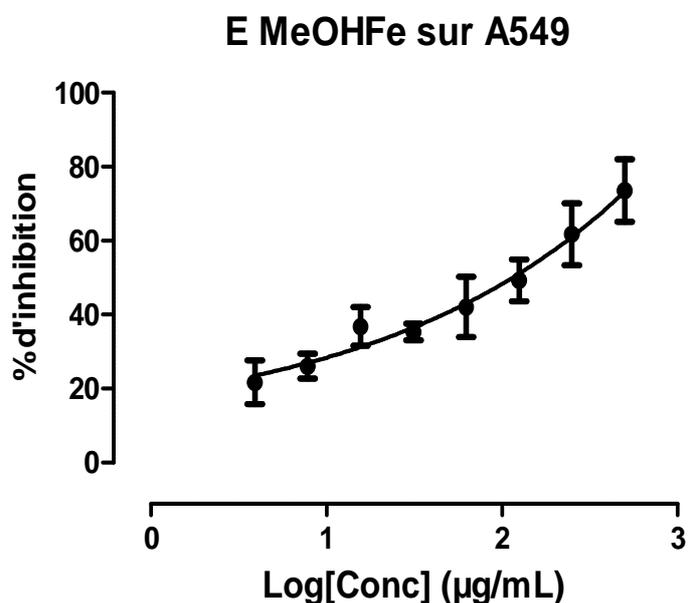


Figure 30 : Courbe montrant l'inhibition de la prolifération cellulaire globale de l'extrait Méthanolique de feuilles sur les cellules de la lignée A549.

L'inhibition de la croissance cellulaire globale a été mesurée par le test colorimétrique MTT. Chaque évaluation a été faite en quadruplicat et les données présentées sont des moyennes de ces 4 déterminations \pm leur écart types.

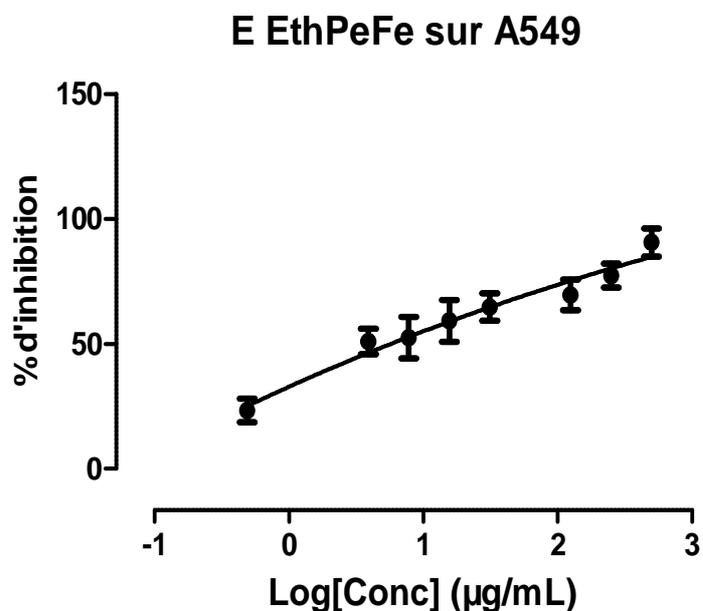


Figure 31 : Courbe montrant l'inhibition de la prolifération cellulaire globale de l'extrait étherique de pétrole de feuilles sur les cellules de la lignée A549.

L'inhibition de la croissance cellulaire globale a été mesurée par le test colorimétrique MTT. Chaque évaluation a été faite en quadruplicat et les données présentées sont des moyennes de ces 4 déterminations \pm leur écart types.

E DCM-MeOHFe sur A549

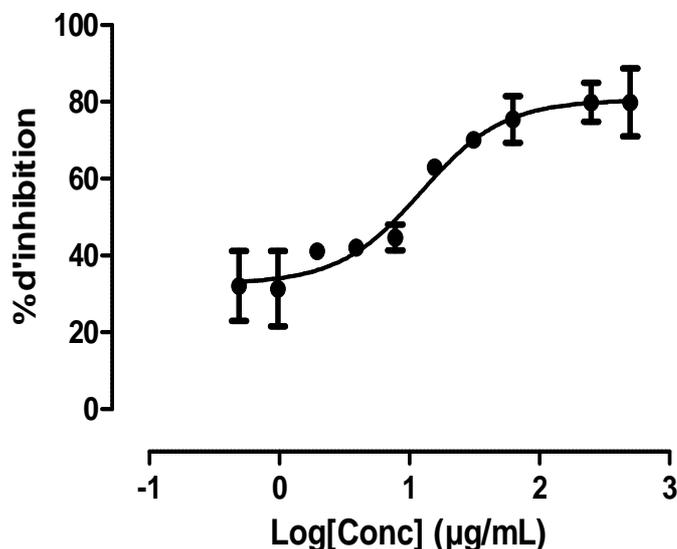


Figure 32 : Courbe montrant l'inhibition de la prolifération cellulaire globale de l'extrait Dichlorométhane/Méthanol de feuilles sur les cellules de la lignée A549.

L'inhibition de la croissance cellulaire globale a été mesurée par le test colorimétrique MTT. Chaque évaluation a été faite en quadruplicat et les données présentées sont des moyennes de ces 4 déterminations \pm leur écart types.

E DCMFe sur A549

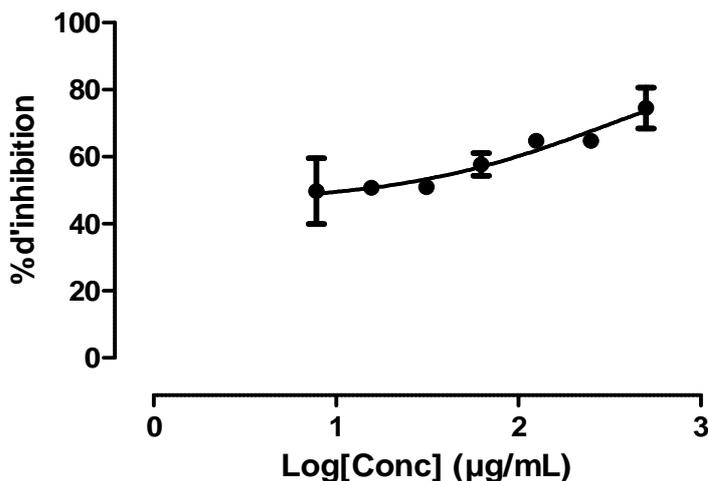


Figure 33 : Inhibition de la prolifération cellulaire globale de l'extrait Dichlorométhane de feuilles sur les cellules de la lignée A549.

L'inhibition de la croissance cellulaire globale a été mesurée par le test colorimétrique MTT. Chaque évaluation a été faite en quadruplicat et les données présentées sont des moyennes de ces 4 déterminations \pm leur écart types.

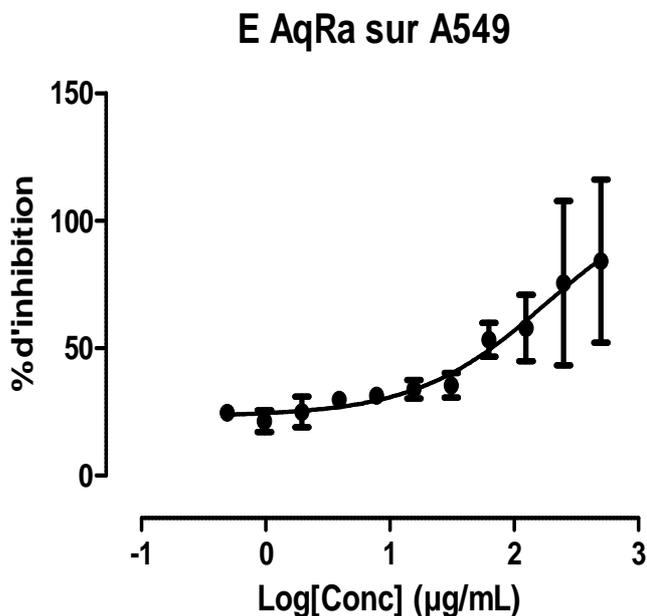


Figure 34 : Courbe montrant l'inhibition de la prolifération cellulaire globale de l'extrait aqueux de rameaux sur les cellules de la lignée A549.

L'inhibition de la croissance cellulaire globale a été mesurée par le test colorimétrique MTT. Chaque évaluation a été faite en quadruplicat et les données présentées sont des moyennes de ces 4 déterminations \pm leur écart types.

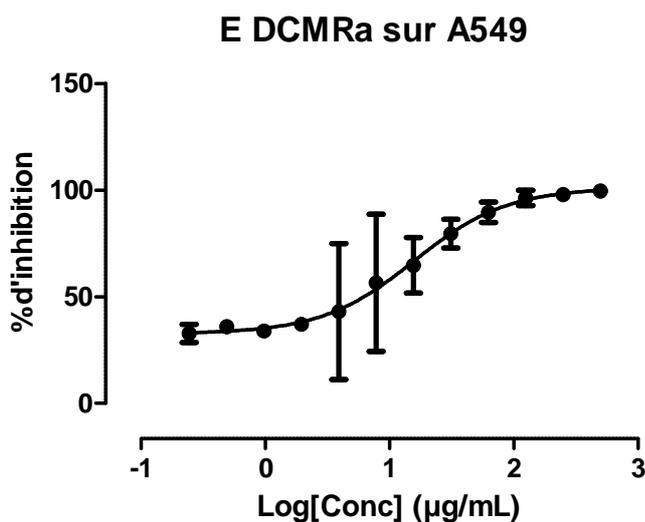


Figure 35 : Courbe montrant l'inhibition de la prolifération cellulaire globale de l'extrait Dichlorométhane de rameaux sur les cellules de la lignée A549.

L'inhibition de la croissance cellulaire globale a été mesurée par le test colorimétrique MTT. Chaque évaluation a été faite en quadruplicat et les données présentées sont des moyennes de ces 4 déterminations \pm leur écart types.

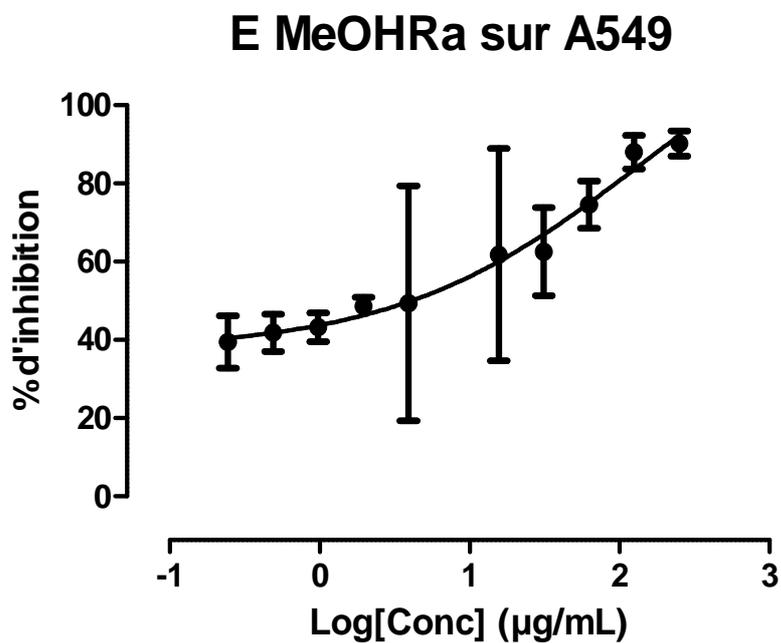


Figure 36 : Inhibition de la prolifération cellulaire globale de l'extrait Méthanolique de rameaux sur les cellules de la lignée A549.

L'inhibition de la croissance cellulaire globale a été mesurée par le test colorimétrique MTT. Chaque évaluation a été faite en quadruplicat et les données présentées sont des moyennes de ces 4 déterminations \pm leur écart types.

Tableau VII : Valeurs de IC₅₀ (en µg/mL) des extraits de feuilles et de rameaux déterminées par MTT après évaluation de l'effet de ces substances sur la croissance globale des cellules cancéreuse des poumons A549.

Les valeurs de IC₅₀ correspondent aux concentrations qui réduisent de 50 % la croissance cellulaire globale de la lignée cancéreuse A549 après 3 jours d'incubation en présence des composés testés.

EXTRAITS TESTES	FEUILLES IC ₅₀ (µg/mL)	RAMEAUX IC ₅₀ (µg/mL)
Ether de pétrole	7,106 ± 3,106	88,89 ± 1,28
Dichlorométhane	7,356 ± 0,557	10,91 ± 0,64
Dichlorométhane/Méthanol 50:50	11,54 ± 0,46	Non déterminée
Méthanol	178,9 ± 1,5	41,83 ± 2,39
Aqueux	> 500	128,4 ± 0,3

Les valeurs représentent la moyenne de 4 essais ± SEM

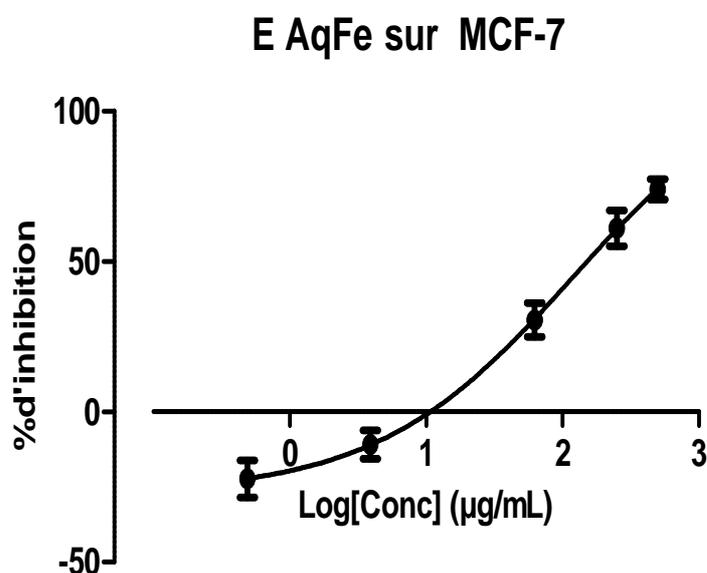


Figure 37 : Courbe montrant l'inhibition de la prolifération cellulaire globale de l'extrait aqueux de feuilles sur les cellules de la lignée MCF7.

L'inhibition de la croissance cellulaire globale a été mesurée par le test colorimétrique MTT. Chaque évaluation a été faite en quadruplicat et les données présentées sont des moyennes de ces 4 déterminations \pm leur écart types.

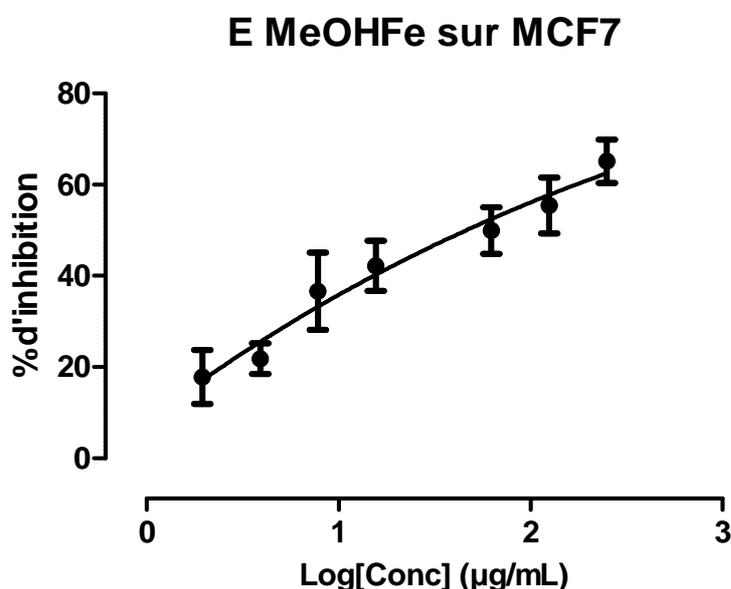


Figure 38 : Courbe montrant l'inhibition de la prolifération cellulaire globale de l'extrait Méthanolique de feuilles sur les cellules de la lignée MCF7.

L'inhibition de la croissance cellulaire globale a été mesurée par le test colorimétrique MTT. Chaque évaluation a été faite en quadruplicat et les données présentées sont des moyennes de ces 4 déterminations \pm leur écart types.

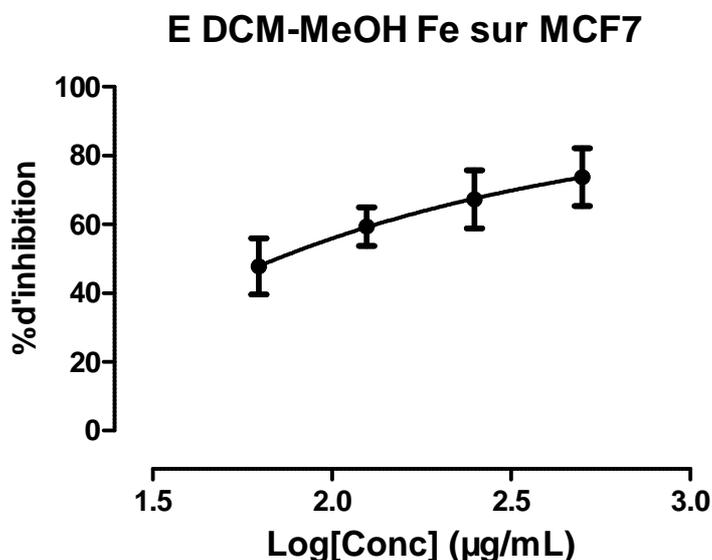


Figure 39 : Courbe montrant l'inhibition de la prolifération cellulaire globale de l'extrait Dichlorométhane/Méthanol de feuilles sur les cellules de la lignée MCF7.

L'inhibition de la croissance cellulaire globale a été mesurée par le test colorimétrique MTT. Chaque évaluation a été faite en quadruplicat et les données présentées sont des moyennes de ces 4 déterminations \pm leur écart types.

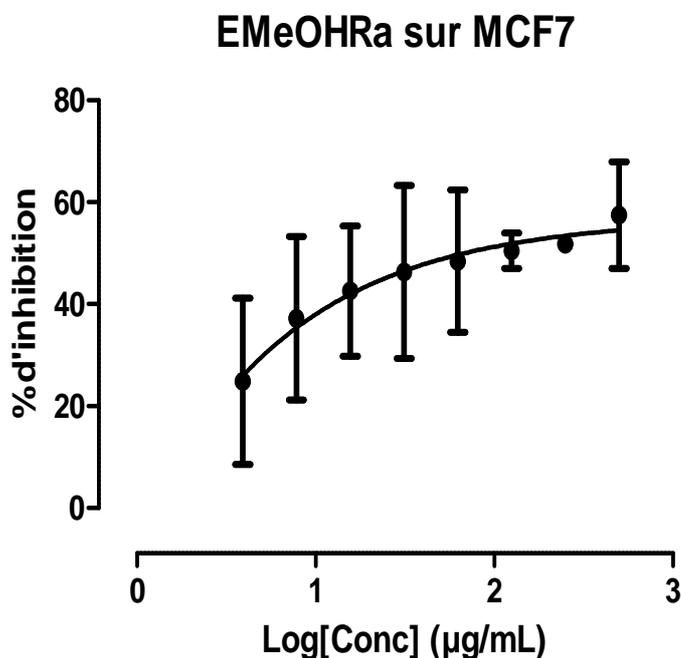


Figure 40 : Courbe montrant l'inhibition de la prolifération cellulaire globale de l'extrait Méthanolique de rameaux sur les cellules de la lignée MCF7.

L'inhibition de la croissance cellulaire globale a été mesurée par le test colorimétrique MTT. Chaque évaluation a été faite en quadruplicat et les données présentées sont des moyennes de ces 4 déterminations \pm leur écart types.

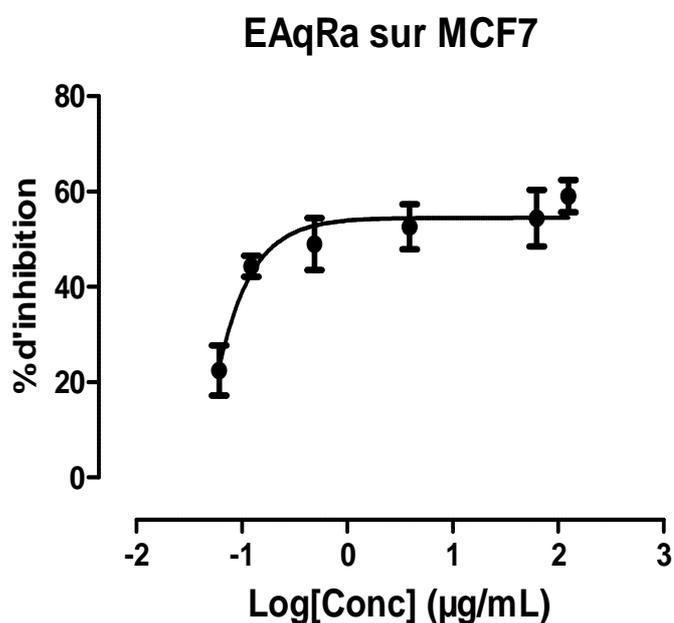


Figure 41 : Inhibition de la prolifération cellulaire globale des extraits de rameaux sur les cellules de la lignée MCF7.

L'inhibition de la croissance cellulaire globale a été mesurée par le test colorimétrique MTT. Chaque évaluation a été faite en quadruplicat et les données présentées sont des moyennes de ces 4 déterminations \pm leur écart types.

Tableau VIII : Valeurs de IC₅₀ (en µg/mL) des extraits de feuilles et de rameaux déterminées par MTT après évaluation de l'effet de ces substances sur la croissance globale des cellules cancéreuse des Seins MCF-7.

Les valeurs de IC₅₀ correspondent aux concentrations qui réduisent de 50 % la croissance cellulaire globale de la lignée cancéreuse MCF-7 après 3 jours d'incubation en présence des composés testés.

EXTRAITS TESTES	FEUILLES IC ₅₀ (µg/mL)	RAMEAUX IC ₅₀ (µg/mL)
Ether de pétrole	Non déterminée	Non déterminée
Dichlorométhane	> 500	Non déterminée
Dichlorométhane/Méthanol 50:50	59,59 ± 7,41	Non déterminée
Méthanol	8,94 ± 2,50	3.60 ± 0.33
Aqueux	67,12 ± 1,78	5,834 ± 0,723

Les valeurs représentent la moyenne de 4 essais ± SEM

Tableau IX : Valeurs de IC₅₀ (en µg/mL) du paclitaxel et de l'étoposide déterminées par MTT après évaluation de l'effet de ces substances sur la croissance globale des cellules cancéreuse des poumons A549, des seins MCF-7 et du colon LoVo (Gnoula, 2007)

Lignées cellulaires	Paclitaxel (IC ₅₀ µg/mL)	Etoposide (IC ₅₀ µg/mL)
LoVo	4,269	2883,927
A549	7,685	1824,525
MCF-7	0,853	5885,566

IV. DISCUSSION

IV.1 - ETUDES PHYTOCHIMIQUES

Notre étude a porté sur l'évaluation des propriétés antiradicalaire et antiproliférative des extraits de feuilles et de rameaux de *Salvadora persica*.

Salvadora persica est une plante médicinale utilisée en médecine traditionnelle africaine pour traiter divers maux (Marwat S. K. et coll., 2008; Kassas M. et coll., 1965; Wu C. D. et coll., 2001; Rajish V. et coll., 2009).

Nous avons réalisé différents extraits, par des solvants de polarité croissante, dans le but de prendre en compte un plus grand nombre de groupes chimiques.

IV.1.1 LE RENDEMENT DE L'EXTRACTION

Le meilleur rendement a été obtenu avec les extraits aqueux 7,2 % (poudre de feuilles) et 5,68 % (poudre de rameaux) suivi des extraits méthanoliques avec 3,47 % (poudre des feuilles) et 4,7 % (poudre de rameaux). Cela traduit une forte teneur de la plante en composés polaires. Cependant les faibles rendements ont été obtenus avec les extraits à l'éther de pétrole et l'extrait dichlorométhane des rameaux.

IV.1.2 LA CARACTÉRISATION PHYTOCHIMIQUE

Les réactions colorimétriques, réalisées sur les différents extraits, ont permis de mettre en évidence la présence de saponosides, de polyphénols (tanins), de triterpènes et stérols, de coumarines et d'alcaloïdes sels (Tableau III). Les composés polyphénoliques sont des substances reconnues pour leur propriété antioxydante (Traoré F., 1999). Kamil M. et coll, (2000) ont rapporté la présence au screening phytochimique de polyphénols (tanins), de flavonoïdes, d'alcaloïdes, de stérols, d'hydrate de carbone et de glycosides dans l'extrait éthanolique des feuilles. Cependant ils n'ont pas décelés la présence de coumarines. Ces mêmes résultats corroborent avec ceux de Fatima N., 2008 et Venkatesan D. et coll., 2009. Les alcaloïdes bases n'ont pas été décelés dans nos conditions expérimentales. Ceci pourrait être lié à la très faible teneur de ces principes chimiques dans les échantillons de la plante. Alali F. et coll. en 2004. Amaral J. S. et coll. en 2005 notaient que les noix de *Salvadora persica* sont une bonne source en α tocophérol .

La connaissance de la nature de ces groupes chimiques, permet d'établir une relation entre l'activité cytotoxique et/ou antiradicalaire des extraits de feuilles et de rameaux de *Salvadora persica* et leur composition chimique, en ce sens que des composés tels que L' α tocophérol, composé de la famille de la vitamine E, possède une activité antioxydante principalement sur la prévention du processus d'oxydation des lipides. (Koksak M. et coll, 2006); aussi les flavonoïdes, les tanins, et les coumarines sont doués d'activités cytotoxique et antioxydante prouvées (Bouchet N. et coll., 1998 ; Na Li et coll., 2008).

IV.2. ETUDES BIOLOGIQUES

IV.2.1. ETUDE *IN VITRO* DE L'ACTIVITE RADICALAIRE

Les radicaux libres sont impliqués dans l'étiologie de bon nombre de désordres métaboliques. (Hypertension, rhumatismes, cancers, ...) (Halliwell A. et Gutteridge J.M., 1990). A travers cette méthode d'évaluation de l'activité antiradicalaire (DPPH) l'extrait méthanolique des rameaux, l'extrait aqueux des feuilles et celui des rameaux de *Salvadora persica* ont présentés les meilleurs résultats par rapport aux autres extraits avec respectivement des IC_{50} de $6,5 \pm 0,1 \mu\text{g/ml}$; $45,30 \pm 0,53 \mu\text{g/ml}$ et $57,16 \pm 0,35 \mu\text{g/ml}$. Ces résultats pourraient justifier une activité antiradicalaire intéressante de la plante, en comparaison avec le résultat sur l'activité antiradicalaire de la Quercetine par la même méthode qui étaient de $4,50 \pm 0,14 \mu\text{g/ml}$.

Cette activité peut être expliquée par la présence abondante de tanins et de flavonoïdes aussi bien dans les feuilles que dans les rameaux. En effet, ces substances antioxydantes naturelles rencontrées chez les végétaux, entrent dans l'arsenal thérapeutique en ce qui concerne la lutte contre l'athérosclérose, la polyarthrite chronique, l'asthme et les cancers (Chevalley I., 2000). L'activité antioxydante des noix de *Salvadora persica* avait été démontrée par Isanga J. et coll., en 2007; Miraliakbari H. et Shahidi F., en 2008.

Souri E et coll., en 2008 ont rapporté que l'extrait méthanolique des feuilles de *Salvadora persica* a démontré une activité antiradicalaire au DPPH avec une IC_{50} : $37,19 \pm 6 \mu\text{g/mL}$ comparée à celle du Trolox (IC_{50} : $8,64 \pm 0,03 \mu\text{g/mL}$) et de la Quercetine (IC_{50} : $5,22 \pm 0,13 \mu\text{g/mL}$).

Emira noumi et coll., en 2011 ont également montré une activité antioxydante de l'extrait acétonique dilué de la tige de *Salvadora persica* avec une IC₅₀ de 75 µg/mL au DPPH et une IC₅₀ : 460 µg/mL au test de blanchissement des β carotènes.

Les composés phénoliques et plus particulièrement les flavonoïdes, sont reconnus comme des substances potentiellement antioxydantes ayant la capacité de piéger les espèces radicalaires et les formes réactives de l'oxygène. L'effet antioxydant des flavonoïdes (FLOH) est attribué à leur faible potentiel redox qui les rendent thermodynamiquement capable de réduire les radicaux libres (R[•]), par un transfert d'atome d'hydrogène à partir des groupements hydroxyles. Cette réaction donne naissance au radical aroxyde (FLO[•]) et à la molécule radicalaire rendu stable (RH), le FLO[•] subira par la suite un réarrangement structural, permettant la redistribution de l'électron célibataire sur le cycle aromatique et la stabilisation de radicaux aroxyde (Javanovic et coll., 1994). En effet, les radicaux libres sont impliqués dans plusieurs maladies, y compris les maladies cardiovasculaires, l'ulcère gastrique, le diabète, les tumeurs malignes, les rhumatismes, la cataracte, la maladie de Parkinson et la maladie d'Alzheimer. Or les polyphénols en général et les flavonoïdes en particulier sont des piègeurs de radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles et l'anion superoxyde. Ils inhibent ainsi la peroxydation des lipides (Nishant P.V. et coll., 2007). Yang C.S. et coll., en 2001 rapportaient que les composés phénoliques pouvaient empêcher la carcinogénèse, en affectant les événements moléculaires dans le déclenchement, la promotion, et les étapes de progression.

Les tanins quant à eux, sont reconnus pour leur pouvoir de fixation aux protéines, avec une tendance à l'imperméabilité des couches externes et la protection des couches sous-jacentes. Leurs effets antiseptiques et leurs propriétés de renouvellement des tissus pourraient expliquer l'utilisation traditionnelle des feuilles et des écorces de la plante dans le traitement des infections bactériennes et mycosiques (Al-Ali F. et Al-Lafi T., 2003); (Al-Bagieh N.H et coll., 1994).). L'acide ellagique qui est un acide tannique, présente un puissant effet antioxydant, ceci en réagissant avec les chaînes portant les radicaux peroxydes (Reddy M.K. et coll., 2007).

IV.2.2. ETUDE *IN VITRO* DE L'ACTIVITE ANTIPROLIFERATIVE

Nous avons mis en évidence dans nos extraits des tanins, des saponosides, des alcaloïdes, et des flavonoïdes. Plusieurs études ont montré que certains de ces composés

notamment les alcaloïdes, les flavonoïdes et les saponosides possèderaient des propriétés antitumorales (Fiot J. et coll., 2005 ; Sparg S.G. et coll., 2004).

L'étude de l'activité cytotoxique, par la méthode MTT, nous a montré que les feuilles et les rameaux avaient une activité sur la prolifération cellulaire globale, aussi bien des lignées cellulaires LoVo et MCF7 que la lignée cellulaire A549. Cette activité antiproliférative est intéressante dans la mesure où la presque totalité des concentrations IC₅₀ de nos différents extraits sur ces cellules étaient en dessous de 30 µg/mL ; en effet le NCI (National Cancer Institute) estime qu'un extrait ayant démontré une activité inhibitrice de croissance (IC₅₀) inférieure à 30 µg/mL lors d'essais préliminaires de cytotoxicité peut être considéré comme une source potentielle de molécules cytotoxiques (Jhokadze M. et coll., 2007). Nos extraits ont montré une activité antiproliférative largement supérieure à celle de l'etoposide (Tableau IX) mais sensiblement égale à celle du paclitaxel (Tableau IX), qui sont deux anticancéreux de référence.

Les saponosides qui ont été décelés dans nos extraits possèderaient des propriétés antitumorales. En effet les saponosides sont décrits dans la littérature comme possédant une forte activité cytotoxique prouvée (Pettit G.R. et coll., 1991). Des saponosides, telles que les balanitines 4 ; 5 ; 6 et 7, isolées à partir d'un extrait Dichlorométhane/Méthanol des amandes de *Balanites aegyptiaca* ont démontrées une activité cytostatique sur des cellules P388 (cellule de leucémie murine), (Pettit G.R. et coll., 1991). Une approche expérimentale faisant appel à la vidéo-microscopie quantitative a permis de démontrer que l'activité anti-cancéreuse du mélange balanitines- 6/7 n'est pas associée à une perméabilisation membranaire ou à un choc osmotique et ne semble pas non plus résulter d'un effet tensioactif. L'activité anti-tumorale du mélange balanitines- 6/7 ne semble donc point liée à une activité de type «hémolytique» caractéristique de nombreux saponosides (Creach P., 1940; Ibrahim A.M., 1992; Pal P., et Tandon V., 1998; Mohamed A.H., et Eltahir K.E., 1999; Hostettmann K., et coll. 2000; Koko W.S., et coll. 2000; Onyeyili P.A., et coll. 2001; Diehl M.S., et coll. 2004; Fennell C.W., et coll. 2004; Beloin N., et coll. 2005). Cela peut justifier le fait que certains de nos extraits qui renfermaient des saponosides n'ont pas tous présentés une activité cytotoxique sur toutes les lignées cellulaires utilisées. En effet toutes les saponosides n'exercent pas leur pouvoir cytotoxique par une activité hémolytique.

Les saponosides peuvent agir en tant qu'agents anticancéreux potentiels, en empêchant la carcinogenèse, ou par des effets antiprolifératifs et/ou cytotoxiques directs contre des cellules cancéreuses tant *in vitro* que *in vivo* (Pettit G.R., et coll., 1991; Lacaille-Dubois, 1996).

Plusieurs saponosides triterpéniques et stéroïdiques exercent des activités cytotoxiques avec des valeurs IC_{50} variant entre 1 ng/mL et 20 μ g/mL selon la nature de la saponoside, de la partie osidique, du type de liaison (α ou β) entre la génine et la partie osidique et enfin des lignées cellulaires utilisées. De nombreuses revues de la littérature ont d'ailleurs été publiées à ce sujet (Lacaille-Dubois, 2000). L'apoptose semble être le mécanisme par lequel la majorité des saponosides entraînent la mort des cellules cancéreuses. Plusieurs études récentes ont montré que l'apoptose cellulaire est enclenchée par l'action des saponosides sur la membrane mitochondriale, induisant l'expression de facteurs pro-apoptotiques (Zhu N. et coll., 2005).

L'extrait méthanolique et aqueux riche en saponosides, n'ont pas montré une bonne activité cytotoxique sur la lignée A549 ; Cependant leur activité sur les lignées LoVo et MCF7 s'est avérée très intéressante. Cette différence pourrait s'expliquer par la nature de la lignée cellulaire. Il faut comprendre, que selon la lignée cellulaire utilisée, le pouvoir cytotoxique peut varier. En effet les lignées cellulaires testées, sont soit sensibles à l'apoptose (LoVo et MCF7) ou au contraire, ont un certain niveau de résistance aux molécules pro-apoptotiques (A549).

Les rameaux ont montré une meilleure activité cytotoxique que les feuilles sur la lignée LoVo. L'extrait au Dichlorométhane/méthanol des feuilles était le plus actif avec une IC_{50} de $3,935 \pm 0,103$ μ g/mL. Cette activité qui est largement supérieure à celle de l'étoposide, est cependant comparable à celle du paclitaxel. Ce résultat est toutefois intéressant dans la mesure où contrairement au paclitaxel qui est un produit pur, nos extraits étaient des extraits totaux. Le paclitaxel et l'étoposide sont des anticancéreux utilisés habituellement pour le traitement de certains cancers.

L'extrait méthanolique des rameaux a présenté une activité antiproliférative comparable à celle du paclitaxel sur la lignée MCF7, tandis que l'extrait dichlorométhane/méthanol des feuilles a eu une meilleure activité antiproliférative que le paclitaxel sur la lignée LoVo. La présence de flavonoïdes dans les extraits au dichlorométhane/méthanol pourrait expliquer au moins en partie l'activité cytotoxique mise en évidence. En effet, les flavones polyméthoxylées non glycosylées ainsi que des molécules voisines obtenues par des modifications chimiques simples, montrent une très forte capacité à bloquer la prolifération des cellules humaines issues de cancers du sein, de la prostate, du colon, du poumon et de la peau (Macheix et coll., 2005).

Ainsi pour les cancers induits par des virus, les flavonoïdes agissent en inhibant les kinases, qui sont des enzymes catalysant la phosphorylation des amino-acides sur les pompes à $\text{Na}^+ \text{K}^+$ - ATPase des membranes cellulaires (Daouda M., 1987).

De même, dans les cancers induits par les agents chimiques, les flavonoïdes agissent en inhibant la ribonucléotide réductase et en activant l'aryl hydrolase (sert à la détoxification des composés aromatiques) et l'époxide hydrolase (Daouda M., 1987).

La présence de tanins dans les extraits méthanoliques pourrait expliquer l'activité cytotoxique observée. Les études de propriétés anticancéreuses sur des lignées de cellules tumorales et modèles de tumeurs murines, ont montré que l'acide ellagique affecterait l'expression de P53 et P21 et provoquerait l'arrêt de la croissance cellulaire en G1 puis l'apoptose des cellules cancéreuses (Ayrton A.D. et coll., 1992).

IV.2.3. LA RELATION ENTRE NOS DEUX EXPÉRIMENTATIONS

Des études ont montré le lien entre la consommation d'aliments riches en antioxydants et l'incidence de certaines pathologies comme le cancer, les maladies cardiaques, le diabète, et d'autres maladies liées au vieillissement. (Hertog et coll., 1995 ; Mclarty J.W., 1997 ; Albanes et Hartman, 1999).

Depuis longtemps, on associe le risque de survenue du cancer et le régime alimentaire. Plus récemment des recherches expérimentales suggèrent, que les flavonoïdes sont parmi les substances susceptibles de retarder voire d'empêcher l'apparition de certains cancers chez les sujets humains (Decloitre, 1993 ; Hertog, 1996). Si la quantité de radicaux libres excède la capacité du système de défense antioxydant de l'organisme, des dégâts oxydatifs peuvent en résulter. En effet, l'oxydation des lipides, des hydrates de carbone, des protéines et des acides nucléiques a été associée à des maladies cardiovasculaires, neurologiques, inflammatoires chroniques et cancéreuses (Halliwell A. et Gutteridge J.M.C., 1984; Butterfield *et coll.* 2002).

Des études montrent que certains flavonoïdes particulièrement la lutéoline, la quercétine, le kaempférol, l'apigénine et la taxifoline inhibent d'une façon marquée la lipogenèse des cellules cancéreuses; d'autres flavonoïdes sont plutôt capables d'induire l'apoptose.

Certains flavanols (épigallocatechine-3-gallate) présentent des effets cytotoxiques sur les cellules cancéreuses de la prostate; ces effets sont corrélés avec leur capacité à inhiber les enzymes clés lipogéniques FAS (Fatty Acid Synthase) (Brusselmans *et coll.*, 2005).

Les travaux réalisés par Mahmoud *et coll.* 2000 et Depeint *et coll.* 2002 montraient que la curcumine permet de prévenir la formation des tumeurs spontanées induites génétiquement, ce même flavonoïde réduit l'apparition des tumeurs de la peau induites chimiquement. La quercétine et la rutine, sont les deux flavonoïdes les plus conseillées pour prévenir l'apparition du cancer de l'appareil gastro-intestinal; tandis que l'apigénine avec la quercétine ont la capacité à inhiber la phase de métastase. Toutefois Caltagirone *et coll.* 2000; Depeint *et coll.* 2002 signalaient que l'inhibition des différents stades de développement de cancer, est plutôt assurée par toutes les flavonoïdes.

Quelques composés phénoliques (les acides phénoliques, les flavonoïdes, les quinones, les coumarines) ont prouvé une activité antioxydante efficace et ont également prouvé des activités anticancéreuses/anticarcinogénique/antimutagenique (Ho C.T. *et coll.*, 1994 ; Owen R.W.*et coll.*, 2000 ; Xiao C.H. *et coll.*, 2000 ; Yang C.S. *et coll.*, 2001 ; Tapiero H. *et coll.*, 2002).

De même, quelques molécules de tanins (les polyphénols de thé) ont une activité anticancéreuse ou anticarcinogénique ou antimutagenique (Chung K.T. *et coll.*, 1998 ; Kaur *et coll.* 1998).

Chung K.T. *et coll.*, en 1998 ont précisé dans leur revue que le potentiel anticarcinogénique ou antimutagenique des tanins pourrait être lié à leur propriété antioxydante. Par conséquent, les composés phénoliques présents dans les plantes médicinales tel que *Salvadora persica*, par leurs propriétés antioxydantes et/ou cytotoxiques, pourraient jouer un rôle important dans la prévention et/ou le traitement du cancer.

CONCLUSION

CONCLUSION

Bien que les pathologies infectieuses soient encore le premier problème de santé publique en Afrique, l'amélioration des indicateurs de santé a permis de constater que les maladies telles que le cancer et l'hypertension artérielle sont également devenues de véritables problèmes de santé publique. Ces pathologies nécessitent des traitements à vie alors que le coût des médicaments pour les populations africaines reste encore inabordable. Cette inaccessibilité aux traitements les plus efficaces, fait que la majorité des patients mourront d'une complication de leur maladie, plutôt que de leur maladie proprement dite. Ceci constitue l'une des raisons principales pour lesquelles, les malades ont très souvent recours aux plantes médicinales à travers la médecine traditionnelle. En Afrique, la médecine traditionnelle est parfois la seule source de soins abordable et accessible, surtout pour les patients les plus pauvres. D'où la nécessité pour les pays en voie de développement, d'identifier des composés et des thérapies de médecine traditionnelle, sûrs et efficaces pour les maladies représentant un lourd fardeau pour les populations (OMS 2002).

La présente étude a permis de montrer que les feuilles et rameaux de *Salvadora persica*, utilisés en médecine traditionnelle au Burkina Faso, pourraient être efficaces dans la prévention et le traitement des cancers. En effet, nous avons montré d'une part, que ces feuilles et rameaux présentent une activité antiradicalaire comparable à celle de la quercétine et d'autre part, qu'ils possèdent une activité antiproliférative sur les lignées de cellules de cancers de poumons, du colon et de sein. Ces maladies qui, autrefois semblaient être des pathologies des pays occidentaux et très peu connues en Afrique, sont devenues de nos jours un véritable problème de santé publique pour l'Afrique .

Nos résultats revêtent une certaine importance dans le potentiel thérapeutique qu'ils révèlent. En effet, nous avons obtenu *in vitro*, avec l'extrait méthanolique des rameaux des IC₅₀ inférieures à celles obtenues avec l'etoposide et comparable à celles obtenues avec le paclitaxel, qui sont des molécules de références dans le traitement de certains cancers. Du fait du potentiel antiprolifératif de l'extrait méthanolique des rameaux de *Salvadora persica*, nous pouvons envisager de développer des phytomédicaments anticancéreux standardisés à partir de cet extrait.

PERSPECTIVES

Des études complémentaires seront nécessaires avant la mise au point et l'utilisation thérapeutique de ces phytomédicaments:

- Effectuer le test antiprolifératif sur plusieurs autres lignées cellulaires (soixantaine de lignées), aussi bien saines que cancéreuses conformément à la recommandation du NCI;
- Déterminer le mécanisme de l'effet antitumoral (cytotoxique ou cytostatique) de l'extraits;
- Vérifier la toxicité de l'extrait sur les cellules saines;
- Etudier la toxicité de la plante sur les organismes vivants.

BIBLIOGRAPHIE

Ahamet S. (2003). Etude phytochimique et des activités biologiques de *Balanites aegyptiaca* L. (*Balanitaceae*). Thèse Pharmacie, Bamako; 117 P.

Ahmed Salah; Soaad Esmaeil; Mohamed El-Sayed Ibrahim; Ewald Schnug (2008). "Preliminary phytochemical and propagation trial with *Salvadora persica* L." (PDF). *Agriculture and Forestry Research* 1/2 (58): 135–138.

Akhtar, M.S.; Ajmal M. (1981). "Significance of chewing-sticks (miswaks) in oral hygiene from a pharmacological view-point.". *Journal Pakistan Medical Association* **31** (4): 89–95. [PMID 6785501](#)

Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K., Walter P. (2002). *Molecular Biology of the Cell*. New York and London.

Almas, Khalid (2002). "The Effect of *Salvadora Persica* Extract (Miswak) and Chlorahexidine Gluconate on Human Dentin: A SEM Study". *Journal of Contemporary Dental Practice* 3 (3): 27–35.

Amaral J.S., Alves M., Seabra R., Oliveira B. (2005). Vitamin E composition of walnuts (*Juglans regia* L.): a 3-year comparative study of different cultivars. *J. Agric. Food. Chem.*, 53: 5467-5472.

Amaral J.S., Casal S., Pereira J., Seabra R., Oliveira B. (2003). Determination of sterol and fatty acid compositions, oxidative stability, and nutritional value of six walnut (*Juglans regia* L.) cultivars grown in Portugal. *J. Agric. Food. Chem.*, 51: 7698-7702.

Anderson C.M., Hallberg A., Hogberg T. (1996). Advances in development of pharmaceutical antioxidants. *Adv. Drug. Res.* 28, 65-180

Ayrton, A. D., Lewis D. F., Walker R., Ioannides C. (1992). Antimutagenicity of ellagic acid towards the food mutagen IQ: investigation into possible mechanisms of action. *Food Chem Toxicol* 30: 289-295.

Boon H., Wong J. (2004) Botanical medicine and cancer: a review of the safety and efficacy. *Expert Opin Pharmacother.*; 5 (12): 2485-501.

Bouchet N., Barrier L., Fauconneau B. (1998). *Radical scavenging activity and antioxydant property of tannins from *Guiera senegalensis* (Combretaceae)*. *Phytotherapy research* 12, 159-162.

Cassileth B., Yeung K.S., Gubili J. (2008); Herbs and other botanicals in cancer patient care. Curr. Treat. Options Oncol. 9 (2-3): 109-116.

Cavin A. (1999). Investigation phytochimique de trois plantes Indonésiennes aux propriétés antioxydante et antiradicalaire : *Tinospora crispa* (Ménispermacées), *Merremia emarginata* (Convolvulacées) et *Oropea enneandra* (annonacées). Thèse de Doctorat, Lausanne, 241 P.

Centre International de Recherche sur le Cancer, Le cancer dans le monde en 2008: le traitement du cancer et les soins dans les pays en développement. Centre international de recherche sur le cancer. Lyon, Vol 20 ; 2009 (20) : p 310-325

Chevaley I. (2000). Contribution à l'étude des phytochimique des Saxifragacées, isolement d'antioxydants à partir de *Saxifraga stelleris* L. et *Saxifraga cuneifolia* L et d'un composé antifongique de *Ribes rubrum* L. Thèse de doctorat, Lausanne, 175 p

Ciulei I. (1982) Methodology for analysis of vegetables drugs. Ministry of chemical industry, Bucharest, 67 P

Colette E. (2003). Etude phytochimique et pharmacologique de 5 recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et de la cystite. Thèse Pharmacie Bamako. 147 P.

Daouda M. (1987) Contribution à l'étude des flavonoides Propriétés thérapeutiques et perspectives. Thèse de Doctorat en Pharmacie, Dakar, n°61.

Diallo D. A. (2005) La problématique de la prise en charge du au Mali :l'expérience d'un service de prise en charge des cancers au Mali. Bulletin de l'hôpital du Point G ; 12-14

Encyclopedie medicale Immunothérapie anticancéreuse. Édition Larousse.
Disponible sur: <http://www.larousse.fr/encyclopedie/medical/immunotherapie> (consulté le 10/04/2011)

Fatima N. (2008). Detection of antiulcerogenic activity in *Coriandrum sativum* and *Glycyrrhiza glabra* alongwith other anti-ulcer herbal drugs available in local market. Ph.D. Thesis, University of Karachi, Karachi, Pakistan, p 41-43.

Folkmann J. (2002) Angiogenesis and Apoptosis Semin. Cancer Biol. 13 :159-167.

Fong H.H. (2003) Integration of herbal medicine into modern medical practices: issues and prospects. Integr Cancer Ther.; 1 (3): 287-293.

Galati M., Germano M.P., Rossito A., D'aquino A., Sanago R. (1999); Anti-ulcerogenic evaluation of the Persian tooth brush tree (*Salvadora persica*). Pharmaceutical Biol.; 37 (5); p. 325-328

Gerald K. (1996). Cell and Molecular Biology, Concepts and Experiments. Gainesville, John Wiley and Sons Inc.

Gnoola C. (2007). Caractérisation de propriétés nématocides et anti-tumorales de diverses balanitines extraites de *Balanites aegyptiaca* (L.) Del. Institut de Pharmacie. Bruxelles, Université Libre de Bruxelles, 304 P.

Gombri /Lompo O.E., Domagni A.M., (2009). Aspects épidémiologiques et histopathologiques des cancers au Burkina Faso. J.Afr.Cancer 1 : 207-211

Greenlee H., Abascal K., Yarnell E., Ladas E. (2007). Clinical applications of *Silybum marianum* in oncology. Integr Cancer Ther.; 6 (2): 104-109.

Hanahan D., Weinberg R. A. (2000). "The Hallmarks of Cancer." Cell 100(1): 57-70.

Heron J.F. (1996) Cancérologie générale -Chimiothérapie des cancers – Prescription de chimiothérapie
disponible sur :http://www.oncoprof.net/Generale2000/g09_Chimiotherapie/g09_ct25.html
visité le 01 décembre 2011.

Igor L.B. (2002). Etude des activités biologiques de *Fagara zanthoxyloides* Lam. (*Rutaceae*).
Thèse Pharmacie, Bamako ; 133 P

International Agency for Research on Cancer (IARC) (1986). Tobacco Smoking (IARC Monographs on the Evaluation of the carcinogenic Risks of chemicals to human, Vol 38), Lyon, IARC Press.

International Agency for Research on Cancer (IARC) (1992). UV and Solar Radiation (IARC Monographs on the Evaluation of the carcinogenic Risks of chemicals to human, Vol 55), Lyon, IARC Press.

International Agency for Research on Cancer (IARC) (2000) Ionizing radiation, Part 1: X- and Gamma Radiation and Neutron Smoking (IARC Monographs on the Evaluation of the carcinogenic Risks of chemicals to human, Vol 75), Lyon, IARC Press.

Isanga J., Zhang G.N. (2007). Biological active components and nutraceuticals in peanuts and related products: Review. *Food Rev. Intl.*, 23: 123-140.

Joël P., Karine P., Karine C., Jean-Olivier D. (2002). Nutrition et stress antioxydant. Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante

Jokhadze M., Eristavi L., Kutchukhidze J., Chariot A., Angenot L., Tits M., Jansen O., Frédéric M. (2007) *In vitro* cytotoxicity of some medicinal plants from Georgian Amaryllidaceae. *Phytother Res.*; 21 (7): 622-624.

Kamel M.S., Ohtani K., Assaf M.H., Kasai R., El-Shanawani M.A., Yamasaki K., Ali A.A., Tanaka O. (1992). Lignan glycosides from stems of *Salvadora persica*. *Phytochemistry*, 31: 2469-2471.

Kamil M., Jayaraj A.F., Ahmad F., Gunasekhar C., Samuel S., Habibullah M., Chan K. (2000) Isolation and Identification of a Flavonol Glycoside using High speed counter current chromatographic Technique from the leaves of *Salvadora persica*. *Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research* , 43, No.4: 225-227.

Kassas M., Zahran M.A. (1965). Studies of red sea costal land II. The District from EL Galala EL Quibliya to Hurghada. *Bull Soc. Geiger D Egypt Economic Bot.*, 22: 165-177.

Koksak A., Artik N., Simsek A., Gunes N. (2006). Nutrient composition of hazelnut (*Corylus avellana* L.) varieties cultivated in Turkey. *Food. Chem.*, 99: 509-515.

Lewis J.S., Cheng D., Jordan V.C. (2004). *Targeting oestrogen to kill the cancer but not the patient.* *British Journal of Cancer* 90, 944-949

Lewis W.H., Elvin-Lewis P.F. (1977). *Medical Botany: Plants Affecting Man's Health.* John Wiley & Sons, New York, pp.226-270.

Lieberman R. (2002). *Chemoprevention of Prostate Cancer: Current Status and Future Directions.* Cancer and Metastasis Reviews 21(3), 297-309.

Liu R.H. (2004) Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. J Nutr.; 134 (12): 3479-3485.

Mansour M.I., Al-Khateeb T.L., Al-Mazraoo A.A. (1996). The analgesic effects of Miswak *Saudi Dent. J.*, **8**: 87- 91.

Mariod A.A., matthaus B., Hussein I.H. (2009) "Chemical Characterization of the Seed and Antioxidant Activity of Various Parts of *Salvadora persica*" Journal of the American oil chemists society, 86, 857, 865

Marwat S.K., Khan M.A., Rehman F., Ahmed M., Zafar M. (2008). *Salvadora persica, Tamarix aphylla and Zizyphus mauritiana: Three woody plants spices mentioned in Holy Quran and Ahadith and their ethenobotanical uses in north west part (D.I. Khan) of Pakistan.* *Ethnobotanical Leaflets*, 12: 1013-1021.

Miraliakbari H., Shahidi F. (2008). Oxidative stability of tree nut oils. J. Agric. Food. Chem., 56: 4751-4759

Moody T.W. (2006). *Peptides hormones and lung cancer.* Panminerva Medica 48(1), 19-26.

Moulinoux J-P. (1997) Cancérologie- Le cancer : quelques chiffres - IRCC -Université de Rennes 1 IRCC - Faculté de Médecine - 35043 Rennes Cedex Disponible sur : <http://www.med.univrennes1.fr/resped/s/cancero/cancgener/cancgener.html>.
Visité le 14/08/2011

Nacoulma O. (1996). *Plantes médicinales et pratiques médicales traditionnelles au Burkina Faso: cas du plateau central.* Institut des Sciences Naturelles. Université de Ouagadougou.

National Institute of Industrial Research (2003). *Herbs Cultivation & Their Utilization.* Delhi: Asia Pacific Business Press. pp. chapter 2. ISBN 978-8178330648.

Neureiter D., Herold C., Ocker M. (2006). "Gastrointestinal cancer - only a deregulation of stem cell differentiation?" International Journal Of Molecular Medecine 17: 483-489.

Nishant P.V. (2007) Asparagus Root Regulates Cholesterol Metabolism and Improves Antioxidant Status in Hypercholesteremic Rats.
Evidence-based Complementary and Alternative Medicine; 27: 1-8.

O.M.S. Aide-mémoire N°297 (Février 2006). Le cancer.

<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs29/fr/print.html> visité le 21/08/2011.

Organisation Mondiale de la Santé Main causes of death in Burkina Faso projected 2005 and 2030. Disponible sur « [http:// www.who.int/infobase/graphimages/2030_deaths_448943672_ESM_large.png](http://www.who.int/infobase/graphimages/2030_deaths_448943672_ESM_large.png) ; 1000' » (Consulté le 19/02/2011).

Organisation Mondiale de la Santé.(O.M.S) CIRC (1997) : Rapport biennal 1996-1997 Recherche au service de la lutte contre le cancer. ; S/C/3/2:17-18.

Oudard S. (2005). Impact de la biologie cellulaire sur le ciblage thérapeutique dans les cancers. Cours de cancérologie médicale HEPG. Faculté Necker, Paris V. Presse universitaire. 98 P.

Rajesh V., Suresh P., Anil B., Brijesh K., Priyanka P. (2009). *Salvadora persica* L (Tooth Brush Tree): A Review. *J. Pharmacy Res.*, 2: 1809-1812.

Reddy M.K., Gupta S.K., Jacob M.R., Khan S.I., Ferreira D. (2007). Antioxidant, antimalarial and antimicrobial activities of tannin-rich fractions, ellagitannins and phenolic acids from *Punica granatum* L. *Planta Med* 73:461-467

Roskams T. (2006). "Liver stem cells and their implication in hepatocellular and cholangiocarcinoma." *Oncogene* 25(27): 3818-3822.

Routledge P.A. (2008) The European Herbal Medicines Directive: could it have saved the lives of Romeo and Juliet? *Drug Saf.*; 31 (5): 416-418.

Saklani A., Kutty S.K. (2008) Plant-derived compounds in clinical trials. *Drug Discov Today*.; 13 (3-4): 161-171.

Sano D., Ouoba K., Dao M., Guigma Y., Kabre M., Bourgarel A., Sanou B., Soudre R., Beuher P. (1997) Les cancers ORL et cervico - faciaux au Burkina Faso : Epidémiologie, problèmes de diagnostic et de prise en charge à propos de 217 cas Médecine d'Afrique Noire.

Sidibé F. (2003). Etude phytochimique et pharmacologique de *Stereospermum kunthianum* Cham. (*Bignoniaceae*). Thèse de Pharmacie, Bamako ; 79 P.

Souri E., Amin G., Farsam H., Jalalizadeh H., Barezi S. (2008). Screening of Thirteen Medicinal Plant Extracts for Antioxidant Activity. *I. J. P. R.*, 7(2): 149-154.

Treasure J. (2005) Herbal medicine and cancer: an introductory overview. *Semin Oncol Nurs.*; 21 (3): 177-183.

Venkatesan D., Karrunakarn C.M., Kumar S.S., Swamy P.T. (2009). Identification of phytochemical constituents of *Aegle marmelos* responsible for antimicrobial activity against selected pathogenic organisms. *Ethnobotanical Leaflets*, 13: 1362-1372.

Wargovich M.J., Woods C., Hollis D.M., Zander M.E., (2001) Herbals, cancer prevention and health. *J Nutr*; 131 (11): 3034-3036.

Wikipedia (2009). Cancer, <http://fr.wikipedia.org/wiki/Cancer>. 2009

Wu C.D., Darout I.A., Skaug N. (2001). Chewing sticks: Timeless natural toothbrushes for oral cleansing. *J. Perodont. Res.*, 36: 275-284.

Xiao C.H., Yang S.S., Hong X.K. (2000). *The Chemistry of Traditional Chinese Medicines*. Shanghai Science and Technology Publishing House, Shanghai

Zinsou C.P., Fourn L., Zohoun T. (1990) Aspects Épidémiologiques des cancers au centre national Hospitalier et Universitaire de Cotonou Médecine d'Afrique Noire ; 37 : 230-236.

Annexes

SERMENT DE GALIEN

" Je jure en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'Ordre des Pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque."

HISTORIQUE DU CANCER

Des cancers étaient déjà décrits dans des textes égyptiens vers 3500 avant notre ère (Wikipedi,a 2006). C'est Hippocrate qui donna la première définition de la maladie, appelée alors «carcinome» ou «squirre» : une tumeur (gonflement), dure non inflammatoire, ayant tendance à récidiver et à se généraliser jusqu'à la mort (Wikipedia, 2009). Aujourd'hui, le terme cancer comprend une maladie qui est provoquée soit par des changements sous-jacents de l'information génétique, se traduisant par des modifications du comportement cellulaire (Gerald, 1996; Hanahan et Weinberg, 2000), soit par un comportement anormal de cellules souches (Neureiter et coll., 2006; Roskams, 2006). Ces modifications entraînent une prolifération cellulaire incontrôlée dans certains tissus conduisant à la formation d'une masse tissulaire dénommée tumeur. Les tumeurs peuvent être bénignes (non cancéreuses) ou malignes (cancéreuses) (Alberts et coll., 2002). Aujourd'hui, Le cancer peut se définir comme étant une croissance et une dissémination incontrôlable de cellules anormales (clone cellulaire original) pouvant affecter quasiment n'importe quel tissu. C'est un phénomène biologique appelé oncogénèse ou carcinogénèse. (IFMT-MS 2006)

EPIDEMIOLOGIE DU CANCER

Le cancer est la troisième cause de mortalité dans le monde après les maladies cardiovasculaires et les maladies infectieuses avec 7.121.000 cas soit 12 % (rapport 2005 du Centers for disease Control and prévention). En 2002, le nombre de décès par cancer a été estimé à 6,7 millions soit 3,8 millions pour les hommes et 2,9 millions pour les femmes. (C.D. Mathers et coll.2002).

Chez l'homme les cancers les plus fréquents sont le cancer du poumon, à la fois en terme d'incidence (965.000 nouveaux cas) et de mortalité (848.000 décès) ensuite le cancer de la prostate vient en deuxième position pour l'incidence (679.000 nouveaux cas), mais en sixième position pour la mortalité (221.000 décès). L'estomac, le côlon rectum, le foie et l'oesophage sont les autres principales localisations des cancers masculins. (C.D. Mathers et coll.2002).

Chez les femmes, c'est le cancer du sein qui est au premier rang, à la fois en terme d'incidence (1.151.000 nouveaux cas) et de mortalité (411.000 décès). Le cancer du poumon n'est qu'en quatrième position en termes d'incidence (387.000 nouveaux cas) mais en deuxième sur le

plan de la mortalité féminine par cancer (331.000 décès). Les cancers du col de l'utérus, du côlon rectum, de l'estomac, des ovaires et du foie sont les autres principales localisations des cancers féminins. (C.D. Mathers et coll., 2002).

Le cancer présente la deuxième cause de mortalité en France, derrière les affections cardio-vasculaire. Il est responsable de 28% des décès, environ un décès sur trois chez l'homme et un décès sur quatre chez la femme (Hill C., Doyon F., 2004). Durant les deux dernières décennies, l'incidence des cancers en France a augmenté de 63%. Cette augmentation est liée en partie au vieillissement de la population mais aussi à une augmentation du risque de cancer estimée à plus de 35 %.

Au Burkina Faso le cancer a fait environ 8000 morts en 2005. Le taux de mortalité dû au cancer qui était de 3,3 % en 2005 pourrait passer à 6 % d'ici à 2020 (OMS, 2005). Une étude épidémiologique a été menée du 1^{er} janvier 1986 au 31 décembre 2006; il en est ressorti cinq points :

- le nombre de cas diagnostiqués a connu une augmentation progressive au fil des années
- la fréquence annuelle de cancer était de 200,2 cas ;
- une prédominance féminine avec 54,9 % des effectifs et 45,1 % chez l'homme. Le sex-ratio était de 0,82 (Goumbri/Lompo et coll ; 2009) ;
- l'âge moyen de survenue du cancer a été de 45,88 ans, tout sexe confondu, chez l'homme, l'âge moyen de survenue du cancer a été de 47,35 ans, alors que chez la femme l'âge moyen a été de 44,68 ans ;
- chez l'homme, les cancers les plus fréquents étaient: le cancer de la peau (11,37 %) qui occupait le premier rang, suivi du lymphome non hodgkinien (9,80 %) et du cancer de la prostate (9,69 %). Chez la femme, le cancer du sein occupait la première place (23,81 %), suivi du cancer du col de l'utérus (22,99 %) ; sur le plan histologique, les carcinomes ont été les plus représentés avec 75,53 % des cas, suivis des sarcomes (10,86 %) ; chez l'enfant, le lymphome de Burkitt (41,95 %) était la tumeur la plus fréquente, suivis du rétinoblastome (12,29 %) et du néphroblastome (11,86 %) (Goumbri O.M. et coll., 2005).

La prise en charge de ces pathologies s'avère très compliquée pour les pays en voie de développement du fait du coût excessif des médicaments disponibles.

PREPARATION DE QUELQUES REACTIFS

Chlorure ferrique 1 % (m/v)

100 mg de chlorure ferrique sont dissous dans 10 mL d'eau distillée.

Réactif de Dragendorff

Une solution (solution 1) comportant 1,7 g de nitrate de bismuth, 20 g d'acide tartrique et 80 mL d'eau distillée est réalisée. Puis, 16 g d'iodure de potassium dissous dans 40mL d'eau distillée constitue la solution 2. Un mélange à volume égaux des solutions 1 et 2 est réalisé. La préparation finale est conservée au réfrigérateur entre 2 et 8 °C.

Réactif de Meyer

1,335 g de chlorure de mercure II et 49,8 g d'iodure de potassium sont dissous dans 20 mL d'eau distillée. Le volume du mélange est porté à 1 L avec de l'eau distillée.

Réactif de Shibatat

Acide chlorhydrique + Quelques (2-3) grains de tournure de magnésium.

RESUME

Notre travail a porté sur l'étude *in vitro* de l'activité antiradicalaire et antiproliférative des extraits de feuilles et de rameaux de *Salvadora persica* (salvadoraceae), plante utilisée en médecine traditionnelle africaine dans le traitement de certaines affections.

La caractérisation phytochimique réalisée sur les poudres de feuilles et de rameaux a permis de mettre en évidence, des groupes chimiques tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins, les saponosides et les coumarines susceptibles de justifier l'utilisation traditionnelle de la plante en thérapeutique.

Le test antiradicalaire a été réalisé par la méthode au DPPH. Tous les extraits des deux parties de plante ont réagi positivement au test antiradicalaire contre le 1, 1' diphényl 2 picryl hydrazyle (DPPH). Cependant ces activités étaient inférieures à celle de notre standard, la quercétine. L'extrait méthanolique de rameaux a présenté la meilleure activité avec un IC₅₀ de $6,5 \pm 0,1$ µg/mL contre $4,50 \pm 0,14$ µg/mL pour la quercétine.

Le test antiprolifératif a été évalué par la méthode MTT sur trois lignées de cellules cancéreuses (LoVo ; MCF7 ; A549). L'extrait au dichlorométhane/méthanol et à l'éther de pétrole des feuilles et l'extrait méthanolique de rameaux, ont montré *in vitro* un meilleur effet antiprolifératif sur les cellules humaines de cancer de colon LoVo , des poumons A549 et de seins MCF7. En effet, l'extrait dichlorométhane/méthanol de feuilles avec un IC₅₀ de $3,935 \pm 0,103$ µg/mL sur les LoVo ; l'extrait à l'éther de pétrole de feuilles avec un IC₅₀ de $7,106 \pm 3,106$ µg/mL et l'extrait méthanolique de rameaux avec un IC₅₀ de $3,60 \pm 0,33$ µg/mL sur les MCF7, ont induit chacun une activité antiproliférative plus élevée que celle de l'étoposide et comparable à celle du paclitaxel qui sont deux anticancéreux utilisés en thérapeutique. Cette étude pourrait être approfondie dans la perspective de développer un phytomédicament anticancéreux standardisé.

Mots clés : *Salvadora persica* – phytochimie – activité antiradicalaire – activité antiproliférative – DPPH – MTT.

Auteur : CONGO Mohamed Yacine Martial
Chevalier de l'ordre du mérite

Email: martigrand@yahoo.fr