

**Ministère des Enseignements
Secondaire et supérieur (MESS)**

BURKINA FASO

Unité – Progrès – Justice

UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU

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

SECTION : PHARMACIE



Thèse N° 124

**Etude *in vitro* des effets antiprolifératif et antiradicalaire
d'extraits de graines de *Abrus precatorius* L. (FABACEAE)**

Thèse présentée et soutenue publiquement le 04 octobre 2012 par

HETIE Sounougou

Née en 1984 à Bérégadougou (Burkina Faso)

Pour l'obtention du grade de **Docteur en PHARMACIE (Diplôme d'Etat)**

JURY

Directeur de thèse :
Pr Jean-Baptiste NIKIEMA

Président :
Pr Ag. Jean SAKANDE

Co-directeurs de thèse
Pr Jacques SIMPORE
Dr Charlemagne GNOULA

Membres :
Pr Eloi PALE
Dr Estelle Noëla Hoho YOUL
Dr Charlemagne GNOULA

**LISTE DES RESPONSABLES ADMINISTRATIFS ET DES ENSEIGNANTS
DE L'UFR/SDS**

DEDICACES

DEDICACES

A mon père Malan HEBIE

Papa grâce à ton amour, tes encouragements et surtout tes bénédictions, j'ai pu achever ce travail. Tu as toujours été fier de moi j'espère que tu le seras encore plus en voyant ce travail. Que Dieu te garde encore longtemps auprès de nous !

A ma mère Djatou Djénéba HEBIE/SOURATIE

Maman, tu es la meilleure mère que l'on puisse avoir. Tu t'es toujours battue pour que mes frères et moi ne manquions de rien. Ton amour, tes qualités humaines et tes sacrifices n'ont d'égard à mes yeux que ton courage. Les mots me manquent pour t'exprimer combien je suis fière de t'avoir comme mère. Ce travail est le fruit de toutes ces années de souffrances, de sacrifices et surtout de prières. Puisse Dieu te garder encore longtemps auprès de nous !

A mon grand frère Yacoub HEBIE

« Mon petit grand frère » dès l'âge de 8 ans, tu as voulu que je devienne pharmacien. En tant qu'aîné, tu t'es sacrifié pour que nous ayons une vie meilleure. Grâce à ton soutien tant moral, matériel que financier et surtout la confiance que tu as placée en moi, je suis entrain d'achever mes études en pharmacie. Puisse Dieu te combler de bonheur et renforcer notre amour fraternel !

A ma grande sœur Banwabie Haoua HETIE

« Sister » grâce à toi j'ai connu le bonheur d'être mère. Merci pour ces merveilleux enfants que tu m'as donné. Ton soutien, tes conseils et tes encouragements m'ont guidée tout au long de mes études. Puisse l'affection, la confiance et la solidarité qui nous animent rester inébranlables.

A mon petit frère Gbassébi Djéla HEBIE

Je te sais courageux et travailleur. Fais toujours montre de courage et de perspicacité afin d'aller toujours de l'avant. Ton soutien et tes encouragements m'ont été très utiles durant toutes ces années. Ce travail est aussi le tien. Puisse Le Bon Dieu renforcer notre amour fraternel et nous garder unis pour toujours !

A mon oncle Siembou TRAORE/ SOURABIE

Tu m'appelais « docteur » dès ma première année. Le jour que tu as tant attendu est enfin arrivé, je soutiens ma thèse en pharmacie. Merci «papa » pour l'amour et le soutien que tu m'as témoigné dès ma tendre enfance. Que Dieu te bénisse et t'accorde une longue vie.

A ma grand-mère Nampère SOURATIE/HETIE

Tu es ma grande amie et ma complice, je me souviens encore quand tu éteignais la lumière pour que je me repose. Ce travail est le fruit de tes prières tes encouragements et de tes bénédictions. Puisse Dieu te garder encore longtemps auprès de nous.

A mon cousin Saïbou Koné (*in memorrium*)

Plus qu'un cousin, tu étais mon petit frère. Comme j'aurais aimé que tu sois présent pour me voir soutenir cette thèse. Que ton âme repose en paix !

A mes neveux et nièces : Roc William, Djénéba, Esther, Yacoub

Faites montre de courage et d'abnégation dans le travail. Vous m'aviez aimée comme votre propre mère ; puisse ce travail être votre repère, je vous souhaite de faire mieux que ça. Je vous aime tant.

A ma fille bien aimée Yabile Eudeline Zenab KOULIBALY

C'est avec une immense joie que je t'ai entendu pousser le premier cri le jour même de ma soutenance, puisse Dieu te bénir et te permettre de faire mieux que maman.

A mes frères et sœurs : Sétou, Moussa (papson), Oumar, Aminata, Tibi-Abi, Draman (Titi) et Assey

Ce travail est aussi le vôtre, puissions-nous rester unis pour toujours.

A mon oncle et tuteur Adrien KONE et à ma tante Sétou KONE/SONTIE

Vous m'aviez toujours accueillie dans votre maison comme votre fille. Votre disponibilité, votre soutien et surtout vos encouragements m'ont été très utiles pendant toutes ces années. Que Dieu vous donne longue vie et vous comble de bonheur.

A mes oncles : Jouani SOMBIE, Dr Seydou SOURABIE et Boniface SOMBIE

Merci pour votre soutien et vos encouragements pendant toutes ces années.

A mon très cher San Narcisse KOULIBALY

Merci pour ton affection ta confiance et surtout ta patience. Grâce à tes encouragements et à ton soutien constant même dans les moments les plus difficiles, j'ai réussi à achever ce travail. Puisse Dieu renforcer et bénir notre amour.

A toute la grande famille HEBIE et SOURABIE

Puissions-nous rester toujours unis.

A mes amies, Hortense et Florence

Vous êtes devenues comme des sœurs pour moi. Ce travail est aussi le vôtre. Je vous souhaite de faire mieux que moi. Puisse Dieu renforcer notre amitié et nous garder unies pour toujours.

A tous mes amis et camarades de l' UFR/SDS

Votre amitié et votre camaraderie m'a été précieuse pendant toutes ses années. Je vous réitère mon amitié sincère.

REMERCIEMENTS

REMERCIEMENTS

La réalisation de ce travail n'a été possible que grâce à la disponibilité et à la sincère collaboration de certaines bonnes volontés. Nous exprimons nos sincères remerciements :

Au Directeur du Centre de Recherche Biomoléculaire Pietro Annigoni (CERBA), le Professeur Jacques SIMPORE, qui nous a offert gracieusement tous les réactifs et le cadre de travail. Merci pour votre soutien. Que le Seigneur vous le rende au centuple. Que Dieu vous bénisse et soutienne toutes vos entreprises.

Au Docteur Charlemagne GNOULA

Pour m'avoir si bien encadrée lors de ce travail. Je vous saurai grée pour les encouragements, les conseils et les suggestions dont j'ai bénéficié pour la réalisation de cette étude.

Au Professeur Eloi PALE

Pour m'avoir accueilli dans son laboratoire pour la caractérisation phytochimique.

Au Docteur GANABA du DPF du CNRST pour sa disponibilité et ses conseils.

Au Docteur Youssouf OUATTARA pour son soutien, sa disponibilité et ses conseils.

Aux Docteurs Fulbert LOMPO, Thomas YAMEOGO et Adama TRAORE pour l'encadrement, le soutien et les conseils reçus lors de notre stage rural.

Aux Docteurs Constantin DABIRE, Adama HEMA, Thierry PALENFO, Souleymane FOFANA, Florence OUEDRAOGO, Aziz KIHINDO, Saya N'GUESSAN pour leur collaboration et les services rendus.

A Messieurs Paulin Koura et Moumouni KOALA pour les services rendus.

Aux étudiants du CERBA : Bazié, Issa, Martial, Wetien, Bouréïma, Bassory, Nadia, Nathalie pour leur collaboration au laboratoire.

Au Directeur de la pharmacie Yennenga et à tout le personnel; pour l'encadrement reçu lors de notre stage officinal.

A Tous les enseignants de l'UFR/SDS pour les enseignements reçus.

A tout le personnel du CERBA en particulier M. Désiré, M. Moret, M. Germais et le Père Albert. Merci pour votre collaboration.

A tout le personnel de l'IRSS en particulier M. Yaro pour les services rendus.

A tous ceux qui de près ou de loin, ont contribué directement ou indirectement à la réalisation de ce modeste travail, trouvez ici, l'expression de nos sentiments de profonde gratitude.

A NOS MAITRES ET JUGES

A notre Maître et Directeur de Thèse

Le Professeur Jean-Baptiste NIKIEMA

Professeur Titulaire de Pharmacognosie à l'UFR / SDS

Université de Ouagadougou ;

Chef du département des sciences Pharmaceutiques Appliquées ;

Directeur Général de la Direction Générale de la Pharmacie, du

Médicament et des Laboratoires (DGPML) ;

Chevalier de l'ordre Nationale

Honorable Maître, nous sommes très touchée par l'honneur que vous nous avez fait en acceptant de diriger ce travail. Nous avons eu le privilège de bénéficier de vos enseignements clairs, précis et pleins de sciences. Nous gardons de vous l'image d'un homme de sciences rigoureux, appliqué et attaché au travail bien fait. Veuillez trouver ici cher Maître, l'expression de notre plus grand respect.

A notre Maître et Co-directeur de Thèse

Le Professeur Jacques SIMPORE

Professeur Titulaire de Génétique et de Biologie Moléculaire UFR / SVT

Université de Ouagadougou,

Au Directeur du Centre de Recherche Biomoléculaire Pietro Annigoni

(CERBA)

Recteur de l'Université Saint-Thomas d'Aquin (USTA).

Honorable Maître, c'est un privilège pour nous d'avoir eu facilement accès à tout dans votre Centre de recherche. Votre rigueur scientifique et votre humanisme n'ont d'égal que votre générosité et votre modestie. Recevez Cher Maître, l'expression de notre profonde gratitude.

A notre Maître et Co-directeur de thèse

Le Docteur Charlemagne GNOULA,

Maître Assistant en Chimie Thérapeutique à l'UFR / SDS

Université de Ouagadougou ;

***Responsable du laboratoire d'oncologie expérimentale et de
phytochimie au Centre de recherche Biomoléculaire Pietro annigoni
(CERBA)***

Cher maître,

Vous nous avez honorée en nous confiant ce travail et vous nous avez permis, grâce à vos compétences, votre rigueur, votre amour du travail bien fait, votre disponibilité constante, vos conseils éclairés et vos encouragements, de mener à bien ce travail.

Vous savez conjuguer le savoir-faire et le savoir-être, Faisant de vous l'un dont le seul nom force le respect.

Ce travail est le vôtre. Nous vous prions d'accepter cher maître l'expression de notre sincère reconnaissance et de notre profond respect.

A notre Maître et président du jury :

Le Professeur Jean SAKANDE

Maître de conférences agrégé de Biochimie à l'UFR/SDS

Université de Ouagadougou ;

***Biologiste des hôpitaux au Centre Hospitalier-Universitaire Yalgado
OUEDRAOGO (CHU-YO) de Ouagadougou ;***

***Directeur des laboratoires à la Direction Générale des Pharmacies, du
Médicament et des laboratoires (DGPML) ;***

Ancien interne des hôpitaux d'Abidjan

Honorable maître,

Vous nous avez fait un grand honneur en acceptant de présider ce jury en dépit de vos multiples sollicitations.

Nous avons eu le privilège de bénéficier de vos enseignements théoriques et pratiques au cours de notre cursus universitaire. Vos qualités scientifiques et humaines font de vous un homme respecté de tous.

Honorable maître, avec tout le respect et toutes nos considérations, nous vous adressons de vifs remerciements.

A notre Maître et juge :

Le Professeur Eloi PALE,

Maître de conférences de chimie organique à l'UFR/SEA ;

***Responsable du Laboratoire de Chimie Organique et de Physique
Appliquées à l'UFR/SEA***

Université de Ouagadougou

Honorable maître,

C'est un privilège pour nous d'avoir eu facilement accès à tout dans votre laboratoire. La spontanéité avec laquelle vous avez accepté de siéger dans ce jury nous honore et nous réconforte.

Recevez cher maître, toute notre reconnaissance, nos sincères remerciements et notre profond respect.

A notre Maître et juge :

Le Docteur Estelle Noëla Hoho YOUL,

Assistant en pharmacologie à l'UFR/SDS

Université de Ouagadougou

Cher maître,

Vous nous avez honorée en acceptant de siéger dans ce jury et nous en sommes très sensible. Vos connaissances scientifiques contribueront sans nul doute à améliorer ce travail.

Soyez assuré cher maître, de notre admiration et de notre profond respect.

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.

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

ADN :	Acide Désoxyribonucléique
ARN :	Acide Ribonucléique
BHA :	Butyl Hydroxy-Anisole
BHT :	Butyl Hydroxy-Toluène
CCM :	Chromatographie sur Couche Mince
CERBA :	Centre de Recherche Biomoléculaire Pietro Annigoni
CNRST :	Centre National de Recherche Scientifique et Technologique
Cm :	Centimètre
CO₂ :	Dioxyde de carbone
DPF :	Département Production Forestière
DPPH :	Diphényl Picryl-Hydrazyl
DMSO:	Diméthyl Sulfoxide
DMEM:	Dublecco's Modified Eagle's Medium
ERO :	Espèces réactives de l'oxygène
FBS :	Fœtal Bovine Serum
HBV :	Virus de l'Hépatite B
HCV :	Virus de l'Hépatite C
HPV :	Papillomavirus Humain
IARC :	Institut Américain de Recherche sur le Cancer
IC50 :	Inhibitor Concentration 50
mL :	millilitre

MST:	Maladies sexuellement transmissibles
MTT:	Mitochondrial Tetrazolium Test
NCI:	National Cancer Institute
OMS:	Organisation Mondiale de la Santé
PBS:	Phosphate Buffered Saline
Rf:	Rapport frontal
RPMI:	Roswell Park Memorial Institute
SOD:	Superoxide dismutase
UICC:	Union for International Cancer Control
ULB:	Université Libre de Bruxelles
UV:	Ultra-violet
VADS:	Voies aéro-digestives supérieures
V/V:	Volume/ volume
µg:	Microgramme
µL:	Microlitre
°C:	Degré Celsius

TABLE DES MATIERES

LISTE DES RESPONSABLES ADMINISTRATIFS ET DES ENSEIGNANTS DE L'UFR/SDS..I	
DEDICACES.....	VIII
REMERCIEMENTS	XII
LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS	XXI
LISTE DES TABLEAUX.....	XXVI
LISTE DES FIGURES.....	XXVII
INTRODUCTION	1
ENONCE DU PROBLEME	1
CHAPITRE I : GENERALITES	4
I. GENERALITES SUR LE CANCER	4
1. DEFINITION	4
2. CANCEROGENESE.....	4
2.1. <i>Initiation</i>	4
2.2. <i>Promotion</i>	5
2.3. <i>Progression</i>	5
3. EPIDEMIOLOGIE DU CANCER.....	6
3.1. <i>Incidence du cancer dans le monde</i>	6
3.2. <i>Mortalité par cancer</i>	6
3.3. <i>Facteurs de risque</i>	7
4. PREVENTION DU CANCER.....	7
5. TRAITEMENT DU CANCER.....	9
5.1. <i>Chirurgie</i>	9
5.2. <i>Radiothérapie</i>	9
5.3. <i>Hormonothérapie</i>	10
5.4. <i>Chimiothérapie</i>	10
5.5. <i>L'immunothérapie</i>	11
6. CLASSIFICATION DES ANTITUMORAUX.....	11
6.1. <i>Agents alkylants</i>	12
6. 2. <i>Intercalants</i>	15
6.3. <i>Antimétabolites</i>	16
6.4. <i>Antimitotiques</i>	16
7. EFFETS INDESIRABLES DES ANTICANCEREUX	22
II. GENERALITE SUR L'ACTIVITE ANTIRADICALAIRE.....	24
1. RADICAUX LIBRES	24
2. ANTIOXYDANTS	25
3. ANTIOXYDANTS D'ORIGINE VEGETALE.....	26
4. ANTIOXYDANTS ET PREVENTION DU CANCER.....	27
III- RAPPELS SUR LA PLANTE.....	27
1. ETUDE BOTANIQUE	27
2. USAGES THERAPEUTIQUES TRADITIONNELS	29
2.1. <i>Usage au Burkina Faso</i>	29
2.2. <i>Autres usages thérapeutiques</i>	29
3. DONNEES PHYTOCHIMIQUES ET PHARMACOLOGIQUES	30

3.1. Données phytochimiques.....	30
3.2. Données pharmacologiques.....	31
4. TOXICITE DES GRAINES.....	32
CHAPITRE II : OBJECTIFS DE L'ETUDE.....	32
1. OBJECTIF GENERAL	32
2. OBJECTIFS SPECIFIQUES	32
CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODES	33
I. TYPE, PERIODE ET CADRE D'ETUDE.....	33
II. PREPARATION DES EXTRAITS	33
1. MATERIEL D'EXTRACTION	33
1.1. Matériel végétal.....	33
1.2. Matériel de laboratoire	35
1.3. Solvants d'extraction.....	35
1.3. Méthode d'extraction.....	35
III. CARACTERISATION PHYTOCHIMIQUE DES EXTRAITS.....	36
1. MATERIEL ET SOLVANTS.....	36
1.1. Matériel.....	36
1.2. Solvants et réactifs.....	37
2. METHODE	38
2.1. Réactions en tube	38
2.2. Chromatographie sur couche mince (CCM).....	40
IV. EVALUATION DE L'EFFET ANTIPROLIFERATIF	41
1. MATERIELS.....	41
1.1. Lignées cellulaires et milieux de culture.....	41
1.2. Matériels de laboratoire.....	42
1.3. Solvants et réactifs.....	43
2. METHODE	43
2.1. Culture cellulaire.....	43
2.2. Test antiprolifératif.....	44
IV. EVALUATION DE L'EFFET ANTIRADICALAIRE.....	46
1. MATERIELS.....	46
1.1. Matériel de laboratoire.....	46
1.2. Solvants et réactifs du test antiradicalaires	46
2. METHODE	47
IV. METHODE DE TRAITEMENT DES DONNEES.....	48
CHAPITRE IV : RESULTATS DE L'ETUDE.....	49
I. RESULTATS DE L'ETUDE PHYTOCHIMIQUE.....	49
1. RENDEMENTS D'EXTRACTION.....	49
2. CARACTERISATION DES PRINCIPALES FAMILLES CHIMIQUES	50
2.1. Réactions en tubes.....	50
2.2. Chromatographie sur couche mince (CCM).....	51
II- RESULTATS DE L'ETUDE DE L'EFFET ANTIPROLIFERATIF.....	55
1. EFFET ANTIPROLIFERATIF DES EXTRAITS SUR LA LIGNEE CELLULAIRE A549.....	55
2. EFFET ANTIPROLIFERATIFS DES EXTRAITS SUR LA LIGNEE CANCEREUSE LoVo-MF	55

3. EFFET ANTIPROLIFERATIF DES EXTRAITS SUR LA LIGNEE CELLULAIRE MCF7	56
III. RESULTATS DE L'ETUDE DE L'EFFET ANTIRADICALAIRE.....	57
1. EFFET ANTIRADICALAIRE DE L'EXTRAIT METHANOLIQUE ET DE LA QUERCETINE	57
2. EFFET ANTIRADICALAIRE DU PERCOLAT AQUEUX.....	58
3. EFFETS ANTIRADICALAIRE DU MACERE AQUEUX.....	59
4. EFFET ANTIRADICALAIRE DE L'EXTRAIT DE DICHLOROMETHANE/METHANOL	60
5. EFFET ANTIRADICALAIRE DE L'EXTRAIT DE DICHLOROMETHANE	61
CHAPITRE V : DISCUSSION	76
I. LIMITES DE L'ETUDE	76
II. ETUDE PHYTOCHIMIQUE.....	76
1. RENDEMENT D'EXTRACTION.....	76
2. SCREENING PHYTOCHIMIQUE.....	76
III. ETUDE PHARMACOLOGIQUE	78
1. EFFET ANTIPROLIFERATIF	78
2. EFFET ANTIRADICALAIRE	80
CONCLUSION.....	82
PERSPECTIVES	83
REFERENCES.....	84
ANNEXES	94
ANNEXE I : METHODES D'EVALUATION DU POTENTIEL ANTI-TUMORAL.....	94
1. VIDEO-MICROSCOPIE QUANTITATIVE.....	94
2. MICROSCOPIE EN FLUORESCENCE	96
3. CYTOMETRIE EN FLUX.....	96
4. TEST COLORIMETRIQUE MTT	97
ANNEXE II. PREPARATION DE QUELQUES REACTIFS DE CARACTERISATION PHYTOCHIMIQUE.....	98
1. CHLORURE FERRIQUE 2 % (M/V).....	98
2. REACTIF DE DRAGENDORFF.....	98
3. REACTIF DE MEYER	98
4. REACTIF DE SHIBATAT.....	98
5. REACTIF DE KEDDE	98
ANNEXE III. PROCEDURE DE CULTURE CELLULAIRE.....	99
1. CONSIDERATIONS GENERALES	99
2. PREPARATION DES MILIEUX DE CULTURE	99
3. CONGELATION DE CELLULES A PARTIR DE FLASQUES DE 25-CM ²	99
4. REMISE EN CULTURE DES CELLULES	100
5. PASSAGE DES CELLULES	100
ANNEXE IV. ATTESTATION DE DEPOT D'ECHANTILLONS.....	102
RESUME	104
ABSTRACT.....	105

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I :	Composition du mélange réactionnel du test MTTp45
Tableau II :	Composition du mélange réactionnel du test de réduction du DPPH (mL)p48
Tableau III :	Rendements d'extraction en fonction des solvantsp49
Tableau IV :	Résultats des réactions de caractérisation en tubesp50
Tableau V :	Rapports frontaux des extraits de <i>Abrus precatorius</i> L. après révélation des taninsp51
Tableau VI :	Rapports frontaux des extraits de <i>Abrus precatorius</i> L. après révélation des saponosidesp52
Tableau VII :	Rapports frontaux des extraits de <i>Abrus precatorius</i> L. après révélation des flavonoïdesp53
Tableau VIII :	Rapports frontaux des extraits de <i>Abrus precatorius</i> L. après révélation des cardénolidesp54
Tableau IX :	Effet antiprolifératif des extraits sur la lignée cellulaire A549.....p55
Tableau X :	Effet antiprolifératif des extraits sur la lignée cellulaire LOVO-MF.....p56
Tableau XI :	Effet antiprolifératif des extraits sur la lignée cellulaire MCF7.....p56

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Principales étapes de la cancérogenèse	p05
Figure 2 : Quelques structures des moutardes azotées.....	p12
Figure 3 : Quelques structures des ethylènes imines	p13
Figure 4 : structure du busulfan	p13
Figure 5 : structures de quelques nitrosourées.....	p14
Figure 6 : structures de quelques complexes de platine.....	p14
Figure 7 : structures de quelques intercalantsnts	p15
Figure 8 : structures de quelques antimétabolites.....	p16
Figure 9 : structures d'alcaloïdes de la pervenche de Madagascar.....	p18
Figure 10 : Structure du paclitaxel.....	p19
Figure 11 : Structure de la podophylotoxine	p20
Figure 12 : Structure de la Camptothécine.....	p22
Figure 13 : plante entière de <i>Abrus precatorius</i> L.....	p28
Figure 14 : gousses et graines de <i>Abrus precatorius</i> L.....	p29
Figure 15 : structure d'une isoflavone isolée des feuilles de <i>Abrus precatorius</i> L.....	p30
Figure 16 : Graines de <i>Abrus precatorius</i> L.	p34
Figure 17 : Représentation d'une plaque de CCM.....	p40
Figure 18 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.....	p47
Figure 19 : Effet inhibiteur de l'extrait méthanolique des graines et de la quercétine sur le radical DPPH.	p57

Figure 20 : Effet inhibiteur du percolat aqueux des graines sur le radical DPPH.p58

Figure 21 : Effet inhibiteur du macéré aqueux des graines sur le radical DPPH.p59

Figure 22 : Effet inhibiteur de l'extrait de dichlorométhane/ méthanol 1/1 (V/V) des graines sur le radical DPPH.p60

Figure 23 : Effet inhibiteur de l'extrait de dichlorométhane des graines sur le radical DPPH.p61

INTRODUCTION- ENONCE DU PROBLEME

INTRODUCTION

Le « Cancer » est un terme générique appliqué à un grand groupe de maladies qui peuvent se manifester sur tous les tissus de l'organisme humain. Il se caractérise par la prolifération rapide de cellules anormales qui peuvent essaimer d'autres organes en formant ainsi des métastases. L'incidence du cancer a doublé entre 1980 et 2005 ; de nos jours, il constitue un véritable problème de santé publique. En effet, elle constitue l'une des principales causes de décès dans le monde, soit environ 13% du nombre de décès total (**Globocan, 2008 ; IARC, 2010**).

En 2005, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) estimait à 24,6 millions, le nombre de personnes atteintes de cancer dans le monde avec 10,9 millions de nouveaux cas annuels et 6,7 millions de décès liés à cette maladie. Il constitue la deuxième cause de mortalité dans les pays développés et l'une des trois causes majeures de décès des adultes dans les pays en développement. Si la tendance se maintient, à l'horizon 2020, il y aura 16 millions de nouveaux cas avec 10,3 millions de décès par an dont les 2/3 se situeront dans les nouveaux pays industrialisés et les pays en développement. (**OMS, 2005**). Au Burkina Faso, l'OMS estimait à environ huit milles, le nombre de cas de cancer en 2002 avec 3% de décès.

Ce taux pourrait doubler d'ici 2020 si des actions ne sont pas menées en faveur de la lutte contre le cancer en plus de ce qui est déjà fait (**OMS, 2002**).

ENONCE DU PROBLEME

De par sa nature, le cancer constitue un gros défi pour les systèmes de soin. Pour y faire face, il est nécessaire que nous nous investissions davantage dans les programmes de prévention, de détection précoce et de traitement.

Pour traiter efficacement les cancers, il faut que les systèmes de santé publique disposent de ressources suffisantes et garantissent l'accès de tous les malades à des soins de qualité.

Cependant, le traitement du cancer constitue jusque-là une thérapeutique lourde que ce soit par l'utilisation des rayonnements radioactifs ou des médicaments, à cause des nombreux effets secondaires rencontrés et la cherté des médicaments anticancéreux présents sur le marché. De plus, la survenue de métastases rend bon nombre de cancers résistants aux traitements chimiothérapeutiques classiques (**Hayot, 2006**). Pour pallier ces insuffisances, les stratégies actuelles orientent les investigations vers la prévention et le développement de nouvelles approches thérapeutiques, ciblées sur les caractéristiques biologiques et moléculaires de ces cancers. De nos jours, de nombreux travaux ont été réalisés et ont obtenus des résultats satisfaisants. D'importants travaux scientifiques réalisés sur des extraits végétaux ont mis en évidence un effet antiprolifératif remarquable sur les glioblastomes, les cellules du cancer de poumons non- à- petites cellules et les cellules de cancer réfractaire de prostate qui résistent à la radiothérapie et à la chimiothérapie (**Lefranc et coll. 2006 ; Mijatovic et coll., 2007, Gnoula et coll., 2008; kouamé et coll., 2009, Kihindo et coll., 2011**). C'est le cas de UNBS 1450, un cardénolide isolé des racines de *Calotropis procera* qui a exercé un puissant effet inhibiteur sur la prolifération et la migration des cellules tumorales en agissant sur la sous unité α_1 de la pompe sodique Na^+/K^+ -ATP-ase (**Lefranc et coll., 2006, 2008; Mijatovic et coll., 2006, 2007 2008**). Les plantes de la pharmacopée traditionnelle constituent donc une opportunité pour la recherche de nouvelles molécules pouvant traiter efficacement le cancer. *Abrus precatorius* L. connue sous le nom de Jéquirity, est une plante originaire des régions tropicales de l'Amérique du Sud et est présente dans la plupart des pays tropicaux dont le Burkina Faso. Des études ethnobotaniques réalisées au Burkina Faso ont rapporté que *Abrus precatorius* L. était beaucoup utilisée dans la médecine traditionnelle pour traiter certaines pathologies telles que ; la toux, l'ulcère, les gastroentérites et les cardiopathies (**Nacoulma et coll, 1996 ; Yaro, 2011**). En effet, plus de 39% des tradipraticiens de santé l'utilise pour traiter des pathologies dans la ville de Ouagadougou (**Yaro, 2011**).

De plus, *Abrus precatorius* contient des saponosides, et des composés polyphénoliques notamment des tanins et des flavonoïdes (**Saxena et sharma, 1991 ; Dimetry et coll., 1992 ; Nacoulma et coll., 1996 et Anam et coll., 2001**) au potentiel antiradicalaire remarquable (**Kelly et coll., 2002**). Par ailleurs, l'implication des espèces réactives de l'oxygène (ERO) dont font partie les radicaux libres dans l'altération du matériel génétique des cellules et la survenue des cancers a été établie (**Pincemail et coll., 1999**). C'est pourquoi nous avons entrepris à travers la présente étude, d'évaluer les effets antiprolifératif et anti-radicalaire d'extraits de graines de *Abrus precatorius* L. en vue de mettre en évidence le potentiel anti-tumoral des graines de cette plante.

PREMIERE PARTIE

GENERALITES

CHAPITRE I : GENERALITES

I. GENERALITES SUR LE CANCER

1. Définition

Le cancer correspond à la prolifération anarchique de certaines cellules de l'organisme. Ces cellules qui échappent aux mécanismes de différenciation et de régulation sont capables de détruire et d'envahir le tissu normal avoisinant et de migrer à distance pour former des métastases. D'un point de vue biologique, le cancer est la conséquence d'une accumulation d'altération du génome cellulaire ou de sa transcription qui permettent l'autonomie de la division, l'invasion locale, l'angiogenèse, la diffusion métastatique ou la résistance aux drogues (**Jean-Marc et coll., 2005**).

2. Cancérogenèse

On admet que la plupart des tumeurs malignes sont issues d'une seule cellule transformée. Cependant, une cellule maligne n'aboutira pas forcément à une tumeur clinique. Chaque tissu de chaque organe peut avec une fréquence très variable, être le siège d'une tumeur cancéreuse (**Demaille et Cappelaere, 1989**).

La genèse d'un cancer comprend schématiquement trois (03) étapes à savoir, l'initiation, la promotion et la progression. (Figure 1)

2.1. Initiation

Cette étape correspond à l'altération de l'ADN par un cancérogène génotoxique dit initiateur. Il s'agit d'un phénomène irréversible. Les cellules endommagées (initiées) échappent au contrôle normal de division cellulaire. Les agents génotoxiques initiateurs peuvent être physiques (radiations ionisantes, UV, etc.) chimiques (l'amiante, les composants de la fumée du tabac, l'aflatoxine, l'arsenic, etc.) ou biologiques (certains virus, bactéries ou parasites, etc.).

2.2. Promotion

C'est un phénomène potentiellement réversible qui ne résulte pas de la modification de l'ADN ; on parle de processus épi génétique. Son rôle est de maintenir l'initiation. La cellule cancéreuse perd la capacité de « reconnaître sa vieillesse », d'initier sa mort et de réparer les dommages de son ADN.

2.3. Progression

C'est l'étape finale dans le développement d'un cancer qui devient cliniquement détectable. Elle correspond à l'acquisition des propriétés de multiplication non contrôlée d'indépendance, de perte de la différenciation, d'invasion locale et métastatique (**Riedinger et coll., 2005**).

Une caractéristique fondamentale des cancers est leur capacité d'envahir progressivement le tissu voisin. La rupture et le franchissement de la membrane basale sont des critères formels pour distinguer un carcinome *in situ* (non invasif) d'un carcinome invasif.

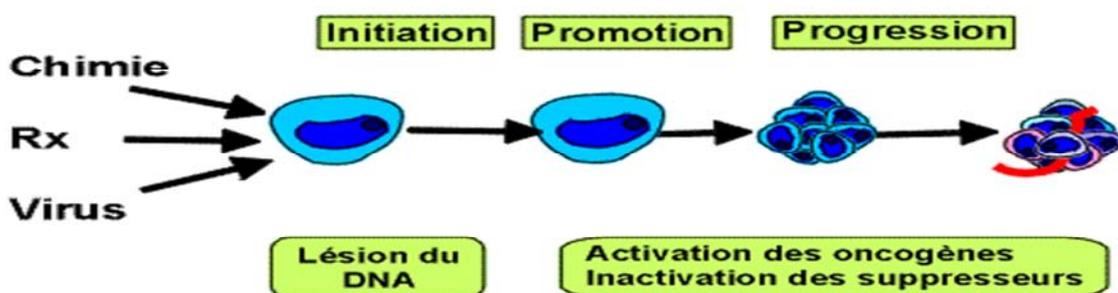


Figure 1 : Les Principales étapes de la cancérogenèse

3. Epidémiologie du cancer

3.1. Incidence du cancer dans le monde

L'incidence du cancer a plus que doublée entre 1980 et 2005 (**OMS, 2005**). De nos jours les chiffres sont encore plus alarmants. En effet, l'OMS estime à 25 mille le nombre de patients vivant avec un cancer (**OMS, 2007**).

Le cancer du poumon vient en tête avec une incidence de 12,7% suivi de celui du sein (10,9%), du colon (9,8%), de l'estomac (7,8%), de la prostate (7,1%), du foie (5,9%), du col de l'utérus (4,2%), de l'œsophage (3,8%) et de la vessie (3,0%). (**Globocan, 2008**). Une répartition des cancers selon le sexe montre que chez l'homme les cancers les plus fréquents sont le cancer de poumon avec une incidence de 16,5%, le cancer de prostate (13,6%) et le cancer colorectal (10,0%). Chez la femme, le cancer le plus fréquent demeure celui du sein (22,9%) suivi du cancer colorectal (9,4%) et le cancer de l'utérus avec une incidence de 8,8% (**Globocan, 2008**).

3.2. Mortalité par cancer

La mortalité par cancer augmente en dépit des progrès du dépistage et des traitements. Cette évolution est induite par le vieillissement général de la population et des facteurs environnementaux (**OMS, IARC, 2008**).

Le cancer constitue la première cause de décès chez l'homme et la seconde chez la femme après les maladies cardiovasculaires. Sur 7,6 millions de morts estimés en 2008, 13% de ces décès étaient liés au cancer. Le cancer du poumon arrive en tête des causes de décès avec 1,4 millions de décès, suivi du cancer de l'estomac (740000 décès), celui de la vessie (700000 décès), du colon (610000 décès) et du sein avec 460000 décès (**OMS, IARC, 2008**). Les hommes ont une mortalité par cancer plus élevée, car ils présentent les cancers les plus graves. Environ 70% des décès liés au cancer ont été observés dans les pays à revenus moyens et dans les pays à faibles revenus. Les décès dus au cancer sont estimés à 11 millions à l'horizon 2030 (**Globocan, 2008**).

3.3. Facteurs de risque

Un facteur de risque est une caractéristique liée à une personne, à son environnement, sa culture ou son mode de vie et qui entraîne pour elle une probabilité plus élevée de développer une maladie.

Malgré les progrès qui ont permis de mieux comprendre les mécanismes de développement des cancers, il est difficile d'établir une relation de cause à effet pour ces maladies. Néanmoins, des facteurs de risque ont été identifiés comme favorisant la survenue des cancers. De ce fait, le tabagisme, la consommation d'alcool, une alimentation déséquilibrée et les infections chroniques liées aux virus de l'hépatite B (HBV), de l'hépatite C (HCV) et de certains types de papillomavirus humain (HPV) ont été identifiés comme étant les principaux facteurs de risque cancéreux dans les pays à faibles revenus ou à revenus intermédiaires. **(OMS, 2012)**. En effet, Le tabagisme est le facteur de risque cancéreux le plus important, entraînant dans le monde 22% de la mortalité par cancer et 71% des décès par cancer du poumon. Dans de nombreux pays à revenu faible, jusqu'à 20% des décès par cancer sont dus aux infections à HBV et à HPV. A cela, nous pouvons ajouter la pollution de l'air, la surcharge pondérale ou l'obésité et la prédisposition génétique **(OMS, 2012)**.

4. Prévention du cancer

D'un point de vue général, la prévention primaire des cancers vise à réduire leur incidence. En effet, 30% des cancers peuvent être prévenus en évitant les facteurs de risque tels que le tabagisme, la consommation d'alcool, l'obésité, l'infection au HPV et la pollution **(OMS, IARC, 2008)**. Du point de vue social, c'est l'espoir que la morbidité et la mortalité par cancer diminuent **(Demaille et coll., 1989)**.

La prévention des cancers est «l'action visant à éliminer ou à neutraliser les facteurs connus ou soupçonnés de la cancérogenèse et à traiter les états précancéreux» **(Demaille et coll., 1989)**.

D'après cette définition, la prévention s'applique à la phase initiale du processus de transformation cellulaire, avant le développement du clone cellulaire malin.

Elle n'est possible qu'après avoir reconnu les facteurs de risque et dans la mesure où ceux-ci peuvent être contrôlés ou éliminés (**Demaille et coll., 1989**). On distingue deux niveaux de prévention à savoir :

- La prévention primaire qui consiste à supprimer les facteurs étiologiques des cancers (les facteurs de risques associés à chaque cancer) et à en protéger les personnes exposées. En effet, en dehors des facteurs génétiques qui ne peuvent être contrôlés pour l'instant, le contrôle des facteurs liés au style de vie et ceux liés à l'environnement qui sont associés à 80% des cancers pourraient donc conduire à la suppression de la majorité des cancers.

- La prévention secondaire vise à traiter les états précancéreux afin d'empêcher l'évolution vers un cancer. Ainsi, un diagnostic précoce peut être à l'origine de la prévention secondaire de certains cancers. A ce sujet, on notera par exemple que la détection et l'ablation des polypes du colon diminue le risque de cancer du côlon. De même, la modification morphologique sur laquelle se base le frottis cervico-vaginal (test de Papanicolaou) permet une détection précoce du cancer du col de l'utérus.

Une autopalpation des seins et des mammographies fréquentes après 40 ans permettent de faire un diagnostic précoce du cancer du sein en vue d'une meilleure prise en charge. La surveillance de certains marqueurs tumoraux permet également un diagnostic précoce chez les patients ayant des antécédents familiaux de cancer.

En outre, des mesures diététiques ou pharmaceutiques destinées à prévenir les cancers constituent les fondements de la chimio-prévention (**Bartsch, 2000**). Les antioxydants qui sont retrouvés dans plusieurs produits alimentaires et certaines plantes médicinales ont prouvé leur implication dans la prévention contre le cancer (**Sakakibara et coll., 2003**).

5. Traitement du cancer

Le but du traitement d'un cancer est d'obtenir la guérison ou, à défaut, de stopper l'évolution le plus longtemps possible tout en atténuant les symptômes de la maladie **(Riedinger et coll., 2005)**.

La thérapeutique anticancéreuse comporte essentiellement deux grandes modalités : les traitements à visée locorégionale (chirurgie, radiothérapie) et les traitements médicaux systémiques tels que la chimiothérapie, l'hormonothérapie et l'immunothérapie. Ces traitements sont utilisés seuls ou le plus souvent, en association **(Riedinger et coll., 2005)**.

5.1. Chirurgie

Elle occupe la place centrale dans le traitement des cancers **(Duplat et coll., 2002)**. Elle permet de préciser le diagnostic anatomopathologique et le caractère localisé ou non de la tumeur. Elle assure le contrôle locorégional et la guérison des formes localisées. La chirurgie curative consiste en l'exérèse de la tumeur en passant en zone saine. Elle fait appel à des techniques destinées à minimiser le risque de dissémination. En effet, plus l'exérèse est large, plus le risque de récurrence est faible **(Gerard et coll., 2001)**.

5.2. Radiothérapie

Il s'agit d'une méthode de traitement à visée locale. Elle utilise des ionisations produites dans le milieu cellulaire par les radiations. On distingue trois modalités d'application :

- la radiothérapie transcutanée dans laquelle le faisceau est émis en dehors de l'organisme ;
- la curiethérapie où les sources radioactives sont soit au contact soit à l'intérieur des tissus tumoraux;
- la chirurgie métabolique qui utilise un radioélément ou un vecteur de radioélément ayant une affinité sélective pour les tissus cancéreux **(Riedinger et coll., 2005)**.

5.3. Hormonothérapie

Il s'agit de traitements cytostatiques permettant de contrôler, pendant parfois une longue période, l'évolution de cancers métastatiques hormono-dépendants. Cependant ; les possibilités de guérison demeurent actuellement très modestes. Comme cancers hormono-dépendants on a les cancers du sein, les cancers de la prostate et les cancers de l'endomètre. La forme la plus simple de l'hormonothérapie reste la castration. Elle peut être chirurgicale (ovariectomie, pulpectomie) ou réalisée médicalement, au moyen d'agonistes de la LH-RH dont le triptoréline (Décapeptyl®) reste le chef de file. L'indication de choix est le cancer de la prostate **(Zelek et coll., 2000)**. De nombreuses molécules d'effet plus spécifique sont venues enrichir l'hormonothérapie anticancéreuse ; il s'agit des anti-oestrogènes avec le tamoxifène comme chef de file, des anti-androgènes voire des inhibiteurs de l'aromatase (anastrozole (Arimidex®)).

5.4. Chimiothérapie

Il s'agit d'un traitement systémique essentiellement utilisé pour traiter les cancers généralisés ou d'éventuelles métastases occultes. Le rythme des cures dépend de la rapidité de récupération et/ou de multiplication tumorale et de la toxicité des drogues **(Borg et coll., 2001)**. Les drogues utilisées se caractérisent par leurs propriétés cytotoxiques : susceptibles de provoquer la mort des cellules cancéreuses qui y sont exposées en raison de leur action sur le métabolisme cellulaire aboutissant le plus souvent à une altération de l'ADN **(Borg et coll., 2001)**.

La combinaison de médicaments cytotoxiques traite efficacement certains cas de cancers. Les traitements actuels échouent souvent parce qu'ils éliminent de nombreuses cellules saines, entraînant d'importants effets secondaires qui limitent les doses administrables. Une autre faiblesse fondamentale de la chimiothérapie est la capacité des cellules tumorales à développer une résistance aux agents anti-tumoraux par activation de voies de survie.

En effet certaines cellules tumorales migrantes acquièrent une résistance à l'apoptose, les rendant insensibles aux traitements cytotoxiques classiques **(Lefranc et coll., 2005)**.

5.5. L'immunothérapie

Elle fait appel à deux mécanismes : l'immunothérapie passive et l'immunothérapie active. La première consiste en un développement d'anticorps dirigés spécifiquement vers les antigènes de surface des cellules tumorales, déclenchant des attaques qui détruisent les cellules cibles. La deuxième correspond à l'utilisation de vaccins anti-tumoraux non toxiques qui serviraient à induire et à maintenir des réponses immunitaires cytolytiques ciblées spécifiquement contre la tumeur.

6. Classification des antitumoraux

Au fil du temps de nouvelles molécules s'ajoutent régulièrement à la chimiothérapie anticancéreuse, certaines optimisant des modes d'action connus, d'autres visant des cibles moléculaires.

On peut distinguer de façon très schématique, quatre(4) classes de médicaments utilisés en chimiothérapie anti-cancéreuse.

Il s'agit des alkylants, des agents intercalants, des anti-métabolites et des antimétaboliques. A ces grandes classes thérapeutiques, nous pouvons ajouter les thérapies ciblées sur lesquelles les oncologues fondent de plus en plus d'espoirs pour faire face à la chimiorésistance anticancéreuse **(Kummar et coll. 2007; Monteith et coll. 2007)**.

6.1. Agents alkylants

Ce sont des composés capables de fixer un groupe alkyl (R-CH₂) sur des acides nucléiques (ADN) ou des protéines (**Espinosa et coll. 2003**).

Selon le mécanisme d'action, on distingue deux groupes de composés:

- les composés formant des liaisons covalentes avec l'ADN,
- les composés qui induisent ou stabilisent des coupures de l'ADN.

Les principales familles chimiques rencontrées sont les moutardes azotées (Chlorméthine, melphalan), les Ethylène-imines ou aziridines, les sulfonfylalcanes, Les nitroso-urées et les complexes du platine.

➤ Structures

• Les moutardes azotées

Ils comportent généralement le motif bis (2chloroéthyl)-amino qui leur confère leur activité biologique. C'est le cas du chlorambucil, le chlorméthine et le melphalan.

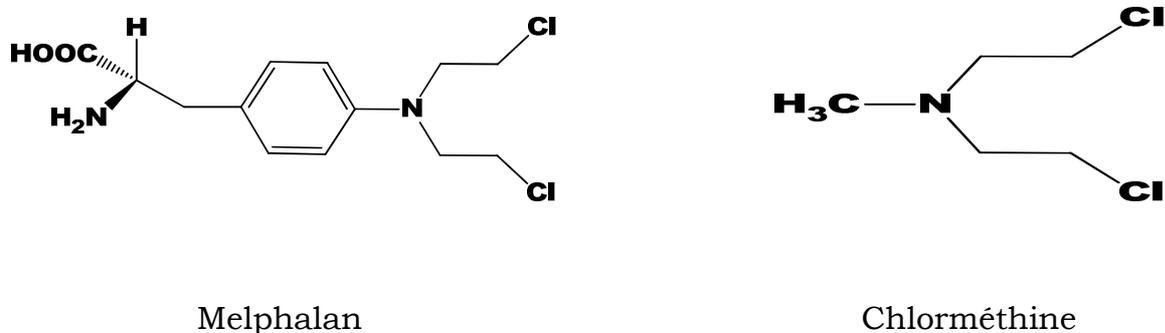
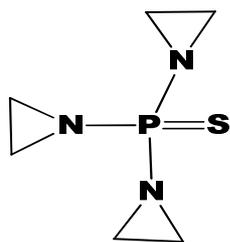


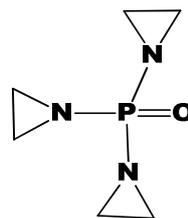
Figure 2 : Quelques structures des moutardes azotées

• Les ethylènes imines ou aziridines

Ils sont caractérisés par la présence d'au moins un cycle aziridine. Le thiotépa constitue le principal composé de cette classe. Il s'agit d'un composé ancien dont les propriétés anti-tumorales ont été mises en évidence dès 1952. Ils sont caractérisés par la présence d'au moins un cycle aziridine.



Thiotépa = Thiohepa® spécia



TEPA

Figure 3 : Quelques structures des ethylènes imines

- **Les sulfonylalcane**

Les sulfonylalcane sont des esters sulfoniques avec pour chef de file le busulfan. Ils ont été découverts en 1950. Le busulfan est une molécule bisulfonylée dont les esters méthane sulfonyle sont reliés par un pont butyle.

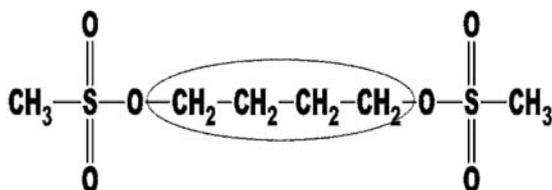
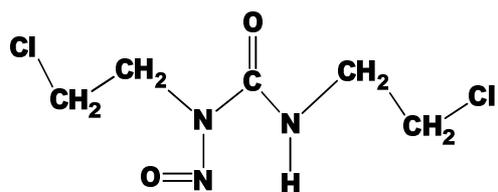


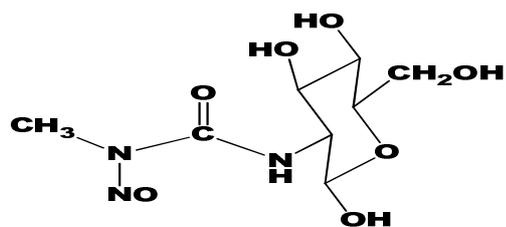
Figure 4 : structure du busulfan

- **Les nitrosourées**

On y distingue deux familles chimiques : les chloroéthylnitrosourées (Carmustine) et les nitrosourées glycosylées (Streptozocine).



Carmustine

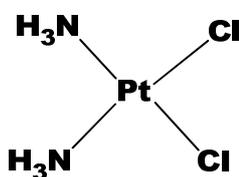


Streptozocine

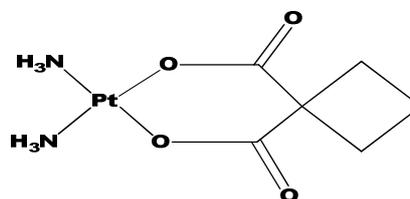
Figure 5 : structures de quelques nitrosourées

- **Les complexes de platine**

Ce sont : la cisplatine, la carboplatine et l'oxaliplatine



Cisplatine



carboplatine

Figure 6 : structures de quelques complexes de platine

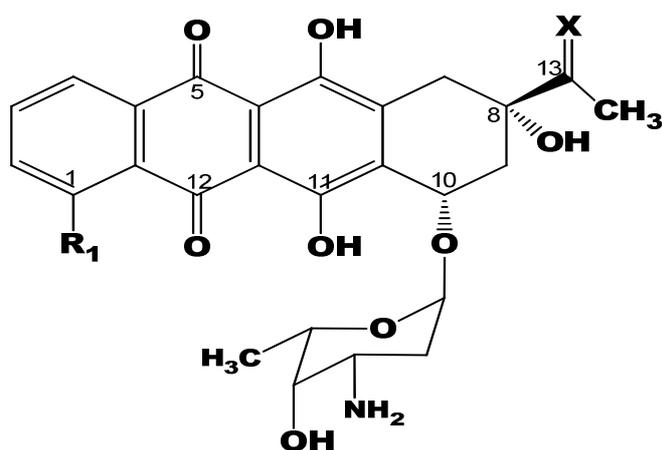
➤ **Mécanisme d'action**

Bi-fonctionnels, les agents alkylants 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 coll. 2003)**.

Certains agents alkylants exercent un mécanisme d'action différent des agents alkylants «classiques» décrits ci-dessus. Il s'agit par exemple du témozolomide qui induit une mort cellulaire de type autophagique (mort cellulaire programmée de type II) plutôt qu'apoptotique (mort cellulaire programmée de type I) **(Lefranc et Kiss 2006)**. Ceci explique en partie le bénéfice thérapeutique lié à cette molécule dans le cas du traitement des gliomes malins qui sont résistants aux processus de mort pro-apoptotique, et donc à la plupart des anti-tumoraux utilisés en chimiothérapie conventionnelle **(Lefranc et coll. 2005)**.

6. 2. Intercalants

➤ structure



	R1	X
Daunorubicine	OCH ₃	O
Zorubicine	OCH ₃	N-NH-Bz
Idarubicine	H	O

Figure 7 : structures de quelques intercalants

➤ Mécanisme d'action

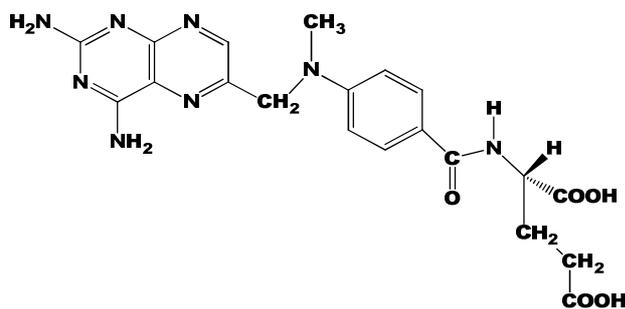
Les intercalants agissent par insertion d'une molécule aromatique plane dans la double hélice de l'ADN (**Hurley 2002**). Il s'ensuit un blocage de la réplication de l'ADN, l'arrêt du cycle cellulaire puis la mort de la cellule cancéreuse.

Les principaux médicaments utilisés en clinique sont souvent extraits de champignons, d'où le terme générique d'antibiotiques. Les principales familles utilisées sont les bléomycines, les actinomycines et les anthracyclines.

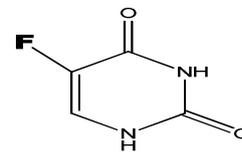
6.3. Antimétabolites

➤ Structure

Les anti-métabolites peuvent être subdivisés en deux groupes à savoir les antifoliques (méthotrexate) et les antiprimidines (la fluoro-uracile).



Methotrexate



Fluoro-uracile

Figure 8 : structures de quelques antimétabolites

➤ Mécanisme d'action

Les agents antimétabolites agissent indirectement sur l'ADN en bloquant des enzymes impliquées dans la synthèse ou la réplication de l'ADN.

Les inhibiteurs de ces enzymes empêchent la réparation des cassures, provoquant un arrêt du cycle cellulaire pouvant conduire à une mort cellulaire programmée de type I, c'est-à-dire l'apoptose.

6.4. Antimitotiques

Les antimitotiques peuvent être subdivisés en 2 groupes :

- Ceux qui inhibent la polymérisation de la tubuline en microtubules (Alcaloïdes de la pervenche : Vincristine, Vinblastine, etc.)

- Ceux qui empêchent la dépolymérisation des microtubules (alcaloïdes d'If, Paclitaxel, Docetaxel, etc.)

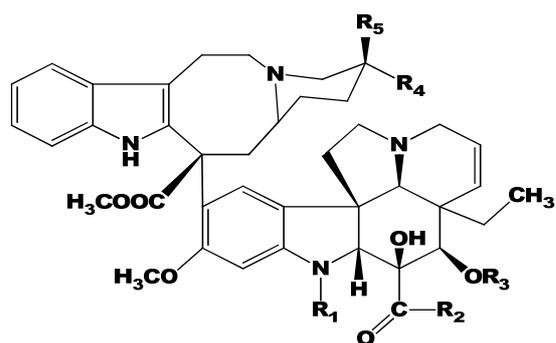
6.4.1. Les alcaloïdes de la pervenche

Plusieurs de ces alcaloïdes sont doués de propriété cytostatique. Ce sont en particulier la vincristine et la vinblastine.

➤ Source

La vinblastine et la vincristine sont deux alcaloïdes extraits des parties aériennes de *Catharanthus roseus* (L) G.Don f. (Apocynaceae) encore appelé *Vinca rosea* L. ou pervenche de Madagascar. C'est une plante originaire de Madagascar, qui est cultivée de nos jours par de nombreux pays à des fins extractives.

➤ **Structure**



	R1	R2	R3	R4	R5
Vincristine	CHO	OCH ₃	OCOCH ₃	CH ₂ CH ₃	OH
Vinblastine	CH ₃	OCH ₃	OCOCH ₃	CH ₂ CH ₃	OH
Vindesine	CH ₃	NH ₂	OH	CH ₂ CH ₃	OH
Vinorelbine	CH ₃	OCH ₃	OCOCH ₃	CH ₂ CH ₃	H

Figure 9: structures d'alcaloïdes de la pervenche de Madagascar

➤ **Dérivés hémisynthétiques**

• **Vindésine**

Cet alcaloïde peut être préparé à partir de la vinblastine par formation de l'hydrazide de 16-desacétylvinblastine [hydrazine] et réduction de l'acylhydrazide par le nickel de Raney dans du méthanol.

• **Vinorelbine** (5'-noranhydrovinblastine)

Il s'agit d'un dérivé hémisynthétique caractérisé par le remplacement du motif tryptaminique de la moitié supérieure (indole-CH₂-CH₂-N-) par un motif de type gramine (indole-CH₂-N-), c'est-à-dire par l'élimination d'un carbone. La vinorelbine est obtenue, *via* un bisiminium, par une réaction de Polonovski sur l'anhydrovinblastine ou par l'intermédiaire de la bromoindolénine de cette dernière.

➤ Mécanisme d'action

La vincristine, la vinblastine et leurs dérivés hémi synthétiques sont des antimitotiques. Ils se fixent sur la tubuline, empêchant ainsi la formation de microtubules nécessaires à la formation du fuseau mitotique. Ils bloquent le processus mitotique et provoquent une accumulation de cellules en métaphase. L'appareil microtubulaire joue également un rôle au niveau de la neurotransmission (microtubules axonaux), d'où la neurotoxicité de ces composés.

6.4.2. Les taxanes : paclitaxel et docétaxel

➤ Source

Le paclitaxel a été initialement extrait en faible quantité (0,01%) des écorces de tronc d'if du pacifique (*Taxus brevifolia* Nutt.) (Taxaceae). Pour préserver l'espèce, une production industrielle de la molécule de synthèse 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, *Taxus baccata* ou encore celle de différents cultivar d'autres espèces (Mann, 2002).

➤ Structure

Le paclitaxel est une diterpène tricyclique à noyau taxane.

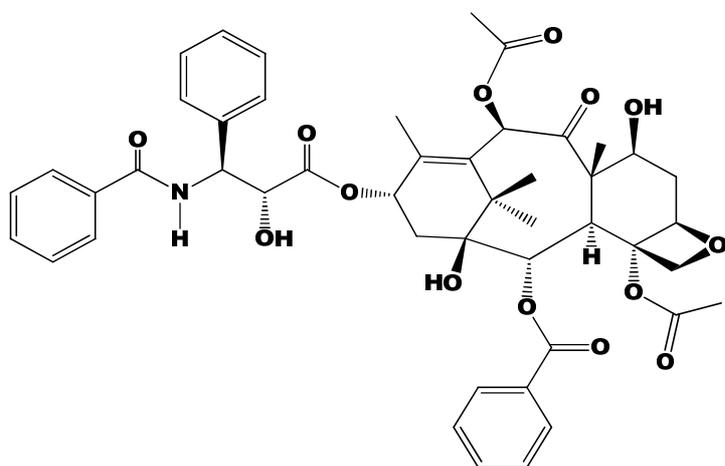


Figure 10 : Structure du paclitaxel

➤ Dérivés hémisynthétiques

Des travaux ont conduit à l'élaboration d'esters en 13 à partir de la 10-désacétylbaccatine III, dans lesquels la N-benzoyl-3-phénylisosérine est remplacée par un analogue structural. L'un de ces analogues est le docétaxel.

➤ Mécanisme d'action

Le paclitaxel est un poison du fuseau. Il promeut l'assemblage des dimères de tubuline en microtubules qu'il stabilise en inhibant leur dépolymérisation.

6.4.3. Les dérivés de podophyllotoxines

➤ Source

Podophyllum peltatum L et *Podophyllum emodii* Wallich (Podophyllaceae) sont des plantes dont les extraits ont longtemps été utilisés par les indiens d'Amérique dans le traitement des cancers de la peau. Le principal composé, la podophyllotoxine fut isolée dès 1880 mais sa structure n'a été élucidée qu'en 1950 (**Newman et coll., 2000**).

➤ Structure

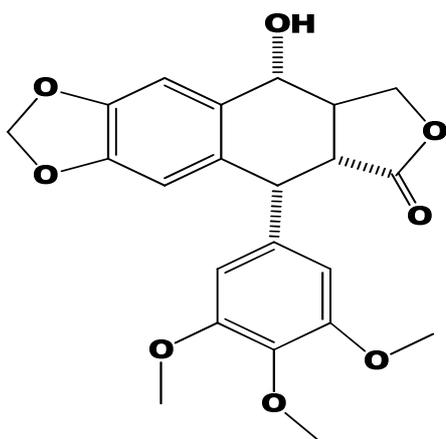


Figure 11: Structure de la podophyllotoxine

➤ **Dérivés hémi-synthétiques**

Les deux composés actifs introduits en thérapeutique anticancéreuse, à savoir, l'étoposide et le teniposide sont des dérivés hémi-synthétiques du produit naturel, épipodophyllotoxine (un isomère de la podophyllotoxine). Les autres dérivés ont été abandonnés à cause de leurs effets indésirables insupportables. De nombreuses recherches ont permis de mettre au point l'étoposide et le téniposide qui sont utilisés en thérapeutique. Ils sont indiqués dans le traitement des lymphomes, des cancers bronchiques et de testicules **(Mann, 2002)**.

➤ **Mécanisme d'action**

Ils agissent par inhibition des topo-isomérases II, enzymes qui modifient le degré d'enroulement de l'ADN en induisant des cassures transitoires et parfaitement régulées afin d'assurer la réplication de l'ADN. Par conséquent, les dérivés de podophyllum agissent indirectement sur l'ADN en bloquant les enzymes impliquées dans la synthèse ou la réplication de l'ADN. L'inhibition de ces enzymes empêche la réparation des cassures, provoquant un arrêt du cycle cellulaire pouvant conduire à une mort cellulaire programmée de type apoptotique **(Hande, 1998)**.

6.4.4. La camptothécine et ses dérivés : topotécan et irinotécan

➤ **Source**

Ces composés ont été isolés d'une plante ornementale retrouvée en Chine et en Tibet, *Camptotheca acuminata* Decne (Nyssaceae) **(Reddy et coll., 2003)**. Le premier composé est la Camptothécine (sel sodique), introduite en clinique par l'Institut National du Cancer (USA) en 1970, puis abandonné à cause de sa toxicité rénale **(Mann et coll., 2002)**.

➤ **Structure**

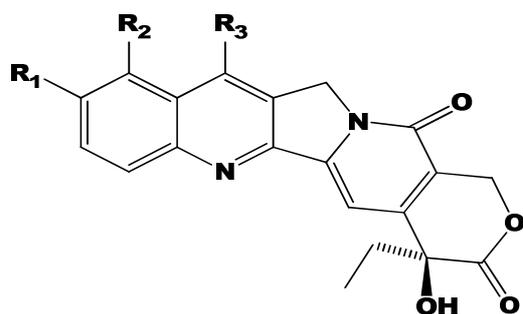


Figure 12 : Structure de la Camptothécine

➤ **Dérivés hémi-synthétiques**

La camptothécine est le principal composé. C'est un alcaloïde quinoline dont l'effet antitumoral a été découvert en 1958 (**Mann, 2000**). Afin de réduire sa toxicité rénale, la camptothécine a fait l'objet de nombreuses modulations pharmacologiques qui ont abouti à des dérivés moins toxiques : le Topotécane et l'Irinotécan.

➤ **Mécanisme d'action**

La camptothécine et ses dérivés agissent par inhibition de la topo-isomérase I, une enzyme essentielle dans le maintien de la structure topographique de l'ADN pendant la translation, la transcription et la mitose. Cette inhibition bloque toutes les cellules en phase G2 en entraînant ainsi leur mort.

7. Effets indésirables des anticancéreux

Les effets indésirables des agents anticancéreux constituent la plus grande limite de la chimiothérapie actuelle. En effet, la plupart des anticancéreux présentement disponibles sur le marché s'attaquent aussi bien aux cellules saines qu'aux cellules cancéreuses engendrant ainsi de nombreux effets indésirables. A titre d'exemple on peut citer:

- La toxicité hématologique : elle se traduit par la destruction des cellules hématopoïétiques, les leucopénies, les neutropénies, les thrombopénies, (Carboplatine, Dacarbazine), l'anémie et les lymphopénies ;

- La toxicité gastro-intestinale : elle se traduit généralement par les nausées et vomissements, les mucites (5 Fluoro-uracile), stomatite, troubles du transit (diarrhées (Irinotécan) et constipation) ;
- La toxicité rénale : nécrose tubulaires (Cisplatine) ;
- La toxicité dermatologique : alopécie, fragilité des ongles, hyperpigmentation ;
- La neurotoxicité : Il s'agit des atteintes sensorielles avec paresthésies, névrites périphériques, abolition des réflexes ostéotendineux, crises convulsives, céphalées, syndromes dépressifs (Vincristine, Vinorelbine, paclitaxel, docetaxel) ;
- La toxicité cardiaque (Anthracyclines, Epirubicine) ;
- La toxicité hépatique : cytolyse (Méthotrexate) ;
- La toxicité pulmonaire : fibroses pulmonaires (Bléomycine) ;
- La néphrotoxicité (Méthotrexate).

A cela, on peut ajouter l'oligospermie chez l'homme et les aménorrhées et ménopause chimio-induite chez la femme (**Bentué-Ferrer, 2002**).

II. GENERALITE SUR L'ACTIVITE ANTIRADICALAIRE

1. Radicaux libres

Au cours de l'évolution, les organismes aérobies se sont adaptés à l'oxygène atmosphérique par la mise en place de systèmes métabolisant la molécule d'oxygène. Cette molécule présente la particularité d'être à la fois un élément indispensable et toxique pour l'Homme **(Rock et coll., 2003)**. En effet, l'oxygène moléculaire peut se transformer dans l'organisme en oxygène singulet et en anion superoxyde appelés radicaux libres. Les radicaux libres ont diverses origines. Ils peuvent provenir de la rupture symétrique d'une liaison covalente (fission homolytique) pendant laquelle chaque atome conserve son électron, ou d'une réaction redox avec perte ou gain d'un électron à partir d'un composé non radical **(Kocchilin-Ramonatxo, 2006)**. Ce sont des espèces chimiques, atomiques ou moléculaires, contenant un ou plusieurs électron(s) libre(s) non apparié(s) sur leurs couches externes **(Lehucher et coll., 2001)**. Cet état les rend instables sur le plan énergétique et cinétique. De ce fait, ils vont chercher à appairer leurs électrons célibataires en agressant toute molécule susceptible de se faire arracher un électron **(Lehucher-Michel et coll., 2001)**.

L'espèce agressée devient radicalaire et va à son tour chercher à arracher un électron et ainsi de suite, initiant ainsi un processus de réaction en chaîne **(Kocchilin, 2006)**. Ces molécules instables sont susceptibles de réagir avec tous les constituants de la cellule (ADN, protéines, lipides) et de provoquer de graves altérations voire la mort de la cellule **(Halliwell, 1994)**.

L'organisme dispose de systèmes de défense variés pour lutter contre ces effets délétères. Ces systèmes de défense sont chargés de capter et de neutraliser les ERO mais aussi d'éliminer et de remplacer les molécules endommagées.

Cependant, un déséquilibre entre la production d'espèces oxygénées réactives et les mécanismes de défense/détoxification va entraîner un stress oxydatif.

Ce stress oxydatif ainsi déclenché sera associé à un certain nombre de pathologies appelées pathologies oxydatives (cancers, maladies cardiovasculaires, l'ostéoporose, maladies oculaires, insuffisance rénale, diabète, inflammations) (**Valko et coll., 2007 ; Harrison et coll., 2003**).

De ce fait, il s'avère nécessaire d'augmenter le pouvoir antioxydant de l'organisme par un apport exogène d'antioxydants.

2. Antioxydants

Le terme d'antioxydants est utilisé pour caractériser un ensemble de substances ou composés, de nature diverse, dont la caractéristique commune est d'être capable de s'opposer ou de contrôler l'accumulation des radicaux libres au niveau cellulaire (**Diplock et coll., 1991**).

En effet, les antioxydants ne deviennent pas des radicaux libres en perdant leurs électrons, car ils sont stables sous toutes les formes (**Kohen et Nyska, 2002**). Cette propriété leur permet d'agir directement ou indirectement en tant que moyen de défense contre les dérivés actifs de l'oxygène (**Diplock et coll., 1991**). Les antioxydants sont produits par l'organisme mais aussi apportés par l'alimentation. Les antioxydants se retrouvent sous plusieurs formes dans l'alimentation. On les retrouve sous forme minérale (zinc, manganèse et sélénium) ou sous forme de vitamine (vitamine E, beta-carotène et vitamine C).

En fonction de leur solubilité, les antioxydants peuvent être classés en deux groupes à savoir :

- les antioxydants liposolubles comme la vitamine E, la vitamine A et les caroténoïdes ;
- les antioxydants hydrosolubles tels que la vitamine C.

Il existe des antioxydants classiques tels que le butyl hydroxy-anisole (BHA) et le butyl hydroxy-toluène (BHT) qui sont utilisés dans l'industrie alimentaire pour améliorer la conservation des aliments (**Martínez-Cayuela, 1995**).

La vitamine E et la vitamine C participent à la protection de l'organisme contre les agressions des radicaux libres grâce à leur action de « piègeur » stœchiométrique (c'est-à-dire capable de neutraliser un unique radical libre

par molécule). Le bêta-carotène est un piègeur non stœchiométrique (une molécule de bêta-carotène étant capable d'inactiver des centaines de molécules d'oxygène singlet). Le zinc et le sélénium interviennent dans l'activité de divers systèmes enzymatiques protecteurs (superoxyde dismutase (SOD), glutathion peroxydase, catalase,...) qui accélèrent la transformation des radicaux libres et des peroxydes lipidiques en métabolites non toxiques.

3. Antioxydants d'origine végétale

D'importantes études ont prouvé l'activité antioxydante de nombreux composés chimiques extraits de plantes. Ces composés appartiennent à la famille des polyphénols (flavonoïdes, tanins, les coumarines) et des saponosides.

➤ Les composés phénoliques

Les composés phénoliques forment une vaste famille de substances dont l'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une liaison ester, éther ou hétéroside. Les composés phénoliques sont très variés. On peut citer en exemple les flavonoïdes, les acides phénoliques, les tanins et les coumarines. En plus de l'activité antioxydante, les polyphénols possèdent d'intéressantes propriétés pharmacologiques telles que les propriétés anti-inflammatoires, vasodilatatrices, vitaminiques P, antibactériennes (**Bruneton, 1993**), et antiparasitaires (**Hay, 2008**).

➤ Les saponosides

Les saponosides sont des hétérosides très répandus dans le règne végétal. On distingue deux groupes de saponosides selon la nature des génines à savoir, les saponosides à génines stéroïdiques et les saponosides à génines triterpéniques (**Bruneton, 1993**).

Certains distinguent une troisième catégorie de saponosides, celles des amines stéroïdiques ou alcaloïdes stéroïdiques.

Les propriétés biologiques les plus rencontrés des saponosides sont l'action

vitaminique P, l'action toxique sur les animaux à sang froid. Avec certaines saponosides, on a noté une action anti-inflammatoire (bétuline, ursolique), anticancéreuse, antihypertensive (sénégénine, ruscogénine) et antiparasitaire **(Bruneton, 1993)**.

4. Antioxydants et prévention du cancer

Des études scientifiques ont prouvés l'implication des espèces oxygénées réactives dans le développement du cancer. Il est donc logique de penser qu'une prévention de cette maladie soit possible par l'administration d'antioxydants **(Van Poppel et coll., 1997 ; Hercberg et coll., 1998)**.

Des preuves expérimentales existent en faveur de cette hypothèse. En effet, des études ont prouvé que les antioxydants présentent des activités anticancéreuses. En plus de l'effet piègeur des EOR, les antioxydants agissent en augmentant la réponse immunitaire, en stimulant les gènes récessifs du cancer, en diminuant l'expression d'oncogènes ou en inhibant l'angiogenèse des tumeurs **(Pincemail et coll., 1999)**.

Plusieurs travaux de recherches ont rapportées des risques minorés de cancer chez les individus qui consomment régulièrement des fruits et des légumes, riches en antioxydants **(Patterson et coll., 1997)**.

Ainsi, une combinaison de beta carotène, de vitamine E et de sélénium réduit de manière significative le risque de développer des cancers gastriques **(Blot et coll., 1993)**.

III- Rappels sur la plante

1. Etude botanique

Abrus precatorius L. est communément appelé jéquirity ou réglisse en français, noraogo-nini ou koulila en mooré, taignié en Dioula, itéré guélongal en fulfuldé et humpantchola en Turka. Le nom scientifique *Abrus precatorius* dérive du mot grec *Abrus* qui signifie délicat et de *precatorius* qui signifie petitoine à l'image du rosaire. Elle a été décrite en 1753 par Linné. *Abrus precatorius* L. encore appelé *Abrus minor* Desv., *Abrus moculatus* Noronha.,

appartient à l'embranchement des *Spermaphytes*, au sous embranchement des *Angiospermes*, à la classe des *Dicotyledones*, à l'ordre des *Leguminosales* et à la famille des *fabaceae*.

Description de la plante

Abrus precatorius L. est une liane originaire des régions tropicales de l'Amérique du Sud, introduite maintenant dans tous les pays tropicaux. Il s'agit d'une Liane volubile grimpant au sommet des plus grands arbres. Les rameaux sont grêles, glabres et ligneux à la base. Les feuilles sont composées de petites folioles oblongues finement pubescentes paripennées. Les fleurs sont rosées, longues de 0,5 cm, étroites et groupées en grappes axillaires pédonculées (Figure 13). La gousse est longue de 3-4 cm, brun clair à maturité, renfermant 3-4 graines ovoïdes noires et rouges, brillantes, longues de 0,5 cm, à tégument très dur, non désintégré lors de la digestion (Figure 14). Elle habite les forêts humides des savanes soudano-sahéliennes. Les parties utilisées sont les feuilles, les fleurs, les racines, les tiges et les graines.



Figure 13 : plante entière de *Abrus precatorius* L.



Figure 14 : gousses et graines de *Abrus precatorius* L.

2. Usages thérapeutiques traditionnels

2.1. Usage au Burkina Faso

Une étude ethnomédicale réalisée en 2011 par Yaro au Burkina Faso a rapporté que *Abrus precatorius* L. était beaucoup utilisée par les tradipraticiens de santé de la ville de Ouagadougou. En effet, les racines, les tiges, les feuilles, les fleurs, les graines et la plante entière de *Abrus precatorius* L. étaient utilisées en fumigation, en décoction, en macération et/ou en poudre pour traiter l'agalactie, les dermatoses, la douleur/fièvre/inflammation, la drépanocytose, l'envoûtement, la fatigue générale, les infections urinaires, les maladies des nouveaux nés et la stérilité (**Yaro, 2011**). Les graines sont aussi utilisées sous forme de poudre dans le traitement des ulcères, les morsures de serpents ainsi que comme contraceptif, abortif et émétique (**Nacoulma et coll., 1996**).

2.2. Autres usages thérapeutiques

A Madagascar, la décoction des feuilles de *Abrus precatorius* L. est utilisée dans le traitement de la toux sèche en mélange avec des pastilles Robin et du miel. Les racines, les tiges et les feuilles sont utilisées contre les toux, bronchites, coqueluche et l'œdème des parties génitales.

Les graines sont utilisées dans le traitement des abcès, brûlures, inflammations des membres (bras, jambes), retards locomoteurs des enfants, trachome, cancer des épithéliums de l'appareil génital féminin, cancer de la peau. Elles possèdent un potentiel nutritionnel car très riche en acide aminés et en sels minéraux (**Rajaram et Janardhanan, 1992**). Ainsi, les graines bouillies sont consommées en Inde durant les périodes d'extrême famine par les aborigènes d'Andamans (**Bhargava, 1990**).

3. Données phytochimiques et pharmacologiques

3.1. Données phytochimiques

Les études menées sur *Abrus precatorius* L. ont rapportés la composition chimique de certaines parties de la plante. Il s'agit notamment des feuilles, des racines et des graines.

La partie aérienne (tiges, feuilles et racines)

Elle est composée d'isoflavanquinones telles que ; l'abruquinone B et abruquinone G (**Limmatvapirat G., 2004**), et de saponosides triterpéniques. Les feuilles renferment de la Glycyrrhizine, des protéines et des glucides. Saxena et Sharma ont isolés une isoflavone : 7,5-dihydroxy-6,49-dimethoxy isoflavone 7-O- β -D-galactopyranoside (figure 15) des feuilles (**Saxena et Sharma, 1999**).

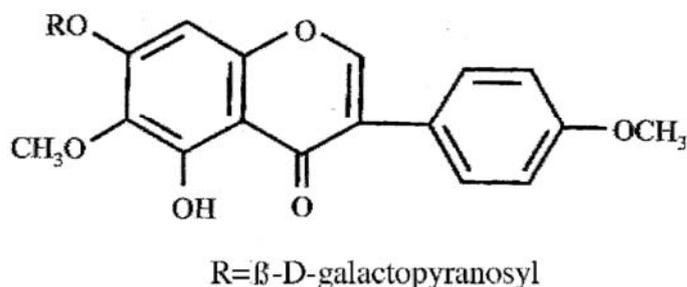


Figure 15 : structure d'une isoflavone isolée des feuilles de *Abrus precatorius* L.

La graine

Elle est constituée de stéroïdes (stigmastérol, β sitostérol), d'acide abrique, de tanins notamment de l'acide gallique (**Limmatvapirat, 2004**); d'alcaloïdes dont l'hypaphorine (**Dimetry et coll., 1991**).

Elle contient également des terpènes, des acides aminés tels que le N-méthyl-tryptophane (**Nacoulma et coll., 1996**) ainsi que des sucres réducteurs à savoir, le galactose, l'arabinose et le xylose (**Limmatvapirat, 2004**).

On y retrouve une lectine (l'abrine) qui a une analogie structurale et une activité proche de celle de la colchicine. Elle constitue un poison mortel à raison de 0,5 mg pour un adulte et est considérée comme une des plus puissantes toxines connues.

3.2. Données pharmacologiques

L'abruquinone B issu de l'extrait des parties aériennes de *Abrus precatorius* L. possède une activité antituberculeuse, antiplasmodiale et cytotoxiques. L'abruquinone G (dérivé de l'abruquinone B) est doté d'activités antivirale et cytotoxique modérées (**Limmatvapirat G. et coll., 2004**).

Deux saponosides tri terpéniques et leurs dérivés acétates isolés de l'extrait méthanolique de la partie aérienne de *Abrus precatorius* L. ont présenté un effet anti-inflammatoire intéressant *in vivo*. Les deux dérivés acétates ont montrés les meilleures activités (**Anam EM., 2001**).

Des extraits de tiges et de racines de *Abrus precatorius* L. présentent une activité notable contre les cestodes et les schistosomules (*Schistosoma mansoni*) (**Molgaard P. et coll., 2001**).

L'extrait à l'aide du mélange de chloroforme/méthanol (2:1) des graines et la poudre des racines ont montré une activité molluscicide sur *Lymnaea acuminata* (**Singh et Singh, 1999**).

L'extrait éthanolique des feuilles a montré une activité inhibitrice de la contraction induite par l'acetyl choline sur les muscles squelettiques (**Wambebe et coll., 1984**).

Molgaard et coll. ont mis en évidence *in vitro* l'activité antihelminthique d'extraits de racine et de tige sur les schistosomules de *Schistosoma mansoni* (trématode) et les cysticercoïdes de *Hymenolepis diminuta* (cestode) **(Molgaard et coll., 2001)**.

L'extrait méthanolique des graines a montré une activité anti-ovulatoire chez le rat **(Okoko, 2010)**. Par ailleurs, l'administration orale de 250mg/kg de l'extrait des graines à l'aide du mélange éthanol/eau 50/50 (V/V) induit chez le rat une infertilité absolue et réversible **(Sinha, 1990)**.

4. Toxicité des graines

La graine de *Abrus precatorius* L. doit sa toxicité à l'abrine. Il s'agit d'une protéine hautement toxique. En effet, la dose létale humaine est estimée à 0,1-1µg / kg). Cette lectine inhibe la synthèse des protéines, entraînant ainsi la mort cellulaire. Elle induit des dommages cellulaires endothéliaux engendrant une augmentation de la perméabilité capillaire. On observe alors un passage plus important de fluides et de protéines à travers la membrane et la formation d'œdèmes au niveau des tissus. Il s'agit du syndrome de fuite vasculaire **(Dickers et coll., 2003)**.

La plupart des cas d'intoxication sont non intentionnels et surviennent généralement chez les enfants. L'ingestion de graine intacte n'entraîne pas de conclusions cliniques du fait de son tégument dur qui empêche sa désintégration lors du transit gastro-intestinal.

L'absorption de graines broyées, provoque en premier lieu une toxicité gastro-intestinale caractérisée par la nausée, l'hémorragie et une gastro-entérite ; des convulsions et des œdèmes **(Dickers et coll., 2003)**.

DEUXIEME PARTIE

OBJECTIFS DE L'ETUDE

CHAPITRE II : OBJECTIFS DE L'ETUDE

1. Objectif général

Etudier *in vitro* les effets antiprolifératif et antiradicalaire d'extraits de graines de *Abrus precatorius* L.

2. objectifs spécifiques

- Réaliser différents extraits de graines de *Abrus precatorius* L.;
- caractériser les familles chimiques présentes dans les différents extraits ;
- évaluer *in vitro* l'effet antiprolifératif des extraits de graines de *Abrus precatorius* L. sur des cultures de cellules cancéreuses ;
- évaluer *in vitro* l'effet antiradicalaire des extraits de graines de *Abrus precatorius* L.

MATERIEL ET METHODES

CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODES

I. TYPE, PERIODE ET CADRE D'ETUDE

Il s'est agi d'une étude expérimentale réalisée *in vitro*.

L'étude s'est déroulée de Mars 2010 à Avril 2012.

Cette étude a été réalisée :

- au laboratoire d'oncologie expérimentale du Centre de Recherche Biomoléculaire Pietro Annigoni (CERBA) pour l'extraction et les tests pharmacologiques ;
- au laboratoire de chimie organique et de physique appliquée de l'unité de formation et de recherche en sciences exactes et appliquées (UFR/SEA) de l'Université de Ouagadougou ; pour la caractérisation phytochimique.

II. Préparation des extraits

1. Matériel d'extraction

1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal était constitué de poudre de graines de *Abrus precatorius* L. Les graines (figure 16) ont été collectées courant mars et avril 2010 à Ouagadougou. Ces graines ont été identifiées et authentifiées par le département production forestière du CNRST. Un spécimen a été déposé à cet effet à l'herbier national du Burkina Faso et enregistré sous le numéro 8712. Après l'identification, les graines ont été triées, séchées puis broyées pour obtenir une poudre.



Figure 16: Graines de *Abrus precatorius* L.

1.2. Matériel de laboratoire

Le matériel de laboratoire utilisé était constitué de :

- La verrerie de laboratoire telle que les béchers, erlen-meyer, fioles, ampoule à fond plat, ampoule à fond rond, percolateur;
- Des pelles à peser;
- Des balances analytiques ADAM® (sensibilité : 1/10000, portée maximale : 250g) et SCOUT PRO® (sensibilité : 1/10, portée maximale : 4000g)
- Un rotavapor BUCHI RE 11® couplé à un bain-marie;
- Un dessiccateur;
- Agitateur à bille magnétique ROTOLAB®.

1.3. Solvants d'extraction

Pour l'extraction, nous avons utilisés des solvants tels que :

- Dichlorométhane 100% (Prolabo®);
- Méthanol 99.8% (Prolabo®);
- Ether de pétrole 75% (Prolabo®);
- Eau distillée.

1.3. Méthode d'extraction

L'extraction a été faite par épuisement successif de la drogue végétale (DV) avec des solvants de polarité croissante après dégraissage avec de l'éther de pétrole.

150 g de la drogue végétale dégraissée ont été mis à macérer avec 700mL de dichlorométhane dans un percolateur pendant 24heures par addition de dichlorométhane jusqu'à épuisement. Le marc résiduel a été séché à la température ambiante du laboratoire, puis mis à macérer dans les conditions précédentes avec 650ml du mélange dichlorométhane/méthanol 1/1 (V/V).

Après percolation jusqu'à épuisement avec le mélange de dichlorométhane/méthanol 1/1 (V/V), le marc a été séché puis macéré dans 400mL de méthanol comme précédemment. Enfin, le marc résiduel séché a été mis à macérer dans un percolateur avec de l'eau distillée; puis filtré à l'aide de coton hydrophile.

Par ailleurs, 50g de la drogue végétale dégraissée a été mis à macérer dans 300 mL d'eau distillée pendant 24 heures sur un agitateur à bille magnétique.

Les extraits organiques ont été évaporés à sec sous pression réduite au rotavapor; les extraits aqueux ont été séchés dans un dessiccateur. Le rendement de l'extraction a été estimé selon la formule :

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

Où **r** correspond au rendement d'extraction en pourcentage (%), **m** étant la masse d'extrait obtenue et **M** la masse de la prise d'essai pour l'extraction.

III. CARACTERISATION PHYTOCHIMIQUE DES EXTRAITS

1. Matériel et solvants

1.1. Matériel

- Des chromatoplaques ;
- Une lampe UV (254 et 366nm) ;
- Des tubes capillaires ;
- Des tubes à essai;
- Tubes à hémolyse ;
- Des cuves de chromatographie ;
- Une balance analytique Sartorius® (sensibilité 1/10.000 grammes ; portée maximale 220g) ;
- Un agitateur VELP®.

1.2. Solvants et réactifs

➤ Les systèmes de solvants

- **Système S1** : Ethyle acétate/Acide formique/Acide acétique glacial/Eau (100 :11 :11 :26 V/V) pour la détection des flavonoïdes.
- **Système S2** : Chloroforme/Acétone/Ammoniaque 10% (80 :40 :15 V/V) pour la détection des alcaloïdes.
- **Système S3** : n-Butanol/Eau/Acide acétique glacial (10 :5 :5 V/V) pour la détection des tanins.
- **Système S4** : Chloroforme/Acide acétique glacial/Méthanol/Eau (64 :32 :12 :8 V/V) pour l'identification des saponosides.
- **Système S5** : Acétate d'éthyle/ méthanol/ Eau : (100 :13,5 :10 V/V) pour l'identification des cardénolides.

➤ Les réactifs

- Réactif de Mayer (mercuritétraiodure de potassium) ;
- Réactif de Dragendorff (tétraiodobismuthate de potassium) ;
- Acide sulfurique concentré ;
- Acide chlorhydrique ;
- Ammoniaque 10% et 20% et 25 % ;
- Tournures de magnésium ;
- Solution de chlorure ferrique à 1% et 2% ;
- Vanilline sulfurique ;
- Ethanol absolu ;
- Ethanol 50% ;
- Acide 3,5- dinitrobenzoïque ;
- Témoins des analyses CCM : la quercétine et l'acide gallique.

2. Méthode

La caractérisation phytochimique avait pour but, la mise en évidence des familles chimiques présentes dans les différents extraits. Nous avons effectué des réactions en tubes suivi de la chromatographie sur couche mince (CCM). Des substances de référence ont été utilisées comme témoins lorsque nous en disposons.

2.1. Réactions en tube

Les réactions en tube ont été réalisées selon la méthode de Ciulei (1982).

2.1.1. Caractérisation des alcaloïdes

La présence d'alcaloïdes dans les extraits a été mise en évidence par les tests de Dragendorff et de Mayer. Pour cela, 5 mL de chaque extrait ont été évaporés à sec, puis le résidu a été dissout dans 2 mL d'acide chlorhydrique 2%. La solution obtenue a été filtrée et le filtrat a été réparti dans deux tubes à essai :

- Dans le premier tube, 2 à 3 gouttes de réactif de Dragendorff ont été ajoutées et l'apparition d'un précipité rouge orangé signait la présence d'alcaloïdes sels.
- Dans le deuxième tube, 2 à 3 gouttes de réactif de Mayer ont été ajoutées et l'apparition d'une opalescence ou d'un précipité jaune blanchâtre témoignait de la présence d'alcaloïdes bases dans l'extrait.

2.1.2. Caractérisation des flavonoïdes : test de Shibata

Cinq (05) mL d'extrait ont été évaporés à sec. Le résidu a été dissout dans 2 mL d'éthanol 50%. La solution ainsi obtenue a été chauffée au bain-marie, puis on y a ajouté des fragments de tournure de magnésium et 3 gouttes d'acide chlorhydrique concentré. L'ensemble a été remis à chauffer au bain-marie. L'apparition d'une coloration rouge ou orange indiquait la présence de flavonoïdes.

2.1.3. Caractérisation des saponosides : test de mousse

Deux (02) mL d'extrait ont été dilués de moitié avec de l'eau distillée dans un tube à essai puis agité au vortex pendant 15 minutes. L'apparition d'une colonne de mousse persistante d'au moins 1cm de haut signalait la présence de saponosides.

2.1.4. Caractérisation des tanins : test au trichlorure de fer (FeCl₃)

Cinq (05) mL d'extrait ont été évaporés à sec. Le résidu a été dissout dans 1 mL d'eau distillée, puis on y a ajouté 3 gouttes d'une solution à 1% de trichlorure de fer (FeCl₃). L'apparition d'une coloration bleu foncé révélait la présence de tanins galliques et celle d'une coloration vert foncé indiquait la présence de tanins catéchiques. Il est possible d'obtenir une coloration hybride lorsque l'extrait renferme à la fois des tanins galliques et des tanins catéchiques.

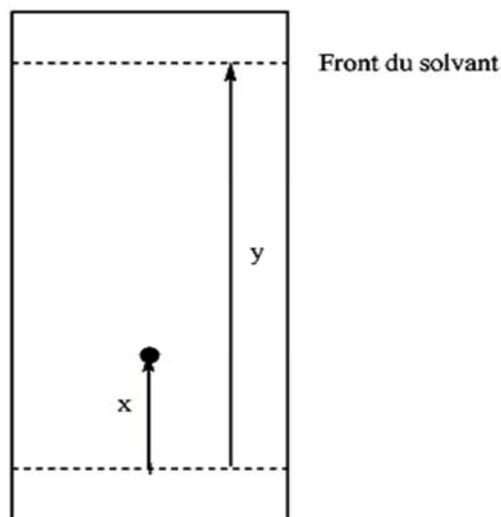
2.1.5. Caractérisation des cardénolides

Un (1mL) de l'extrait a été soumis au test de Kedde. L'apparition d'une coloration violette immédiate indiquait la présence de cardénolides.

2.2. Chromatographie sur couche mince (CCM)

La CCM consiste à séparer des substances chimiques en fonction de leur affinité par rapport à deux phases : une phase stationnaire solide et une phase mobile liquide constituée par un système de solvants.

Les différents extraits ont été dissouts à 10 mg/mL dans leurs solvants d'extraction. A l'aide de tubes capillaires, les solutions d'extraits ont été déposées sur une chromatoplaque, de même que les témoins de référence. Les dépôts ont été faits sur la plaque à 1cm du bord inférieur et 1,5cm des bords latéraux. La plaque a été séchée à l'air ambiant à l'abri de la poussière. Le chromatoplaque ainsi séché a été placée dans une cuve de migration contenant le système de solvants approprié. Après la migration, la plaque a été retirée et séchée, puis révélé avec un réactif spécifique pour la détection des familles chimiques. Après la révélation, le rapport frontal (Rf) de chaque spot a été calculé. Il s'agit du rapport entre la distance parcourue par le soluté et celle parcourue par le solvant.



x = distance séparant le point de dépôt de l'extrait et le spot observé

y = distance parcourue par le solvant

Figure 17 : Représentation d'une plaque de CCM

Le rapport frontal **Rf.** = x/y

2.2.1. Détection des saponosides

Le solvant de migration était constitué par le mélange : chloroforme/acide acétique glacial/méthanol/eau : (64 : 32 : 12 : 8 v/v). La pulvérisation par la vanilline sulfurique a permis la révélation. L'apparition de taches brunes ou violettes après chauffage des plaques à plus de 100°C sur une plaque chauffante indique la présence de saponosides.

2.2.2. Détection des flavonoïdes

L'éluant était constitué par le mélange : acétate d'éthyle/acide formique/acide acétique glacial/eau : (100 : 11 : 11 : 26 v/v). Le témoin était une solution de quercétine à 5mg/mL dans du méthanol. La révélation a été faite à la lumière UV à 365 nm après exposition des plaques aux vapeurs d'ammoniaque. Les flavonoïdes apparaissent jaunes ou jaunes orangé.

2.2.3. Détection des cardénolides

Le système de solvant utilisé était composé de : acétate d'éthyle/méthanol/eau : (100 : 13,5 : 10 v/v). La pulvérisation par le réactif de Kedde a permis la révélation. L'apparition de taches rouge violacées ou violacées indique la présence de cardénolides.

IV. EVALUATION DE L'EFFET ANTIPROLIFERATIF

1. Matériels

1.1. Lignées cellulaires et milieux de culture

➤ Lignées cellulaires

Pour cette étude, trois (03) lignées cellulaires de cancers humains ont été utilisées dont, les cellules de cancer du poumon non-à-petites cellules (NSCLC) A549 (code ATCC, CCL-185), de cancer du côlon LoVo (code ATCC, CCL-229) et les lignées cellulaires de cancer du sein MCF-7 (code ATCC, HTB-22).

Toutes ces cellules ont été gracieusement offertes par le Pr Robert KISS du laboratoire de toxicologie de l'institut de pharmacie de l'Université Libre de Bruxelles (ULB).

➤ **Milieux de culture**

Les milieux de cultures étaient composés de :

- DMEM/high modified (Dublecco's Modified Eagle's Medium) enrichi avec de la glutamine (0,6mg/ml) SAFC BIOSCIENCES®USA.
- RPMI 1640 (Roswell Park Memorial Institute) SIGMA® USA.

Ces milieux de culture ont été complétés avec une solution de Pen-Strep. (0,2UI/ml de pénicilline et 0,2µg/ml de streptomycine), une solution de sulfate de kanamycine (0,1mg/ml) et de FBS (foetal bovine sérum) (5 % (v/v) pour le DMEM et 10 % (v/v) pour le RPMI).

1.2. Matériels de laboratoire

- une hotte à flux laminaire muni d'une lampe ultra-violet LN 120 nûve ;
- 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 inversée ;
- un bain marie de marque Nûve ;
- une balance analytique ;
- des plaques multipuits (96 puits) Falcon à fonds rond et plat ;
- des flasques de culture cellulaire Falcon (25 mL/12,5 cm² et 250 mL/80cm²) ;
- 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 micropipettes multi canon de marque EPPENDORF®
- des embouts stériles Fenntips ;
- cellule de Neubauer ;
- lamelles ;
- des rabs.

1.3. Solvants et réactifs

- MTT [3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl) – 2,5 diphenyltetrazolium bromure] (SIGMA®, USA);
- dimethylsulfoxyde (DMSO) ;
- bleu trypan (SIGMA®, USA)

- Solution de tampon phosphate (phosphate buffered saline solution) (SIGMA®, USA).

2. Méthode

2.1. Culture cellulaire

Les lignées cellulaires sont conservées dans de l'azote liquide. Les cellules utilisées pour les tests sont cultivées jusqu'à la troisième génération. Les cellules ont été cultivées dans du milieu DMEM (*A549* et *MCF7*) et RPMI (*LoVO-MF*). Ces milieux ont été enrichis en glutamine (0,6 mg/mL) et en sérum fœtal de veau (5 % v/v pour le DMEM et 10 % pour le RPMI). Un mélange d'antibiotique a été ajouté aux milieux : 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 24h après la mise en culture et ensuite toutes les 48 heures. Les flasques de culture étaient incubées à 37°C, sous CO₂ (5 %) en présence d'humidité. Nous avons effectué des passages à chaque fois que les cellules étaient à confluence (lorsque les cellules occupaient plus de 80% de la surface du flasque) jusqu'à la troisième génération au moins. Ce passage consistait à éliminer le milieu de culture et décoller les cellules de la surface du flasque à l'aide d'une solution de trypsine (0,05 % m/v). L'effet de la trypsine était stoppé en ajoutant du milieu de culture dans les flasques. Selon la densité cellulaire obtenue, une fraction de la suspension cellulaire ainsi obtenue (500 µL pour les petits flasques et 1mL pour les grands flasques) était remise dans d'autres flasques et incubée dans les conditions précédentes.

2.2. Test antiprolifératif

Nous avons évalué l'effet antiprolifératif de nos extraits sur la croissance cellulaire globale par le test colorimétrique MTT (Mitochondrial Tetrazolium Test). Il a été décrit en 1983 par Mosmann puis modifié par Carmichael et coll. en 1987. 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.

➤ Principe

Il est basé sur la capacité des cellules vivantes métaboliquement actives à réduire l'anneau de tétrazolium contenu dans le sel de tétrazolium (de couleur jaune) par leur succinate déshydrogénase mitochondriale en cristaux de Formazan (de couleur violette). Le nombre de cellules vivantes après 72 h d'incubation en présence ou non des composés à tester est directement proportionnel à l'intensité de la coloration violette mesurée quantitativement par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 550 nm.

➤ Réalisation du test

A J0 du test nous avons procédé au comptage des cellules vivantes à l'aide d'une cellule de Neubauer en utilisant le bleu Trypan ; colorant vital qui ne colore que les cellules mortes. Ces cellules vivantes ainsi dénombrées ont étéensemencées dans des plaques de 96 puits à raison de 10 000 cellules par puits soit 200 μ L de la suspension cellulaire. Les plaques ont été incubées pendant 24 heures dans un incubateur à CO₂ en présence d'humidité.

A J1, nous avons mis les extraits en contact des cellules. (Chaque condition expérimentale a été analysée en quadruplicat, avec neuf concentrations décroissantes, allant de 500 μ g/mL à 0,0038147 μ g /mL.

Après la mise en contact, les plaques ont été incubées dans les conditions précédentes pendant 72 heures (J1, J2, J3).

A J4, le surnageant a été éliminé et remplacé par le sel de tétrazolium dissout dans une solution de tampon phosphate à une concentration de 0,5 mg/mL. Après 2 heures d'incubation, le surnageant a été de nouveau éliminé. Les cristaux de formazan ainsi formés ont été dissouts dans du DMSO. Les plaques ont été lues au spectrophotomètre à 550 nm après 30 minutes d'agitation.

Des courbes dose-effet (logarithme de la concentration en fonction des pourcentages d'inhibition) ont été réalisées pour chaque extrait et pour chaque lignée cellulaire afin d'en déterminer l'IC₅₀ (la concentration qui inhibe de moitié la prolifération cellulaire). Le mélange réactionnel du test est résumé dans le tableau I.

Tableau I : Composition du mélange réactionnel du test MTT

Substance (µL)	Contrôle Négatif	Blanc	Test
Extrait	-	-	50
Suspension \varnothing aire	200	-	200
Milieu de culture	50	250	-
Total	250	250	250

Le pourcentage d'inhibition a été calculé à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Effet antiprolifératif (\%)} = \frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100$$

Avec **A_c** l'absorbance du contrôle négatif et **A_s** l'absorbance du test corrigé

IV. EVALUATION DE L'EFFET ANTIRADICALAIRE

1. Matériels

1.1. Matériel de laboratoire

- 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
- une balance analytique
- des plaques multipuits (96 puits) Falcon à fonds ronds et plats
- des tubes polypropylène fond conique de 15ml et 50ml Falcon

1.2. Solvants et réactifs du test antiradicalaires

- 1-1- diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) ;
- quercétine ;
- méthanol ;
- dimethylsulfoxyde (DMSO).

2. Méthode

L'activité antiradicalaire a été évaluée *in vitro* par le test de réduction du DPPH selon le protocole décrit par Kim et coll. en 2003 ; qui évalue la capacité de l'extrait à céder des atomes d'hydrogène.

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 515 nm. Lorsqu'il est en présence d'une substance pourvoyeuse d'atome d'hydrogène, il se réduit et devient jaune (figure 11). Le changement de la coloration du violet au jaune est proportionnel à l'activité antioxydante (**Sanchez-Moreno, 1999**).

Nous avons utilisé la quercétine comme antioxydant de référence (**Zhenbaoa, 2007**).

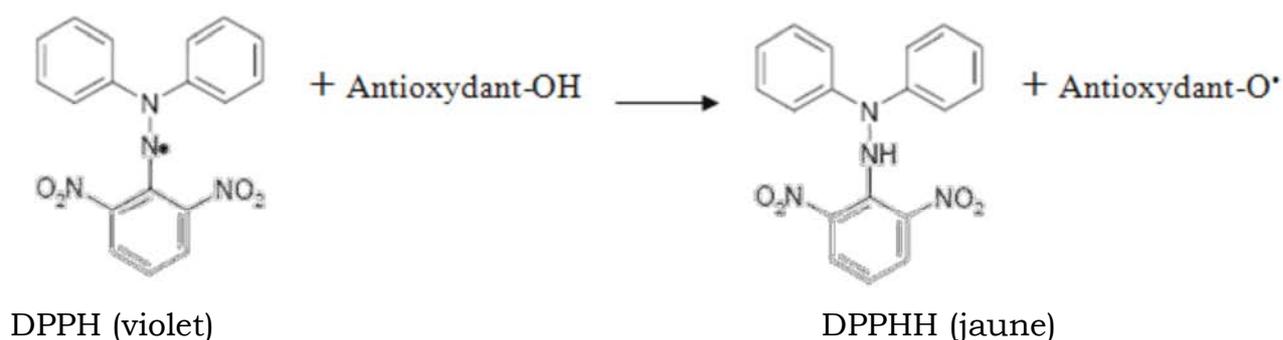


Figure 18 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH

Le mélange réactionnel du test de réduction du DPPH est résumé dans le tableau II.

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

Substances (µL)	Test	Contrôle négatif	Blanc contrôle négatif	Blanc du test
DPPH	190	190	-	-
Extrait/référence	10	-	-	10
Méthanol	-	-	190	190
DMSO	-	10	10	-
Total	200	200	200	200

Les pourcentages d'inhibition du radical DPPH ont été calculés selon la formule suivante :

$$\text{Effet antioxydant (\%)} = \frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100$$

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

IV. Méthode de traitement des données

Les résultats obtenus ont été enregistrés dans un ordinateur. Les pourcentages d'inhibition ont été exprimés en moyenne ± SEM à l'aide du logiciel Microsoft office Excel 2007.

Le logiciel GraphPad Prism 5.0 a été utilisé pour le tracé des courbes et la détermination des IC₅₀ des extraits testés.

Pour chaque extrait, les courbes des pourcentages d'inhibition des différentes lignées cellulaires ont été tracées en fonction du logarithme des concentrations.

RESULTATS

CHAPITRE IV : RESULTATS DE L'ETUDE

I. RESULTATS DE L'ETUDE PHYTOCHIMIQUE

1. Rendements d'extraction

L'épuisement successif par percolation de la poudre de graines a permis d'obtenir quatre extraits par percolation à savoir l'extrait au dichlorométhane, l'extrait au mélange de dichlorométhane/ méthanol 1/1 (V/V) et l'extrait aqueux. Par macération à l'eau on obtient un cinquième extrait ; le macéré aqueux total. Les rendements d'extraction sont présentés dans le tableau III.

Tableau III : Rendements d'extraction en fonction des solvants

Solvant d'extraction	Rendement d'extraction (%)
Dichlorométhane	2,51
Dichlorométhane/méthanol	1,53
Méthanol	4,44
Eau	2,64
Eau (macération)	15,60

De ce tableau, il ressort que les solvants polaires (l'eau et le méthanol) donnent de meilleurs rendements d'extractions.

2. Caractérisation des principales familles chimiques

2.1. Réactions en tubes

Les résultats des réactions en tube obtenus après caractérisation des familles chimiques des extraits de poudre de graines de *Abrus precatorius* L. sont présentés dans le tableau IV.

Tableau IV : Résultats des réactions de caractérisation en tube

Groupes chimiques	Extraits				
	DCM	DCM/MeOH	MeOH	Eau	Eau (macération)
Alcaloïdes bases	+	-	-	-	-
Alcaloïdes sels	-	-	-	-	-
Tanins	-	+	+	+	+
Saponosides	-	+	+	+	+
Flavonoïdes	-	+	+	-	-
Cardénolides	-	+	+	-	-

- : Absence ; + : présence

Ce tableau montre qu'à l'exception de l'extrait au dichlorométhane, les tanins et les saponosides sont présents dans tous les extraits. Les flavonoïdes et les cardénolides sont retrouvés dans l'extrait méthanolique et l'extrait au mélange de dichlorométhane/méthanol 1/1 (V/V). Quant aux alcaloïdes, ils sont mis en évidence que dans l'extrait au dichlorométhane.

2.2. Chromatographie sur couche mince (CCM)

2.2.1. Caractérisation des tanins

Les Rf et les couleurs des spots obtenus sont consignés dans le tableau V.

Tableau V : Rapports frontaux et couleurs des spots après révélation du chromatogramme de caractérisation des tanins

Extrait	Couleur des spots	Rapport frontal (Rf) (%)
Méthanol	Bleu-noirâtre	73
Eau	Bleu-noirâtre	60
Eau (macération)	Bleu-noirâtre	60
Témoin	Bleu-noirâtre	73
Dichlorométhane/ Méthanol	Bleu-noirâtre	66
Dichlorométhane	-	-

Le témoin utilisé est l'acide gallique.

Le chromatogramme obtenu après pulvérisation des plaques avec une solution méthanolique de chlorure ferrique à 2 %, révèle la présence de tanins galliques (spot bleu noirâtre) dans tous les extraits excepté l'extrait au dichlorométhane. L'extrait méthanolique donne un spot identique à celui du témoin avec un même Rf de 73 %.

2.2.2. Caractérisation des saponosides

Le tableau VI donne les rapports frontaux et la couleur des spots obtenus.

Tableau VI : Rapports frontaux et couleurs des spots après révélation du chromatogramme de caractérisation des saponosides

Extrait	Couleur des spots	Rapport frontal (Rf) (%)
Méthanol	Rose-violacé	38
Macéré aqueux	Rose -violacé	22
Eau (macération)	Rose-violacé	16
Dichlorométhane/Méthanol	Rose-violacée	81
	Rose-violacée	31
Dichlorométhane	-	

Le chromatogramme montre après pulvérisation de la plaque avec de la vanilline sulfurique, la présence de saponosides (spot rose-violacé) dans les extraits. L'extrait aqueux (macération), l'extrait aqueux et l'extrait méthanolique présentent un spot caractéristique des saponosides. En revanche, l'extrait au dichlorométhane ne donne aucun spot caractéristique des saponosides.

2.2.3. Caractérisation des flavonoïdes

Le tableau VII présente les rapports frontaux et la couleur des spots obtenus.

Tableau VII : Rapports frontaux et couleurs des spots après révélation du chromatogramme de caractérisation des flavonoïdes

Extrait	Couleur des spots	Rapport frontal (Rf) (%)
Méthanol	Jaune-orangé	46
	Jaune-orangé	68
	Jaune-orangé	88
	Jaune	98
Eau (macération)	Jaune	98
Eau	-	-
Témoin (quercétine)	jaune	98
Dichlorométhane/Méthanol	Jaune	88
	Jaune-orangé	98
Dichlorométhane	-	-

La lecture du chromatogramme à la longueur d'onde de 360 nm, révèle la présence de flavonoïdes dans les extraits. Un spot identique (Jaune) caractéristique des flavonoïdes est obtenu avec l'extrait aqueux (macération) et le témoin (quercétine) avec un même Rf de 98 %. Les flavonoïdes sont plus présents dans l'extrait méthanolique (trois spots jaune-orangé) et l'extrait au mélange de dichlorométhane-méthanol 1/1 (v/v) avec deux spots caractéristiques (jaune et jaune-orangé). Cependant l'extrait aqueux et

l'extrait au dichlorométhane ne présentent pas de spots caractéristiques des flavonoïdes.

2.2.3. Caractérisation des cardénolides

Les Rf ainsi que la couleur des spots obtenus sont présentés dans le tableau VIII.

Tableau VIII : Rapports frontaux et couleurs des spots après révélation du chromatogramme de caractérisation des cardénolides

Extrait	Couleur des spots	Rapport frontal (Rf) (%)
Méthanol	violacé	98
	violacé	79
Eau (macération)	-	-
Eau	-	-
Dichlorométhane/Méthanol	Rouge-violacée	69
	Jaune	87
	Rouge-violacée	94
Dichlorométhane	-	-

La pulvérisation de la plaque avec le réactif de Kedde (Acide 3,5-dinitrobenzoïque) donne deux spots caractéristiques des cardénolides pour l'extrait méthanolique (violacé) et l'extrait au mélange de dichlorométhane-méthanol 1/1 (v/v) (rouge-violacé). Cependant, les autres extraits ne présentent pas de spots caractéristiques des cardénolides.

II- RESULTATS DE L'ETUDE DE L'EFFET ANTIPROLIFERATIF

1. Effet antiprolifératif des extraits sur la lignée cellulaire A549

Tous les extraits de graines de *Abrus precatorius* L. testés dans cette étude présentent un effet antiprolifératif *in vitro* sur les cellules du cancer de poumon non-à-petites cellules (A549). Les IC₅₀ varient en fonction des extraits et vont de 0,138 µg/mL à 236,7 µg/mL. Le tableau IX donne les IC₅₀ obtenues en fonction des extraits.

Tableau IX : Effet antiprolifératif des extraits sur la lignée cellulaire A549

Extrait	IC ₅₀ (µg/mL)
Dichlorométhane	0,138 ± 0,016
Eau (macération)	1,03±0,04
Eau	5,879±0,05
Dichlorométhane/méthanol 1/1 V/V	43,14 ± 0,04
Méthanol	236,7±0,015

2. Effet antiprolifératifs des extraits sur la lignée cancéreuse LoVo-MF

Les extraits testés exercent un effet antiprolifératif dose-dépendant sur les cellules du cancer de colon (LoVo-MF). Les valeurs des IC₅₀ obtenues, varient de 0,034 µg/mL à 294,3 µg/mL (tableau X).

L'extrait de dichlorométhane des graines est le plus actif suivi respectivement du macéré aqueux, du percolat aqueux, de l'extrait de dichlorométhane/méthanol 1/1 (V/V) et de l'extrait méthanolique. Les IC₅₀ obtenues sont présentés dans le tableau X.

Tableau X : Effet antiprolifératif des extraits sur la lignée cellulaire LOVO-MF

Extrait	IC ₅₀ (µg/mL)
Dichlorométhane	0,034±0,019
Eau (macération)	0,255±0,016
Eau	2,042±0,016
Dichlorométhane/méthanol 1/1 V/V	33,07±0,05
Méthanol	294,3±0,062

3. Effet antiprolifératif des extraits sur la lignée cellulaire MCF7

Les différents extraits de graines de *Abrus precatorius* L. testés, montrent un effet antiprolifératif dose-dépendant sur les cellules du cancer de sein (MCF-7). En effet, les IC₅₀ déterminées sont inférieures à 100 µg/mL pour chacun des extraits testés (Tableau X). L'extrait de dichlorométhane présente le meilleur effet, avec une IC₅₀ à 0,0048 ± 0,0010 µg/mL. Le macéré aqueux, le percolat aqueux et l'extrait de dichlorométhane/méthanol 1/1 (V/V) donnent des IC₅₀ de 0,140 ± 0,048 µg/mL ; 0,617 ± 0,047 µg/mL et 12,220 ± 0,073 µg/mL respectivement. Le tableau XI donne les IC₅₀ obtenues en fonction des extraits.

Tableau XI : Effet antiprolifératif des extraits sur la lignée cellulaire MCF7

Extrait	IC ₅₀ (µg/mL)
Dichlorométhane	0,005±0,001
Eau (macération)	0,140±0,048
Eau	0,617±0,047
Dichlorométhane/méthanol 1/1 V/V	12,22±0,07
Méthanol	ND

ND: non déterminée

III. RESULTATS DE L'ETUDE DE L'EFFET ANTIRADICALAIRE

Les différents extraits testés exercent une réduction dose-dépendante sur le radical DPPH avec des IC_{50} inférieures à 100 $\mu\text{g/mL}$ sauf l'extrait de dichlorométhane qui a une IC_{50} à 2901 $\mu\text{g/mL}$ (tableau XII).

1. Effet antiradicalaire de l'extrait méthanolique et de la quercétine

EFFET ANTIRADICALAIRE DE L'EXTRAIT METHANOLIQUE ET DE LA QUERCÉINE

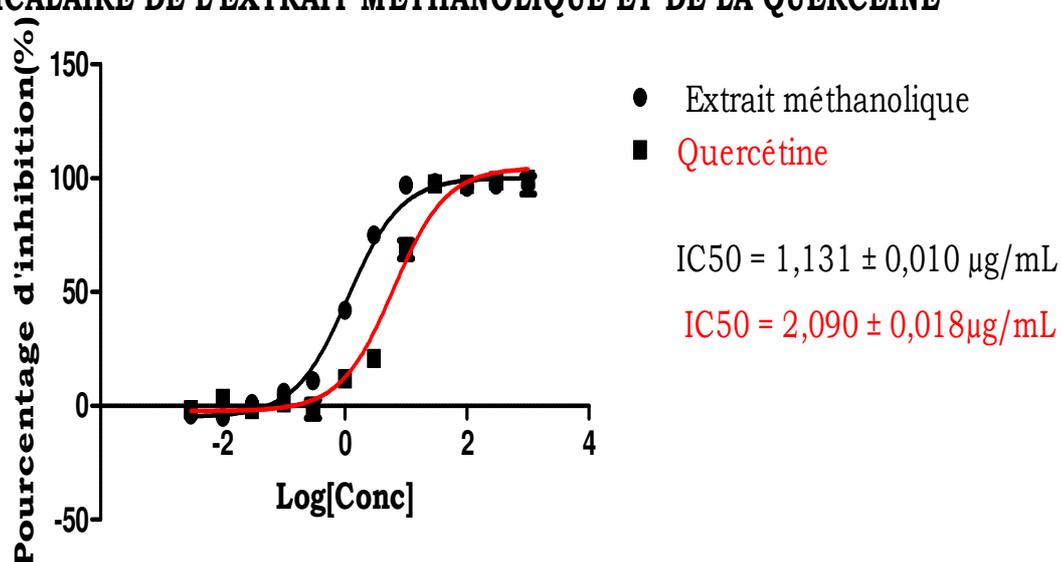


Figure 19 : Effet inhibiteur de l'extrait méthanolique des graines et de la quercétine sur le radical DPPH.

Les concentrations inhibitrices 50% sont respectivement de $1,131 \pm 0,01 \mu\text{g/mL}$ et $2,090 \pm 0,018 \mu\text{g/mL}$ pour l'extrait méthanolique et la quercétine.

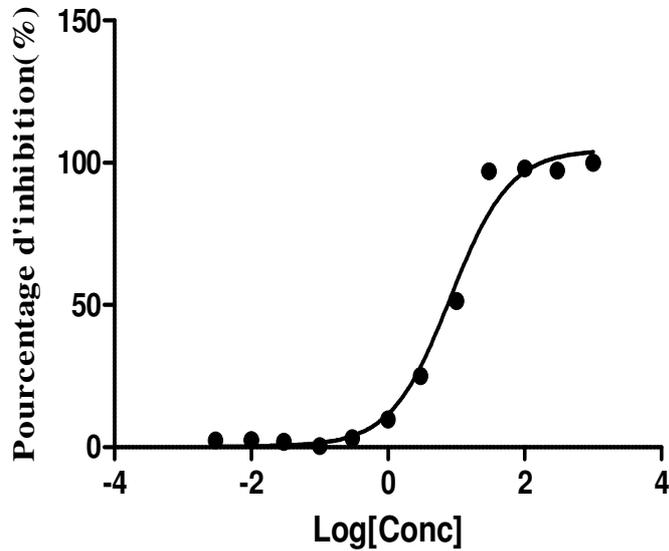
L'effet observé est dose-dépendant.

L'inhibition maximale est de 100 % aussi bien pour l'extrait méthanolique que pour la quercétine.

L'effet maximal est observé 30 $\mu\text{g/mL}$ avec l'extrait méthanolique et 100 $\mu\text{g/mL}$ avec la quercétine.

2. Effet antiradicalaire du percolat aqueux

EFFET ANTIRADICALAIRE DE L'EXTRAIT AQUEUX DES GRAINES



$$IC_{50} = 8,159 \pm 0,016 \mu\text{g/mL}$$

Figure 20 : Effet inhibiteur du percolat aqueux des graines sur le radical DPPH.

La concentration inhibitrice 50 % est de $8,159 \pm 0,016 \mu\text{g/mL}$.

L'effet observé est dose-dépendant.

L'inhibition maximale est de 100 % ; effet observé à partir de $100 \mu\text{g/mL}$.

3. Effets antiradicalaire du macéré aqueux

EFFET ANTIRADICALAIRE DU MACERE AQUEUX DES GRAINES

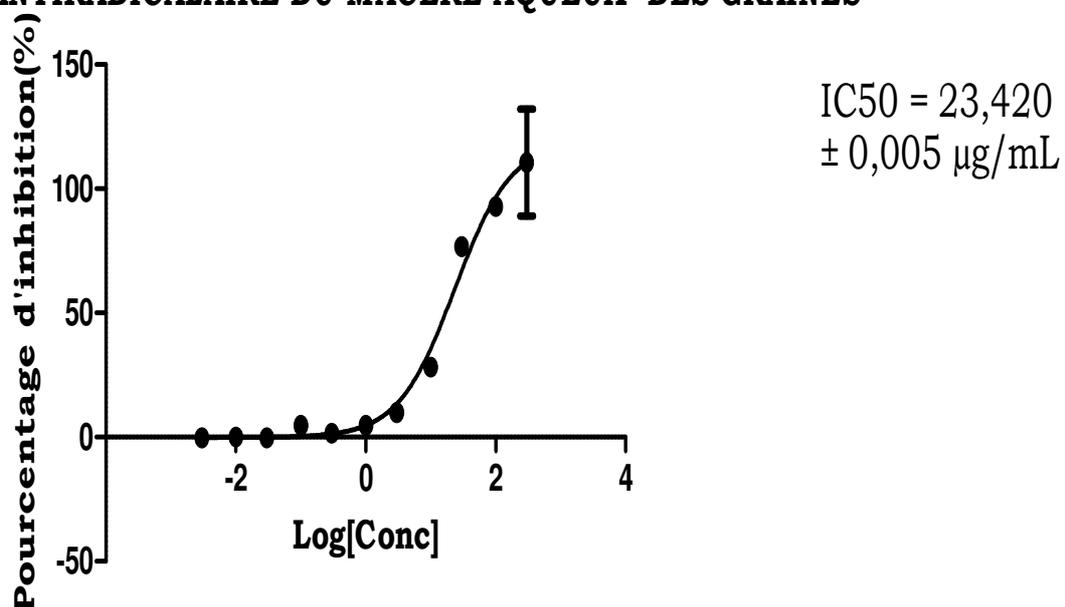


Figure 21 : Effet inhibiteur du macéré aqueux des graines sur le radical DPPH.

La concentration inhibitrice 50 % est de $23,420 \pm 0,005 \mu\text{g/mL}$;

L'effet observé est dose-dépendant ;

L'inhibition maximale est de 100 % à $300 \mu\text{g/mL}$.

4. Effet antiradicalaire de l'extrait de dichlorométhane/méthanol

ANTIRADICALAIRE DE L'EXTRAIT DE DCM/MeOH DES GRAINES

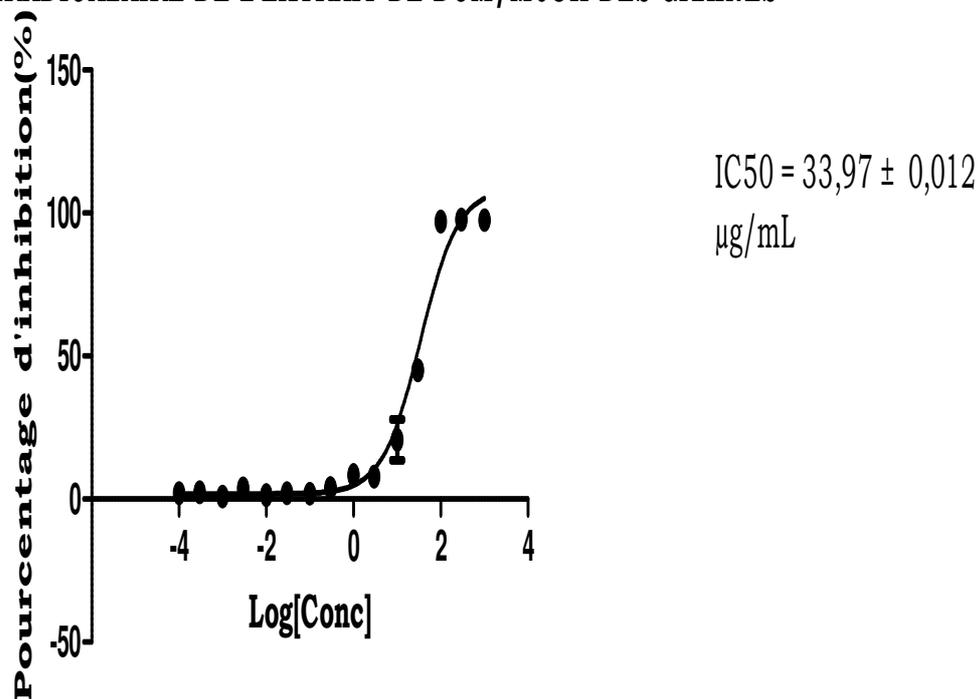


Figure 22 : Effet inhibiteur de l'extrait de dichlorométhane/ méthanol 1/1 (V/V) des graines sur le radical DPPH.

La concentration inhibitrice 50 % est de 33,97 ± 0,012 µg/mL ;

L'effet observé est dose-dépendant ;

L'inhibition est maximale à partir de 100 µg/mL et est de 100 %.

5. Effet antiradicalaire de l'extrait de dichlorométhane

EFFET ANTIRADICALAIRE DE L'EXTRAIT DE DICHLOROMETHANE DES GRAINES

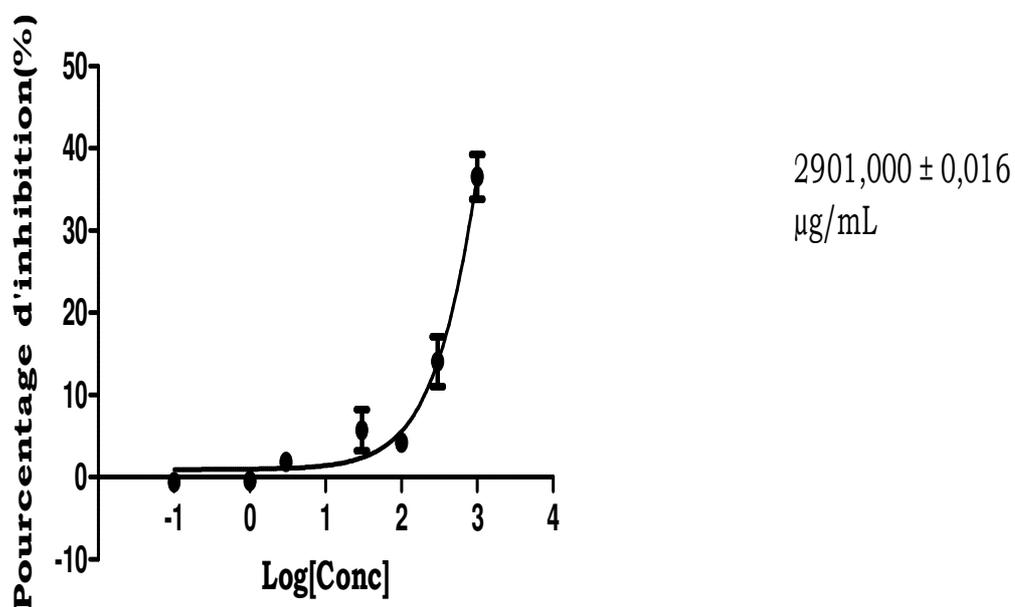


Figure 23 : Effet inhibiteur de l'extrait de dichlorométhane des graines sur le radical DPPH.

La concentration inhibitrice 50 % est de 2901,000 ± 0,016 µg/mL.

L'effet observé est dose-dépendant ;

L'inhibition est inférieure à 40 % à 1000 µg/mL.

Tableau XII : Récapitulatif des concentrations inhibitrices 50% (IC₅₀) en µg/mL du test antiradicalaire des extraits de graines de *Abrus precatorius* L. et du standard utilisé (quercétine)

Extraits	IC₅₀ (µg/mL)
Extrait méthanolique	1,131 ± 0,010
Eau	8,159 ± 0,016
Eau (macération)	23,42 ± 0,005
Dichlorométhane/méthanol	33,86 ± 0,012
Dichlorométhane	2901 ± 0,016
Quercétine	2,090 ± 0,018

DISCUSSION

CHAPITRE V : DISCUSSION

I. LIMITES DE L'ETUDE

Notre étude a connue certaines limites. Nous n'avions pas pu déterminer l'IC₅₀ de l'extrait méthanolique sur la lignée cellulaire MCF-7. Par ailleurs, La non disponibilité des substances cytotoxiques de référence ne nous a pas permis de comparer l'effet des extraits avec ces derniers.

II. ETUDE PHYTOCHIMIQUE

1. Rendement d'extraction

L'étude que nous avons menée avait pour but d'évaluer *in vitro* l'effet des graines de *Abrus precatorius* L. sur la prolifération cellulaire globale des cellules cancéreuses A549, LoVo-MF et MCF-7 et sur la réduction du radical DPPH. L'épuisement successif par percolation des drogues a permis d'obtenir des masses d'extraits variables selon les solvants utilisés (tableau III).

L'eau et le méthanol ont donné de meilleurs rendements d'extraction. En effet, nous avons obtenu un rendement de 15,60% pour le macéré aqueux, 4,44% pour le méthanol. Cela pourrait s'expliquer par la teneur des graines en composés polaires.

2. Screening phytochimique

L'analyse phytochimique réalisée à l'aide des réactions colorées en tube, a révélé la présence de flavonoïdes, de saponosides, de tanins, d'alcaloïdes et de cardénolides dans les extraits de graines de *Abrus precatorius* L. Ces résultats sont en accord avec ceux de nombreux auteurs. En effet, Nacoulma et coll. avaient signalé en 1996, la présence de l'acide gallique, dans les graines. Limmatvapirat et coll. ont isolé en 2004, des isoflavanquinone (abriquinine A et G) des parties aériennes de la plante.

Par ailleurs, Anam a isolé en 2001, deux saponosides triterpeniques des extraits méthanoliques de la partie aérienne de la plante **(Anam, 2001)**. Dimetry et coll. avaient isolé en 1992, des alcaloïdes dont l'hypaphorine des graines de *Abrus precatorius* L. **(Dimetry et coll., 1992)**.

La CCM a confirmé et précisé la présence des différentes familles phytochimiques caractérisées par les réactions colorées. En effet, les résultats de la CCM indiquent une plus forte teneur de tanins galliques dans l'extrait méthanolique que dans les autres extraits avec un spot identique à celui de l'acide gallique utilisé comme référence. Cela pourrait témoigner de la présence de l'acide gallique dans cet extrait. Nos résultats corroborent ceux de Nacoulma et coll. qui avaient signalé la présence de ce composé dans les graines de *Abrus precatorius* L. Le chromatogramme des flavonoïdes a montré quatre (4) spots caractéristiques des flavonoïdes pour l'extrait méthanolique. Cela pourrait témoigner de la présence de plusieurs types de flavonoïdes dans cet extrait. Les saponosides présents dans l'extrait méthanolique avaient des propriétés moussantes plus élevées.

Les cardénolides n'ont été révélés que dans l'extrait méthanolique et l'extrait de dichlorométhane/méthanol (1/1) (V/V). Ils étaient plus concentrés dans l'extrait méthanolique que dans l'extrait de dichlorométhane/méthanol (1/1) (V/V). La différence de l'intensité de la coloration des spots ainsi que leurs Rf. pourrait témoigner que nous sommes en présence de cardénolides divers. Au vu de ces résultats phytochimiques, les extraits de graines de *Abrus precatorius* L. renfermeraient des polyphénols (tanins, flavonoïdes), des saponosides, des alcaloïdes ainsi que des cardénolides.

III. ETUDE PHARMACOLOGIQUE

1. Effet antiprolifératif

Les extraits testés ont exercé un effet antiprolifératif remarquable sur les trois (3) lignées cellulaires (A549, LoVo-MF et MCF7). Cependant, les IC₅₀ différaient d'un extrait à l'autre d'une part, et d'une lignée à l'autre d'autre part (tableau IX).

➤ L'extrait au dichlorométhane

Il a présenté le meilleur effet inhibiteur sur la prolifération cellulaire des trois lignées cancéreuses avec des IC₅₀ de l'ordre de $0,138 \pm 0,016 \mu\text{g/mL}$, $0,034 \pm 0,019 \mu\text{g/mL}$ et $0,0048 \pm 0,001 \mu\text{g/mL}$, respectivement pour A549, LoVo-MF et MCF7.

Ces résultats suggèrent que l'extrait au dichlorométhane possède un potentiel antiprolifératif. En effet le NCI considère qu'un extrait peut être une source potentielle de molécules cytotoxiques lorsque celui-ci présente une IC₅₀ inférieure à $30\mu\text{g/mL}$ lors des essais préliminaires de cytotoxicité (**Jhokadze et coll., 2007**). La présence d'alcaloïdes bases révélées dans l'extrait au dichlorométhane lors de l'analyse phytochimique POURRAIT être à l'origine de l'effet.

En effet, de nombreux alcaloïdes notamment les alcaloïdes de la pervenche (vincristine, vinblastine) ainsi que leurs dérivés hémisynthétiques (vindésine, vinorelbine) possèdent des propriétés anticancéreuses (**Mann, 2002**).

➤ Les extraits aqueux

Les extraits aqueux ont fortement inhibé la prolifération des cellules des trois lignées cellulaires cancéreuses utilisées. Ils se sont montrés plus actifs que l'extrait au mélange de DCM/MeOH et l'extrait méthanolique. Toutefois, ils étaient moins actifs que l'extrait au DCM. En effet, les IC₅₀ étaient inférieures à 6 % sur toutes les trois lignée cellulaires (tableau IX).

La caractérisation phytochimique a signalé la présence de saponosides dans ces extraits.

En effet, des études ont prouvé l'activité cytotoxique d'un grand nombre de saponosides (**Lacaille-Dubois et coll.,1996 ; Drissa et coll., 2006**). L'effet antiprolifératif observé serait dû à la présence de saponosides dans ces extraits.

➤ **L'extrait au mélange de DCM/MeOH**

Bien que moins actif que les précédents, cet extrait a exercé un effet inhibiteur intéressant sur la prolifération des cellules de la lignée cancéreuse MCF7 ($IC_{50} = 12,22 \pm 0,07 \mu\text{g/mL}$). Cependant, l'effet est moindre sur la lignée cellulaire cancéreuse A549 avec une IC_{50} de $43,14 \pm 0,04 \mu\text{g/mL}$. Le fait que l'effet soit différent d'une lignée à l'autre, pourrait témoigner de la spécificité de l'activité antiproliférative de cet extrait d'une part et de la résistance des cellules A549 d'autre part. En effet, ces cellules cancéreuses sont naturellement chimiorésistantes car elles résistent non seulement à l'induction de l'apoptose mais aussi aux types de mort cellulaires non-apoptotiques (**Sperandio, 2000 ; Guo, 2003; Okada, 2004 et Debatin, 2004**).

➤ **L'extrait méthanolique**

Il a été le moins actif sur les trois lignées. En effet, les IC_{50} étaient supérieures à $200 \mu\text{g/mL}$ pour toutes les lignées (tableau X). Sous forme totum, cet extrait ne possède pas un potentiel antiprolifératif en se référant aux normes de NCI. Toute fois, cet extrait contient des composés chimiques tels que les cardénolides dont l'activité antiproliférative a fait l'objet de plusieurs études qui ont rapporté des résultats intéressants. Ainsi, Les stéroïdes cardiotoniques ont été décrits comme des agents antitumoraux mais sans succès vu leur index thérapeutique trop faible (**Stenkivist, 2001 ; McConkey et coll., 2000 ; Huang et coll., 2004 ; Mijatovic et coll., 2007**). Le fait que les IC_{50} soient élevées dans notre cas, pourrait signifier que nous sommes en présence de nouveaux cardénolides à effet modéré qui pourraient avoir un intérêt en thérapeutique.

En effet, ces cardénolides auraient un mécanisme d'action différent des précédents avec un index thérapeutique moins étroit. Par ailleurs, l'extrait méthanolique a présenté le meilleur effet anti-radicalaire ; il pourrait être intéressant dans la prévention ou dans la réduction de la survenue des cancers.

2. Effet antiradicalaire

A l'exception de l'extrait au dichlorométhane, les extraits ont fortement réduit le radical libre stable, DPPH. Les IC_{50} étaient de $1,131 \pm 0,01 \mu\text{g/ml}$ pour l'extrait méthanolique. Les courbes dose-effet obtenues (figure 26 à 30) témoignent du caractère dose-dépendant de ces effets. L'extrait méthanolique a présenté le meilleur effet réducteur sur le radical DPPH, avec une IC_{50} de $1,131 \pm 0,010 \mu\text{g/mL}$.

Cet effet est sensiblement supérieur à celui de la quercétine utilisée comme substance anti-radicalaire de référence, qui avait une IC_{50} à $2,090 \pm 0,018 \mu\text{g/mL}$. L'extrait méthanolique pourrait donc constituer une source potentielle de substances anti-radicalaires.

Les extraits aqueux ainsi que l'extrait au mélange de dichlorométhane/méthanol 1/1(V/V) ont également réduit le radical DPPH. Les IC_{50} étaient de $8,159 \pm 0,016 \mu\text{g/mL}$; $23,420 \pm 0,005 \mu\text{g/mL}$ et $33,860 \pm 0,018 \mu\text{g/mL}$ respectivement pour l'extrait aqueux (épuisement), l'extrait aqueux (macération) et l'extrait au mélange de dichlorométhane/méthanol 1/1 (V/V). En effet, l'analyse phytochimique a montré que ces extraits contenaient des composés phénoliques (flavonoïdes et tanins) en quantité importante (tableau V et VII). Yakhlef en Algérie avait observé en 2010 une corrélation linéaire remarquable et significative entre la teneur en polyphénols dans les extraits méthanoliques et aqueux et leur pouvoir piègeur du DPPH (**Yakhlef, 2010**). L'effet antiradicalaire observé pourrait donc s'expliquer par la présence de ces composés phénoliques.

En outre, bien que les effets antiradicalaires des extraits aqueux et de l'extrait au mélange de dichlorométhane/méthanol 1/1 (V/V) soient faibles comparés à celui de la quercétine, ils sont aussi intéressants, d'autant plus que la quercétine est un extrait pur tandis que nos extraits sont des extraits

totaux. De ce fait, une purification de ces extraits donnerait certainement de meilleurs résultats.

Contrairement aux extraits précédents, l'extrait au dichlorométhane est moins actif sur le radical DPPH. L'effet était très faible comparé aux autres extraits d'une part et à celui de la quercétine d'autre part avec une IC_{50} de $2901 \pm 0,018 \mu\text{g/mL}$. L'absence de composés à effet antiradicalaire dans cet extrait pourrait expliquer ce résultat. En effet, les tanins, les flavonoïdes et les saponosides qui ont été mis en évidence dans l'extrait méthanolique, l'extrait (macération), l'extrait aqueux (épuisement) et l'extrait au mélange de dichlorométhane/méthanol 1/1 (V/V) sont des composés polaires et/ou moyennement polaires (**Bruneton, 1993**). Le dichlorométhane n'aurait pas extrait ces composés.

CONCLUSION

CONCLUSION

Cette étude à travers l'analyse phytochimique, nous a permis de mettre en évidence des tanins, des flavonoïdes, des saponosides des alcaloïdes et des cardénolides dans les extraits de graines de *Abrus precatorius* L. L'étude des effets pharmacologiques quant à elle, a montré un puissant effet antiprolifératif de l'extrait au dichlorométhane ainsi que des extraits aqueux sur les trois lignées cellulaires testés à savoir les cellules du cancer de poumon non-à-petites cellules, A549, les cellules du cancer de colon, LoVo-MF et les cellules du cancer de sein, MCF7. Les IC₅₀ étaient de $0,138 \pm 0,016$ µg/mL, $0,034 \pm 0,019$ µg/mL et $0,0048 \pm 0,001$ µg/mL, respectivement pour A549, LoVo-MF et MCF7. Par ailleurs, l'extrait méthanolique et les extraits aqueux possédaient un fort potentiel anti-radicalaire avec des IC₅₀ respectifs de $0,131 \pm 0,01$ µg/ml ; $8,159 \pm 0,016$ µg/ml et $23,42 \pm 0,005$ µg/ml pour l'extrait méthanolique, l'extrait aqueux (épuisement) et l'extrait aqueux (macération). De ce fait, les extraits de graines de *Abrus precatorius* L. pourraient être intéressants dans la prévention et le traitement des cancers ainsi que des pathologies impliquant une production excessive de radicaux libres tels que la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires. Cependant, la mise au point de phytomédicament à base de ces extraits, nécessite des études complémentaires en vue d'isoler et identifier les composés responsables des effets et d'en déterminer la toxicité *in vivo*.

PERSPECTIVES

PERSPECTIVES

Au terme de cette étude préliminaire, des investigations ultérieures pourraient être envisagées dans le but de :

- Fractionner les extraits les plus actifs puis les tester à nouveau ;
- Effectuer le test antiprolifératif sur plusieurs autres lignées cellulaires cancéreuses notamment les glioblastomes et les cellules du cancer de prostate.
- Identifier et isoler le ou les principes chimiques à l'origine des effets antiprolifératif et anti-radicalaire ;
- Elucider le mécanisme d'action moléculaire anticancéreuse du ou des principes chimiques actifs ;
- Déterminer les toxicités des principes chimiques d'intérêt.

REFERENCES

REFERENCES

1. **Bartsch H. (2000).** Studies on biomarkers in cancer etiology and prevention: a summary and challenge of 20 years of interdisciplinary research. *Mutat Res.* 462 : 255-279.
2. **Bentué-Ferrer D. (2002).** Pharmacologie des anticancéreux: classification, mode d'action, principaux effets indésirables.
<http://www.caducee.net/DossierSpecialises/cancerologie/agents-anticancereux.asp>. Consulté le 27/06/2012.
3. **Bhargava N. (1990).** Plants in folk life and folklore in Andamans and island. Jain SK (ed), Contributions to Ethnobotany of India. Scientific Publishers, Jodhpur, India : 261- 276.
4. **Blot WJ., Li J-Y., Taylor P.R., et al. (1993).** Nutrition intervention trials in Linxian, China: supplementation with specific vitamin/mineral combinations, cancer incidence, and disease-specific mortality in the general population. *J Natl Cancer Inst.* 85 : 1483–1492.
5. **Bracke M., Vyncke B., Opdenakker G., et al. (1991).** Effect of catechins and citrus flavonoids on invasion in vitro. *Clin. Exp. Metastasis.* 9 :13-25.
6. **Bruneton J. (1993).** Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. 2e Ed. Tec & Doc Paris, Lavoisier, 915 p.
7. **Carmichael J., De Graff W.G., Gazdar A.F., Minna J.D., Mitchell, J.B. (1987).** Evaluation of tetrazolium – based semiautomated colorimetric assay: assessment of radiosensitivity. *Cancer Res.*47 : 943 – 6.

- 8. Carpentier F. (2005).** Nouvelles approches thérapeutiques des glioblastomes. *Bull Cancer*, 92 (4) : 355-9.

- 9. Césarini, J. P. (2004).** Le sélénium : Actualités. Edition John Libbey, 136p.

- 10. Ciulei, I. (1982).** Methodology for analysis of vegetable drugs. Ministry of Chemical industry, Bucharest, 67p.

- 11. Debatin K.M., Kramer P.H. (2004).** Death receptors in chemotherapy and cancer. *Oncogene*, 23 : 2950 – 2966.

- 12. Debeir O., Camby I., Kiss, R., Van Ham P., Decaestecker C. (2004).** A model-based approach for automated in vitro cell tracking and chemotaxis analyses. *Cytometry A.*, 60(1) : 29-40.

- 13. Debeir, O., P. Van Ham, Kiss, R., Decaestecker, C. (2005).** Tracking of migrating cells under phasecontrast video microscopy with combined mean-shift processes. *IEEE Trans Med Imaging*, 24(6) : 697-711.

- 14. Demaille A., Cappelaere P. (1989).** Prevention et diagnostic des cancers. Edition Flammarion Médecine-sciences Paris, 4 : 54-55.

- 15. Dickers K.J., Bradberry S.M., Rice P., Griffiths G.D., Vale J.A. (2003).** Abrin poisoning *Toxicol. Rev.*, 22 (3) : 137-142.

- 16. Diplock A.T. (1991).** Antioxidant nutrients and disease prevention: an overview. *Am. J. Clin. Nutr.* , 53 : 189-193.

- 17. Dimetry N.Z., El-Gengaihi S., Reda A. S., Amer A. A. (1991).** Biological effects of some isolated *Abrus precatorius L.* alkaloids towards *Tetranychus urticae* Koch. *Anzeiger für Schädlingskunde*, 65(10) : 99-101.

- 18. Djedid R., Tomasi O., Haidara A., Rynkowski M., Lefranc F. (2009).** Traitement des glioblastomes à l'aube de 2010. *Rev Med Brux*, 30 : 496-505.
- 19. Drissi, A., H. Bennani, F., Giton, Z., Charrouf J., Fiet A., Adlouni A. (2006).** Tocopherols and saponins derived from *Argania spinosa* exerppt, an antiproliferative effect on human prostate cancer. *Cancer Invest.* , 24 : 588-592.
- 20. Duplat J., Guillemin F., Depadt G., Borella L. (2002).** Le livre blanc de la chirurgie cancérologique, 89 : 7-44.
- 21. Espinosa E., Zamora, P., Feliu J., Gonzalez-Baron M. (2003).** Classification of anticancer drugs, a new system based on therapeutic target cancer treatment *Reviews* 29(6) : 515-523.
- 22. Gerard,JP., Chapet, O., Cucherat, M., Romestaing, P., Momex, F., Bobin, JY, Roy, P., Favrel V. (2001).** Local control in the management of cancer: a few thoughts. *Bull Cancer*, 88 (7) : 693-699.
- 23. Globocan (2008).** Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC Cancer Base No. 10 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. Available from: <http://globocan.iarc.fr> (consulté le 31/05/2012).
- 24. Gnoula C., Mégalizzi V., De Neve N., Sauvage S., Guissou I. P., Duez P., Dubois J., Ingrassia L., Lefranc F., Kiss R., Mijatovic T. (2008).** Balanitins 6 and 7: Diosgenyl Saponins Isolated from *Balanites aegyptiaca* Del. Display Significant Anti-Tumor Activity *In Vitro* and *In Vivo*. *International Journal of Oncology*, 32 : 5 -15.
- 25. Gomes C. S. F., Silva J. B. P., (2002).** Minerals and clay minerals in medical geology. *Applied Clay Science*, 36 (1-3) : 4-21.

- 26. Guo B., Hembruff S.L., Villeneuve D.J., Kirwan A. F., Parissenti A. M. (2003).** Potent killing of paclitaxel- and doxorubicin-resistant breast cancer cells by calphostin C accompanied by cytoplasmic vacuolisation. *Breast Cancer Res. Treat.*, 82 : 125 – 141.
- 27. Halliwell, A., Gutteridge J. M. C. (1990).** The antioxidant of human extracellular fluids. *Archives of biochemistry and biophysics*, 280 : 1-8.
- 28. HANDE K. R. (1998).** Etoposide: four decades of development of a topoisomerase II inhibitor. *Eur. J. Cancer*, 34 : 1514–1521.
- 29. Harrison D., Griendling K. K., Landmesser U., Hornig B., Drexler H. (2003).** Role of oxidative stress in atherosclerosis. *The American Journal of Cardiology*, 91 : 7-11.
- 30. Hay A. E., Merza J., Landreau A., Litaudon M., Pagniez F., Le Pape P., Richomme P. (2008).** Antileishmanial polyphenols from *Garcinia vieillardii* *Fitoterapia*, 79(1) : 42- 46.
- 31. Hercberg S. , Preziosi P., Briancon S., Galan P., Triol I., Malvy D., et al (1998).** Vitamins in preventing cardiovascular diseases and cancers. *Nutrition*, 14(6) : 513-520.
- 32. Hurley, L. H. (2002).** DNA and its associated processes as targets for cancer therapy. *Nat Rev Cancer*, 2(3) : 188-200.
- 33. Jhokadze M., Eristavi L., Kutchukhidze J., Chariot A., Angenot L., Tits M. Jansen O., Frederich M. (2007).** In vitro cytotoxicity of some medicinal from *Georgian Amaryllidaceae* (lidaceae) .*Phytother Res*, 21(7) : 622-624
- 34. Kelly E., Heim, Anthony R. Tagliaferro, Dennis J., Bobilya (2002).** Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13 : 572–584

- 35. Kihindo A. A. (2011).** Etude des propriétés antiprolifératives et anti-radicalaires de l'extrait méthanolique des fleurs de *Adenium obesum* (Apocynaceae). Thèse pharm. UFR/SDS. Université de Ouagadougou. 101p.
- 36. Kim K. S., Lee S., Lee Y. S., Yung S.H., Park Y., Shin S. H., Kim B. K. (2003).** Anti-oxidant activities of the extracts from herb of *Artemisia apacea*. J. ethnopharmacol. , 85 : 69-72.
- 37. Koechlin-Ramonatxo C. (2006).** Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation, or another way for nutrition in respiratory diseases. Nutrition clinique et métabolique, 20 : 165-177.
- 38. Kohen R., Nyska A. (2002).** Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions and methods for their quantification. Toxicologic Pathology, 30 : 620-650.
- 39. Kouamé J. A., Gnoula C., Palé E., Bassolé H., Guissou I. P., Simporé J., Nikiéma J.-B. (2009).** Etude des propriétés cytotoxiques et antiradicalaires d'extraits de feuilles et de galles de *Guiera senegalensis* J. F. Gmel (Combretaceae). Science et technique, Sciences de la santé, 32 (1,2) : 9-23.
- 40. Kummar S., Kinders R., Rubinstein L., Parchment R., Murgo A., Collins J., Pickeral O., Low J., Steinberg S., Gutierrez M., Yang S., Helman L., Wiltrout R., Tomaszewski J., Doroshov J. (2007).** Compressing drug development timelines in oncology using phase '0' trials, 7(2) : 131-139.
- 41. Lacaille-Dubois M. A., Wagner H. (1996).** A review of the Biological and pharmacological activities of saponins. Phytomedicine, 2(4) : 363-386.

- 42. Lehucher-Michel M. P., Lesgards J.F., Delubac O., Stocker P., Durand P., Prost M. (2001).** Stress oxydant et pathologies humaines. La Presse médicale, 30 : 1076-1081.
- 43. Lefranc F., James S., Camby I., et al. (2005).** Combined cimetidine and temozolomide, compared with temozolomide alone: significant increases in survival in nude mice bearing U373 human glioblastoma multiforme orthotopic xenografts. J Neurosurg. , 102 : 706-714.
- 44. Lefranc F., Kiss R. (2006).** Autophagy, the Trojan horse to combat glioblastomas. Neurosurg Focus, 20(3) : 1-6.
- 45. Limmatvapirat G., Sirisopanaporn S., Kittakoop P. (2004).** Antitubercular and antiplasmodial constituents of *Abrus precatorius*. Planta Med, 70 (3) : 276-278.
- 46. Mann J. (2002).** Natural products in cancer chemotherapy: past, present and future. Nat. Rev. Cancer, 2 (2) : 143-148.
- 47. Martínez-Cayuela M. (1995).** Oxygen free radicals and human disease. Biochimie, 77: 147-16
- 48. Mijatovic T., Nancy De Neve N., Gailly P., Mathieu V., Haibe-Kains B., Bontempi G., Lapeira J., Decaestecker C., Facchini V., Kiss R.(2008).** Nucleolus and c-Myc: potential targets of cardenolide-mediated antitumor activity. Mol Cancer Ther. , 7(5) : 1285-96.
- 49. Molgaard P., Nielsen S. B., Rasmussen D. E., Drummond R. B., Makaza N., Andreassen J. (2001).** Anthelmintic screening of Zimbabwean plants traditionally used against schistosomiasis. J. of Ethnopharmacol.,74 (5) : 257-264.

- 50. Monteith G. R., McAndrew D., Faddy H. M., Roberts-Thomson S. J. (2007).** Calcium and cancer: targeting Ca²⁺ transport, 7(7): 519-530.
- 51. Mosmann T. (1983).** Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. J.Immunol. Methods, 65 : 55 – 63
- 52. Nacoulma O. (1996).** Plantes médicinales et pratiques médicales traditionnelles au Burkina Faso: cas du plateau central. Thèse d'Etat Institut des Sciences Naturelles. Université de Ouagadougou, 1 et 2 : 320p.
- 53. Newman D. J, CRAGG G. M, SNADER K. M. (2000).** The influence of natural products on drug discovery. Nat. Prod. Rep., 17: 215–234.
- 54. Okada H., Mak T. W. (2004).** Pathways of apoptotic and non-apoptotic death in tumour cells. Nat Rev Cancer, 4 : 592 – 603.
- 55. Okoko II, Osinubi A. A, Olabiyi O. O, Kusemiju T. O, Noronha C. C, Okanlawon A. O. (2010).** Antioviulatory and anti-implantation potential of the methanolic extract of seeds of *Abrus precatorius* in the rat. Endocr Pract., 16 (4) : 554-60.
- 56. Organisation Mondiale de La Sante (2008).** Cancer. Facts sheet N°297. Disponible sur « G:\WHO Cancer.mht » (consulté le 29/02/2011)
- 57. Organisation Mondiale de La Sante (2012).** Cancer. Facts sheet N°297. Disponible sur « G:\WHO Cancer.mht » (consulté le 31/05/2012)
- 58. Patterson R. E et al. (1997).** Cancer Causes Control, 8 : 786-802.
- 59. Pieters L., Vlietinck A. J., (2005).** Bioguided isolation of pharmacologically active plant components, still a valuable strategy for the

finding of new lead compounds: perspective of ethnopharmacology. *Ethnopharmacol.*, 100 (1- 2) : 57-60.

60. Rajaram N., Janardhanan K. (1992). The chemical composition and nutritional potential of the tribal pulse, *Abrus precatorius* L. *Plant Foods for Human Nutrition (Formerly Qualitas Plantarum)*, 42 (4) : 285-290.

61. Reddy L., Odhav B., Bhool K. D. (2003). Natural products for cancer prevention: a global perspective. *Pharmacology & Therapeutics*, 99 : 1-3.

62. Riendinger J. P., Basuyau J. P., Pichon M. F. (2005). Les marqueurs tumoraux sériques des tumeurs solides. *Cahier de formation, Biologie médicale*, 32 : 180

63. Reynolds T. (2002). Helmock alkaloids from Socrates to poison aloes. *Life Sciences*, 70 (9) : 1035 - 1040

64. Sakakibara H., Honda Y., Nakagawa S., Ashida H., Kanazawa K. (2003). Simultaneous determination of all polyphenols in vegetables, fruits, and teas. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51 (3) : 571-581.

65. Sanchez-Moreno C., Larrauri J. A., Saura-Calixto F. (1999). Freeradical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of wines, grape juices and related polyphenolic constituents. *Food Research International*, 32 : 407-412.

66. Santos A. C., Cavalcanti M. S., Coelho L. C. (1992). The chemical composition and nutritional potential of the tribal pulse, *Abrus precatorius* L. *Plant foods for human nutrition Dordrecht Netherlands*, 49 (1) : 285-290.

67. Shklar G. (1998). Mechanisms of cancer inhibition by anti-oxidant nutrients. *Oral Oncol.*, 34 : 24-9.

- 68.** Shinha R. (1990). Post-testicular antifertility effects of *Abrus precatorius* L. seed extract in albino rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 28 (28) : 173-181.
- 69. Sperandio S., de Belle I., and Bredesen D. E. (2000).** An alternative, nonapoptotic form of programmed cell death. *Proc Natl Acad Sci USA*, 97 : 376 – 381.
- 70. Tokuda H., Konoshima T., Kozuka M., Kimura R. (1991).** Antitumour activities of Triterpene Saponins from *Verbascum Songaricum*. *Oncology*, 48 : 77–80.
- 71. Valko M., Rhodes C., Moncol J., Izakovic M., Mazur M. (2006).** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160 : 1- 40.
- 72. Van Poppel G., Van Den Berg H. (1997).** Vitamins and Cancer. *Cancer Lett.*, 114 : 195-202.
- 73. Wambebe C., Amosun S. L. (1984).** Some neuromuscular effects of the crude extract of *Abrus precatorius*. *Journal of Ethnopharmacology*, 11 (1) : 49-58.
- 74. Yakhlef G. (2009).** Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *Thymus vulgaris* L. et *Laurus nobilis* L. Mémoire de Biochimie appliquée. Université El Hadj Lakhdar Batna.97p.
- 75. Yaro R. (2011).** Enquête etnomédicale sur *Abrus precatorius* L.(fabaceae) et sur *Erythrina senegalensis* DC.(fabaceae) dans la ville de Ouagadougou. Thèse de doctorat en Pharmacie., Université de Ouagadougou, 87 p.

76. Zelek L., Khayat D. (2000). Guide pratique de cancérologie. 2è Ed. Masson Paris : 295

77. Zhenbaoa J., Tao F., Guo L., Tao G., Ding X. (2007). Antioxidant properties of extracts from juemingzi (*Cassia tora* L.) evaluated in vitro, LWT, 40 : 1072–1077.

ANNEXES

ANNEXES

ANNEXE I : METHODES D'EVALUATION DU POTENTIEL ANTI-TUMORAL

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

Plusieurs méthodes d'étude de l'activité antiproliférative existent à ce jour. On distingue entre autres des méthodes fondées sur des perturbations de la perméabilité membranaire et les méthodes fondées sur des altérations de la prolifération cellulaire.

1. Vidéo-microscopie quantitative

La vidéo-microscopie quantitative est un procédé de microscopie à contraste de phases assistée par ordinateur, mis au point dans le laboratoire du Pr Robert Kiss (**Hauwer et coll. ,1998; Debeir et coll., 2004; Debeir et coll., 2005**). Cette technique permet de visualiser les effets d'une substance sur la morphologie, la prolifération et la migration cellulaire (Figure 1). Elle consiste à incuber des cellules en présence de la substance dont on veut étudier l'effet, puis à les observer à l'aide d'un microscope à contraste de phases surmonté d'une caméra. Les cellules sont filmées pendant toute la durée de l'étude et des images sont prises toutes les 4 minutes. Chaque fois qu'une image est enregistrée, le logiciel intégré au système la numérise.

En pratique, les cellules sur lesquelles on désire tester la substance étudiée sont préalablementensemencées 24 heures dans des boîtes de culture cellulaire T25 à raison de 75000 à 100000 cellules par boîte.

Le composé dont on veut tester l'activité est ajoutée 30 mn avant le début du test. Les cellules ainsi traitées sont incubées dans le dispositif expérimental (thermostatisé à 37°C).

Le nombre de cellules par champ microscopique est de 20 à 30. Les images obtenues sont ensuite numérisées, puis juxtaposées de sorte à obtenir un film d'une minute par condition expérimentale.

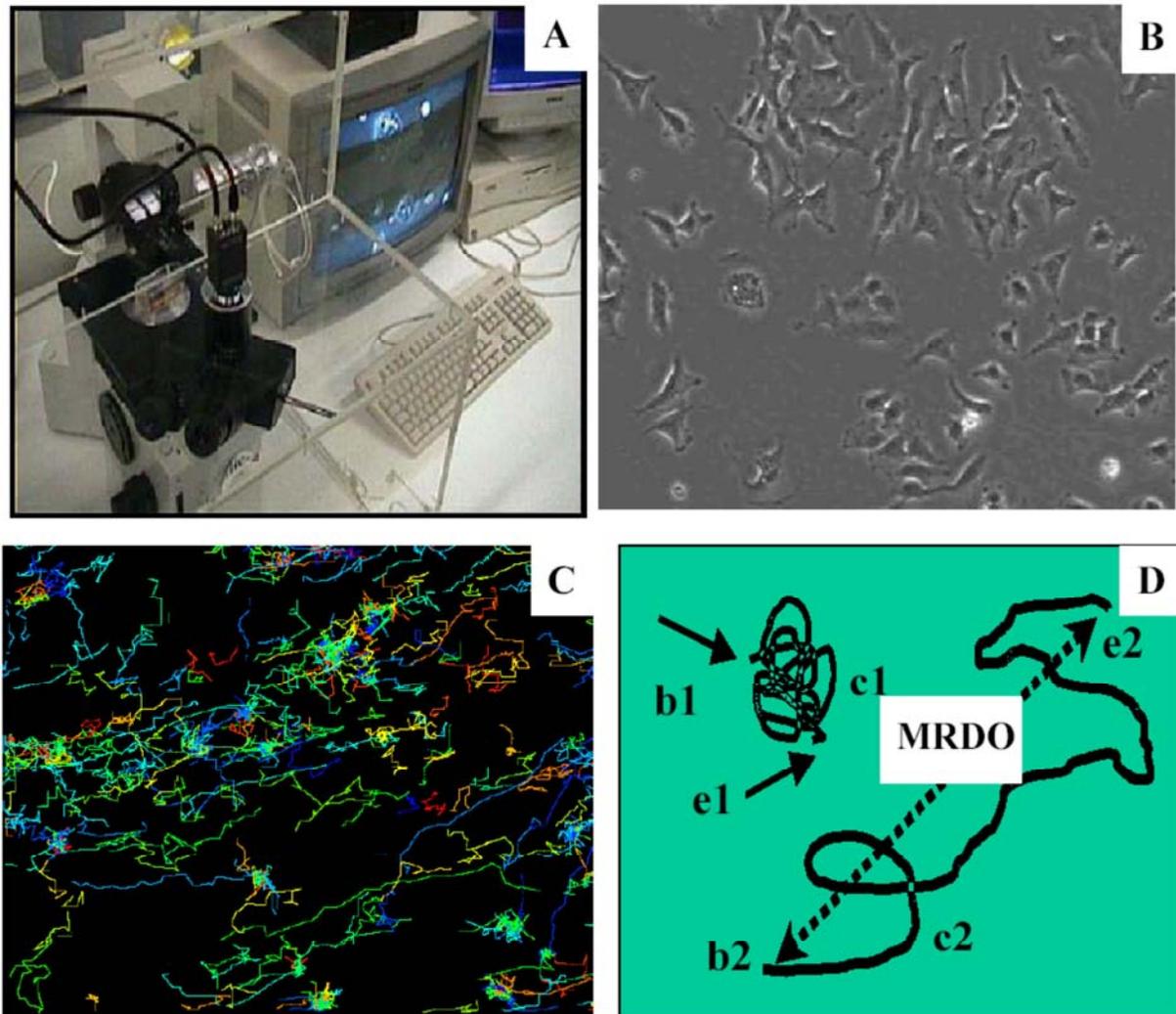


Figure 1:

A. Illustration du dispositif de vidéo-microscopie quantitative assistée par ordinateur: le microscope à contraste de phase est placé dans une enceinte thermostatée à 37°C en plexiglas et surmonté d'une camera commandée par un ordinateur. Le système est programmé pour acquérir des images toutes les quatre minutes. **B.** Exemples d'images acquises.

C. Un logiciel informatique permet la détermination des trajectoires parcourues par chaque cellule prise individuellement. Ces parcours individuels sont représentés par des traits de couleur. **D.** Le logiciel calcule ensuite la variable MRDO (Maximal Relative Distance to the Origin) pour chacune des trajectoires.

2. Microscopie en fluorescence

La microscopie en fluorescence permet de visualiser des substances, des cellules, des molécules non fluorescentes en les marquant avec des fluorochromes. On peut lier ces fluorochromes à des anticorps qui vont se fixer de façon spécifique sur les antigènes correspondants (immunofluorescence).

3. Cytométrie en flux

La cytométrie en flux permet l'étude précise de cellules isolées entraînées dans un flux liquide. Les cellules défilent à grande vitesse devant une source lumineuse, le plus souvent un laser. La diffusion lumineuse, soit dans l'axe du laser, soit à 90° donne respectivement une information sur la taille et la structure de chacune des cellules. La source lumineuse permet en outre l'excitation de molécules fluorescentes présentées par la cellule et préalablement marquées. En effet, le passage des cellules dans un cytomètre est donc précédé d'un marquage par des molécules spécifiques d'une structure ou d'une fonction cellulaire. Ces molécules émettent une fluorescence après leur illumination.

Les signaux de diffusion et de fluorescence (photons) sont captés par des détecteurs qui les transforment en signaux électriques, traités par un système informatique **(Gnoula et coll., 2008)**.

Chaque cellule est ainsi transformée en un " évènement électrique" avec plusieurs coordonnées (taille, granulométrie, fluorescence 1, fluorescence 2 etc.). Ces évènements électriques forment des nuages de points autour desquels on dessine des fenêtres électroniques. Au sein de chaque fenêtre, il est possible de préciser la distribution de la fluorescence. Les paramètres biologiques sont évalués sur des sous populations cellulaires, et sont exprimés en pourcentages.

4. Test colorimétrique MTT

Ce test fait partie des méthodes fondées sur des perturbations des fonctions mitochondriales 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 (**Mosmann et coll., 1983 ; Carmichael et coll., 1987**).

ANNEXE II. PREPARATION DE QUELQUES REACTIFS DE CARACTERISATION PHYTOCHIMIQUE

1. Chlorure ferrique 2 % (m/v)

2 mg de chlorure ferrique sont dissouts dans 100 mL d'eau distillée.

2. 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 dissouts 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.

3. Réactif de Meyer

13,55 g de chlorure de mercure II et 49,8 g d'iodure de potassium sont dissouts dans 20 mL d'eau distillée. Le volume du mélange est porté à 1 L avec de l'eau distillée.

4. Réactif de Shibatat

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

5. Réactif de Kedde

50 mL d'un solvant méthanolique de NaOH 2N + 50mL d'une solution méthanolique d'acide 3,5-dinitrobenzoïque 2 %.

ANNEXE III. PROCEDURE DE CULTURE CELLULAIRE

1. Considérations Générales

- Mettre la hotte en marche au moins 15 minutes avant le début de la manipulation
- Pré chauffer les milieux et réactifs dans un bain marie à 37 °C
- Nettoyer toutes les surfaces de travail à l'aide d'un mélange Eau/Ethanol/Ether ou d'un antiseptique adapté
- Rincer tout récipient, contenant ou instrument à l'aide de la solution antiseptique avant son utilisation sous la hotte
- Stériliser les Tips, les cryotubes et les pipettes à l'aide de rayonnements UV
- Porter des gants, les nettoyer à l'antiseptique

2. Préparation des milieux de culture

- Ajouter 10 ml de glutamine, 10 ml de pénicilline/streptomycine (PenStrep) et 5 ml de Kanamycine dans une bouteille de 500 ml de milieu de culture,
- Ajouter du FBS (Foetal Bovin Serum). Le pourcentage de FBS dépend de la lignée cellulaire. Par exemple, pour MCF-7, A549, U373 préparer des milieux à 5 % de FBS.

3. Congélation de cellules à partir de flasques de 25-cm²

- Cellules en confluence (Croissance de 80 %)
- Eliminer le milieu (surnageant)
- Rincer les cellules avec 2 x 1 ml de trypsine-EDTA
- Eliminer la solution de trypsine
- Ajouter 1 ml de solution de trypsine-EDTA pour détacher les cellules. Ne pas laisser les cellules en contact avec la solution de trypsine pendant plus de 2 minutes.
- Neutraliser l'activité de la trypsine par ajout de 2 ml de milieu → 3 ml au total
- Homogénéiser la suspension

- Centrifuger la suspension de cellules à 1500 rpm à 4 °C pendant 10 minutes
- Eliminer le surnageant
- Remettre en suspension dans 2 ml de la solution de congélation (75% de milieu de culture + 15 % de FBS + 10 % DMSO)
- Transférer 1 ml de cette suspension de cellules dans des cryotubes stériles
- Placer les cryotubes à – 80 °C pendant 24 heures
- Transférer les cryotubes dans l'azote liquide.

4. Remise en culture des cellules

- Sortir le cryotube de l'azote liquide
- Vérifier que le cryotube est bien fermé
- Transférer immédiatement au bain marie à 37 °C jusqu'à ce que la suspension de cellules se détache de la paroi du cryotube
- Transférer le contenu du cryotube dans 7 ml de milieu de culture
- Incuber le flask à 37 °C pendant 24 heures
- Eliminer le milieu de la veille et remplacer par du milieu de culture frais.

5. Passage des cellules

- Examiner l'état général des cellules et leur densité au microscope
- Si les cellules sont à confluence
- Eliminer le surnageant
- Rincer les cellules avec 2 x 1 ml de trypsine-EDTA pour les flask de 25 cm², 2 x 3 ml pour les flask de 80 cm² et 2 x 6 pour les 175 cm²
- Eliminer la trypsine
- Ajouter 1 ml de trypsine-EDTA, puis laisser en contact pendant maximum 2 minutes afin de détacher les cellules. Vérifier au microscope que les cellules se détachent, puis dissocier les cellules de leurs amas.
- Neutraliser l'activité de la trypsine en ajoutant 2 ml de milieu → 3 ml au total pour les T25, 6 ml pour T80 et 12 ml pour les T175.
- Homogénéiser

- Transférer selon la densité de la suspension cellulaire le volume approprié pour une obtenir une bonne croissance cellulaire, dans un nouveau flask contenant du milieu. A titre indicatif: Prélever 500 μ l de 3 ml de suspension de cellules et ajouter 7 ml de milieu, 1-2 ml pour 20 ml pour les T80 et 2-4 ml pour 30 ml pour les T175.
- Placer le nouveau flask dans un incubateur à 37 °C

ANNEXE IV. ATTESTATION DE DEPOT D'ECHANTILLONS

MINISTERE DES ENSEIGNEMENTS SECONDAIRE
SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

.....
CENTRE NATIONAL DE RECHERCHE
SCIENTIFIQUE ET TECHNOLOGIQUE

.....
INSTITUT DE L'ENVIRONNEMENT ET DE
RECHERCHE AGRICOLE

.....
DEPARTEMENT PRODUCTIONS FORESTIERES
03 BP 7047 Ouagadougou 03 Tél : (226) 50 33 40 98

.....
PROGRAMME PROTECTION DES
RESSOURCES FORESTIERES

.....
HERBIER NATIONAL DU BURKINA

ATTESTATION DE DEPOT D'ECHANTILLONS

Je soussigné Monsieur COMPAORE S. Pascal chef de Programme Protection des Ressources Forestières par intérim déclare avoir enregistré le spécimen nommé **Abrus precatorius** sous le numéro 8712 au niveau de l'Herbier National du Burkina (HNBU). Ce spécimen a été déposé par HETIE Sounougou, étudiante en Pharmacie.

En foi de quoi la présente attestation lui est délivrée pour servir et valoir ce que de droit.

Ouagadougou le 19 Janvier 2011



Chef de Programme Protection
des Ressources Forestières /Pi

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.”

RESUME

La présente étude consistait à évaluer *in vitro* l'effet antiprolifératif et anti-radicalaire d'extraits de graines de *Abrus precatorius* L. (Fabaceae), dans le but de contribuer à la prévention ainsi qu'au traitement du cancer. Pour ce faire, un épuisement successif de la poudre de graines a été effectué à l'aide de solvants de polarité croissante d'une part ; et une macération aqueuse totale d'autre part.

Cinq (5) extraits ont été obtenus à cet effet, dont l'extrait au dichlorométhane, l'extrait au mélange de dichlorométhane/méthanol 1/1 (V/V), l'extrait méthanolique, l'extrait aqueux (épuisement) et l'extrait aqueux (macération). Le criblage phytochimique a mis en évidence la présence de composés phénoliques (tanins, flavonoïdes) de saponosides, de cardénolides, et d'alcaloïdes dans ces extraits. Les extraits ont été évalués par rapport à leur capacité d'inhiber la prolifération des cellules cancéreuses (A549, LoVo-MF, MCF7) et également sur leur capacité à réduire le radical libre diphenyl-2 picryl hydrazide (DPPH). Les résultats obtenus ont montré un puissant effet antiprolifératif de l'extrait de dichlorométhane sur les lignées cellulaires étudiées avec des IC_{50} de l'ordre de $0,138 \pm 0,016 \mu\text{g/mL}$, $0,034 \pm 0,019 \mu\text{g/mL}$ et $0,0048 \pm 0,001 \mu\text{g/mL}$, respectivement pour A549, LoVo-MF et MCF7. Par ailleurs, l'extrait méthanolique a présenté un puissant effet antiradicalaire sur le DPPH avec une IC_{50} de $1,131 \pm 0,01 \mu\text{g/mL}$. Cet effet est supérieur à celui de la quercétine ($2,090 \pm 0,018 \mu\text{g/mL}$) qui a été utilisée comme substance antioxydante de référence. Ces résultats offrent de bonnes perspectives pour la mise au point de phytomédicaments à base de ces extraits pour la prévention et le traitement des cancers. De ce fait, des investigations complémentaires seraient nécessaires en vue d'isoler et identifier les composés responsables des effets et d'en déterminer la toxicité ainsi que le mécanisme d'action.

Mots clés : *Abrus precatorius* L. ; antiprolifératif ; anti-radicalaire ; alcaloïdes, composés phénoliques, cardénolides, cancer

Auteur : HETIE Sounougou cel. : 78 04 90 55
Email : hetsoung@yahoo.fr

ABSTRACT

The present study deals with the antiproliferative and antioxidant effects of the extracts of seed powder of *Abrus precatorius* L. (Fabaceae). The main purpose is to contribute to the prevention and treatment of cancer.

Extractions were made by successive depletion of seed powder with increasing polarity solvents and by total maceration. Dichloromethane extracts, dichloromethane/ methanol 1/1 (V/V), methanolic extracts and aqueous extracts were obtained.

The phytochemical screening of these extracts revealed the presence of gallic tanins, saponins alkaloids, flavonoids and cardenolids compounds. Antiproliferative properties of these extracts were assessed by their ability to inhibit the proliferation of different cancerous cells lines (A549, LoVo-MF, MCF-7) and the antioxidant effects as for them, by their ability to reduce the free radical diphenyl-2 picryl hydrazide (DPPH). The results showed a strong antiproliferative effect of dichloromethane extract and the IC₅₀ were respectively $0,138 \pm 0,016 \mu\text{g}/\text{mL}$ for A549 cells, $0,034 \pm 0,019 \mu\text{g}/\text{mL}$ for LoVo-MF cells and $0,0048 \pm 0,001 \mu\text{g}/\text{mL}$ for MCF-7 cells. Moreover, the methanol extract exhibit a powerful radical scavenging effect on DPPH with an IC₅₀ of $1,31 \pm 0.01 \mu\text{g}/\text{ml}$ more greater than the antioxidant effect of quercetin used as reference substance (IC₅₀ = $2.090 \pm 0.018 \mu\text{g} / \text{mL}$). These results offer good perspectives for the development of phytomedicine containing these extracts for the prevention and treatment of cancers. Therefore, further investigations are needed to isolate and identify the compounds responsible for these effects and to determine the toxicity and mechanism of action.

Keywords: *Abrus precatorius* L., antiproliferative, antioxidant, alkaloid, polyphenolic compounds, cardenolids, cancer

Author: HETIE Sounougou, Cel. 78 04 90 55
Email: hetsoung@yahoo.fr