



THÈSE DE DOCTORAT

ANNÉE UNIVERSITAIRE

2025-2026

N° D'ORDRE :

168

FORMATION DOCTORALE

AGRICULTURE ET ENVIRONNEMENT TROPICAL

Mention : Biologie-Santé

Spécialité : Biochimie- Pharmacologie Moléculaire

THÈME :

Caractérisation chimique et cytotoxicité sur des lignées cancéreuses d'extraits acétate d'éthyle de feuilles de *Mezoneuron benthamianum* (Fabaceae), *Annickia polycarpa* (Annonaceae) et *Morinda morindoides* (Rubiaceae) ; trois plantes de la Pharmacopée Ivoirienne

Prénoms : Aya Honorine

NOM : TANOH

JURY

Président : M. KOUASSI Kouakou Lazare, Professeur Titulaire,
Université Jean LOROUGNON GUEDE

Directeur : M. KPOROU Kouassi Elisée, Professeur Titulaire,
Université Jean LOROUGNON GUEDE

Rapporteur : M. BENE Kouadio, Maître de Conférences,
Université Nangui ABROGOUA

Examineur 1 : M. BAGRE Issa, Maître de Conférences,
Université Felix HOUPHOUËT-BOIGNY

Examineur 2 : M. GBOGBO Moussa, Maître de Conférences,
Université Jean LOROUGNON GUEDE

Soutenu le
17/01/2026

TABLE DES MATIERES

DEDICACEvi

AVANT- PROPOS.....vii

REMERCIEMENTS viii

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONSix

LISTE DES TABLEUX.....ix

LISTE DES FIGURESxii

LISTE DES ANNEXES..... xv

INTRODUCTION..... 16

PREMIERE PARTIE : GENERALITES.....5

1. CELLULE.....6

1.1. Définition..... 6

1.2. Toxicité cellulaire..... 6

1.2.1.Principaux types de morts cellulaires 7

1.2.1.1. Autophagie..... 7

1.2.1.2. Nécrose 8

1.2.1.3. Apoptose 9

1.2.2.Détection de la mort cellulaire par apoptose 10

1.2.2.1. Cytométrie en flux 10

1.2.2.2. Détection de la fragmentation de l’ADN..... 11

1.2.2.3. Activation des caspases 3/7, 8 ou 9 12

1.2.3.Evaluation de l’activité cytotoxique 12

1.2.4.Cibles biologiques de l’action des agents cytotoxiques 13

2. CANCER..... 13

2.1. Définition et physiopathologie du cancer 13

2.1.1.Définition..... 13

2.1.2.Physiopathologie du cancer 14

2.1.3.Signalisation et base moléculaire de la carcinogenèse 17

2.2. Principaux facteurs de risque..... 18

2.3. Epidémiologie du cancer 18

2.4. Etiologie et diagnostic de quelques cancers 19

2.4.1.Cancer de la prostate 19

2.4.2. Cancer du côlon ou cancer colorectal.....	21
2.4.3. Cancer du sein	22
2.4.4. Cancer du sang ou leucémie	24
2.5. Stratégies de traitements du cancer	25
2.5.1. Traitements en médecine moderne	26
2.5.1.1. Chirurgie	26
2.5.1.2. Radiothérapie	26
2.5.1.3. Chimiothérapie.....	26
2.5.1.4. Immunothérapie	27
2.5.1.5. Hormonothérapie	28
2.5.2. Phytothérapie	28
2.5.2.1. Importance des plantes médicinales dans la thérapie du cancer.....	28
2.5.2.2. Quelques molécules anticancéreuses d'origine végétale	29
3. CULTURE CELLULAIRE	30
3.1. Origine des cellules cultivées.....	30
3.2. Intérêt de la culture cellulaire	31
3.3. Lignées cellulaires	31
3.4. Lignées cellulaires cancéreuses étudiées	32
3.4.1. Lignées HCT 116.....	32
3.4.2. Lignée MDA-MB-231	32
3.4.3. Lignée MCF-7.....	33
3.4.4. Lignée THP-1.....	34
3.4.5. Lignée PC-3	35
4. PLANTES ETUDIEES.....	36
4.1. <i>Annickia polycarpa</i> (DC.) Engl. &Diels.....	37
4.1.1. Position systématique.....	37
4.1.2. Description botanique	37
4.1.3. Utilisations traditionnelles	38
4.1.4. Propriétés pharmacologiques	38
4.1.5. Quelques molécules isolées des feuilles de <i>Annickia polycarpa</i>	39
4.2. <i>Mezoneuron benthamianum</i> (Baill.) Herend. & Zarucchi.....	39
4.2.1. Position systématique.....	39

4.2.2. Description botanique	39
4.2.3. Utilisations traditionnelles	40
4.2.4. Propriétés pharmacologiques	41
4.2.5. Quelques molécules chimiques isolées des feuilles de <i>Mezoneuron benthamianum</i>	41
4.3. <i>Morinda morindoides</i> (Baker) Milne-Redh	42
4.3.1. Position systématique.....	42
4.3.2. Description botanique	42
4.3.3. Utilisations traditionnelles	43
4.3.4. Propriétés pharmacologiques	43
4.3.5. Quelques molécules isolées des feuilles de <i>Morinda morindoides</i>	44
5. TECHNIQUES DE CARACTERISATION STRUCTURALE ET METABOLITES SECONDAIRES SPECIALISES DES PLANTES	44
5.1. Techniques de caractérisation structurale	44
5.1.1. Spectrométrie HPLC-ESI-QTOF-MS/MS.....	44
5.1.2. Spectrométrie de masse.....	45
5.1.3. Chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC/MS)	45
5.2. Métabolites secondaires spécialisés des plantes	45
5.2.1 Alcaloïdes	45
5.2.2. Composés phénoliques.....	46
5.2.3. Terpènes.....	46
6. ANTIOXYDANTS	47
6.1. Définition	47
6.2. Types d'antioxydants	47
6.2.1. Antioxydants endogènes	47
6.2.2. Antioxydants exogènes	47
6.3. Stress oxydant	48
6.4. Pathologies liées au stress oxydant	48
DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES	50
1. MATERIEL	50
1.1. Matériel biologique	50
1.1.1. Plantes.....	50

1.1.2. Lignées cellulaires	50
1.2. Matériel technique	50
1.3. Réactifs, solvants et autres produits	51
1.3.1. Réactifs	51
1.3.2. Solvants.....	52
1.3.3. Autres produits.....	52
2. METHODES.....	53
2.1. Préparation des extraits.....	53
2.2. Culture cellulaire	53
2.3. Evaluation de l'activité cytotoxique	54
2.3.1. Comptage et ensemencement (jour 0)	54
2.3.2. Préparation de solutions stocks pour le traitement des cellules (jour 1)	54
2.3.3. Evaluation de la viabilité cellulaire par le MTS (jour 2).....	56
2.4. Mécanisme d'action des extraits par cytométrie en flux	58
2.5. Activités antiradicalaires	59
2.5.1. Test de DPPH	59
2.5.2. Test de l'ABTS.....	60
2.6. Caractérisation chimique des composés des extraits de <i>Annickia polycarpa</i> et <i>Mezoneuron benthamianum</i>	61
TROISIEME PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSION	64
1. RESULTATS	65
1.1. Rendements d'extractions	65
1.2. Survivance des cellules traitées	65
1.3. Type de mort cellulaire.....	72
1.4. Potentiel antiradicalaire des extraits les plus actifs	80
1.4.1. Potentiel antiradicalaire par le test de DPPH	80
1.4.2. Potentiel antiradicalaire par le test de l'ABTS	82
1.5. Composés chimiques des extraits bioactifs	83
1.5.1. Constituants chimiques de l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de <i>M. benthamianum</i>	84
1.5.2. Constituants chimiques de l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de <i>A. polycarpa</i>	92

2. DISCUSSION 100
CONCLUSION 110
REFERENCES..... 114
ANNEXE.....xvii
PUBLICATIONS.....

DEDICACE

A toute la famille MEA EFJO et ASSAMOI

A mon époux ADHOUT Claver Franck Stephane

*A mes fils Riyad Uriel Noam ADHOUT et Ethan Neylan
Mathys ADHOUT*

AVANT- PROPOS

La réalisation des présents travaux a bénéficié de la collaboration de l'équipe de recherche 3Bio de l'UMR 7199 CNRS- Université de Strasbourg et du Groupe d'excellence de Recherche sur les Produits de la Pharmacopée Traditionnelle (GeRProPhaT) de l'Université Jean LOROUGNON GUEDE de Daloa. Ces travaux s'inscrivent dans un vaste programme visant à valoriser scientifiquement la pharmacopée africaine. Les données qui y sont présentées justifient non seulement les potentiels cytotoxique et antioxydant des espèces végétales *Annickia polycarpa*, *Mezoneuron benthamianum* et *Morinda morindoides* mais également fournissent des connaissances sur le profil chimique et le mécanisme d'action des extraits les plus actifs sur un modèle cellulaire. Ces travaux ont été réalisés grâce au financement Alsace contre le cancer sous la mention Alsace contre le cancer /UMR7199/Fourner. A terme l'exploitation des données pourrait favoriser le développement de médicaments traditionnels améliorés (MTA) afin d'apporter des solutions aux problèmes de suite efficaces et peu coûteux.

REMERCIEMENTS

Cette œuvre humaine n'aurait pas atteint son terme si des personnes disponibles et aimables n'y avaient pas apporté leur contribution. Il est donc nécessaire pour nous de leur adresser nos sincères remerciements.

A Madame **ADOHI KROU Viviane**, Professeur Titulaire de Physiques Atomique, Présidente de l'Université Jean LOROUGNON GUEDE (UJLoG), pour l'engagement à bâtir une université d'excellence et pour avoir accepté notre inscription dans la prestigieuse institution qu'elle préside. A sa suite, nous remercions :

- Monsieur **SORO Dogniméton**, Professeur Titulaire d'Agro-pédologie, Vice-Président en charge de la Pédagogie, et de la Vie universitaire à UJLoG, pour tout le travail abattu au sein de l'Institution ;
- Monsieur **KONE Issiaka**, Professeur Titulaire de Sociologie des organisations, Vice-Président en charge de la Recherche des Relations Extérieurs et de la Planification à UJLoG pour son implication au bien être des étudiants ;
- Monsieur **KOUASSI Kouassi Clément**, Maître de Conférences de Microbiologie et Sécurité Alimentaire, Directeur de l'Unité de Formation et de Recherche (UFR) Agroforesterie à UJLoG, pour avoir accepté notre inscription à l'UFR ;
- Monsieur **ACKAH Jacques Auguste Bognon Alfred**, Professeur Titulaire de Biochimie-Pharmacologie, Vice-Directeur de l'Unité de Formation et de Recherche (UFR) en Agroforesterie à UJLoG, pour ses conseils et cours dispensés ;
- Monsieur **BEUGRE Avit Grah Maxwell**, Professeur Titulaire de Biochimie et Nutrition à l'Université Jean LOROUGNON GUEDE de Daloa, Directeur du Laboratoire d'Agrovalorisation de UFR Agroforesterie, pour nous avoir accueilli au sein du Laboratoire dans le cadre de nos études doctorales ;
- Monsieur **KPOROU Kouassi Elisée**, Professeur Titulaire de Pharmacologie-Biochimie, Coordonnateur du Groupe d'excellence de Recherche sur les Produits de la Pharmacopée Traditionnelle (GeRProPhaT), notre Directeur de Thèse pour sa disponibilité, ses conseils et son aide durant toute la période de la thèse. Il nous a fait confiance en acceptant de nous guider dans la réalisation de ce travail. Nous sommes honorés d'avoir bénéficié de ses qualités pédagogiques et humaines ;

- Monsieur **KOUASSI Kouakou Lazare**, Professeur Titulaire d'Hydrologie et Enseignant-Chercheur à l'UFR Environnement à l'Université Jean LOROUGNON GUEDE de Daloa, pour avoir accepté de présider cette thèse et de juger ce travail malgré ses diverses responsabilités. Veuillez trouver l'expression de notre profond respect et sincère gratitude ;
- Monsieur **BENE Kouadio**, Maître de Conférences de Ethnobotanique-Ethnopharmacologie, Enseignant-Chercheur à l'Université Nangui ABROGOUA, pour avoir accepté d'être l'évaluateur puis rapporteur dans ce jury. Merci pour vos remarques et suggestions pertinentes et très constructives ayant contribué à l'amélioration de ce manuscrit ;
- Monsieur **BAGRE Issa**, Maître de Conférences de Biochimie-Microbiologie, Enseignant-Chercheur à l'Université Felix HOUPHOUËT-BOIGNY. Merci d'avoir accepté d'être l'examineur de cette thèse ;
- Monsieur **GBOGBO Moussa**, Maître Conférences de Biochimie-Toxicologie, Enseignant-Chercheur à l'Université Jean LOROUGNON GUEDE de Daloa. Merci d'avoir accepté d'être l'examineur de cette thèse ;
- Monsieur **OBOUAYEBA Abba Pacôme**, Maître de Conférences en Biochimie-Pharmacologie, Responsable du Niveau Master 2 de la filière Biologie-Santé, pour ses conseils et enseignements ;
- Monsieur **KOFFI Allali Eugène**, Maître de Conférences de Biochimie-Microbiologie, Responsable du Niveau Master 1 de la filière Biologie-Santé pour ses conseils et soutien ;
- L'ensemble des Enseignants-Chercheurs et Chercheurs du GeRProPhaT pour leurs précieux conseils et les relations cordiales que nous avons pu tisser avec eux au fil de ces années de recherche ;
- Nos formateurs de la filière Biologie-Santé : Docteur **OKOU Obou Constantin**, Docteur **AKRE Djako Sosthène**, Docteur **OUATTARA Abou**, Docteur **YAYE Guillaume**, Docteur **YAO René**, Docteur **SOUMAHORO** pour tous les efforts consentis dans notre formation académique ;
- Professeur **BARIMA Yao Sadaïou Sabas**, Docteur **KOUASSI Kra Athanase**, Docteur **NIANGORAN Charles**, Docteur **NIABA Valery**, Docteur **BAMBA Souleymane**, Docteur **YAPO Sopie Edwige Salomé Epouse M'BIA**, pour leurs conseils et la motivation qu'ils nous ont apportées face aux difficultés rencontrées au long de notre cursus universitaire ;
- Association "Alsace contre le cancer" pour le financement accordé au projet « Evaluation de nouveaux composés anti-tumoraux issus des plantes de la pharmacopée Ivoirienne ». Ce financement a permis d'effectuer nos différents travaux et un séjour à Strasbourg (France) ;

- Professeur **Sylvie FOURNEL**, les Directeurs de Recherche Docteur **Benoit FRISCH**, Docteur **Antoine KICHLER**, Docteur **Anaïs BRION**, Docteur **Sergio ORTIZ** ; Madame **Cendrine SEGUIN** et le personnel de la faculté de Pharmacie de l'Université de Strasbourg (France) pour notre accueil en France et la chance qu'ils nous ont donnée de réaliser les différents travaux de cette thèse au sein de l'équipe Biovectorisation, Bioconjugaison, biomatériaux (3Bio) de l'UMR7199 ;
- Notre **Oncle EFFO Kouakou Etienne**, Maître de Conférences de Pharmacologie, Pharmacie Clinique et Thérapeutique à l'Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY pour le suivi, les conseils et le soutien financier dont nous avons bénéficiés durant tout notre parcours universitaire. Il reste pour nous un modèle ;
- Nos amis **OKA Constant**, **OBO N'Da**, **N'GUESSAN Patrice**, **COULIBALY Mamadou**, **YAPI Sylvie**, tous les condisciples GeRProPhaT dont Docteur **ABOLI Tano-Bla Félicité**, Docteur **CHOHO Meney Frederic**, **N'DRI Quesnelle**, et tous les étudiants de la promotion 2015-2016 pour leur amitié et encouragement.

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

<i>A. polycarpa</i> :	<i>Annickia polycarpa</i>
ABTS :	Acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)
ADN :	Acide désoxyribonucléique
ALLIAM :	Alliance des Ligues Francophones Africaines et Méditerranéennes
ASP :	Antigène spécifique de la prostate
ATCC :	American Type Culture Collection
ATP :	Adénosine triphosphate
CAT :	Catalyse
Center NCCSC :	Nation Cancer Chemotherapy Service
CI ₅₀ :	Concentration Inhibitrice à 50 %
CNF :	Centre National Floristique
CO ₂ :	Dioxyde de Carbone
CSTN :	Cancer du Sein Triple Négatif
D.O :	Densité optique
DAC :	DNase activée par les caspases
DMSO :	Diméthylsulfoxyde
DPPH :	2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
EBV :	Epstein Barr Virus
EOA :	Espèces de l'Oxygène Active
ERO :	Espèces Réactives de l'Oxygène
ESI :	ElectroSpray Ionisation
EtOAc :	Acétate d'éthyle
EtOH :	Ethanol
FILCA :	Facility offers flow cytometry Analysis
FNT :	Facteur de nécrose tumorale
GPX :	Gluthation Peroxydase
GSH :	Glutathion
H :	Hydrogène
H ₂ O :	Eau
H ₂ O ₂ :	Peroxyde d'hydrogène
HPLC :	High-performance liquid chromatography
HPV :	Papillomavirus

IDAC :	Inhibiteur de la DNase activée par les caspases
IM :	Indice mitotique
INC :	Institut national du cancer
IP :	Iodure de propidium
IRM :	Imagerie par résonance magnétique
LC-MS :	Liquid Chromatography coupled to tandem Mass Spectrometry
<i>M. benthamianum</i> :	<i>Mezoneuron benthamianum</i>
<i>M. morindoides</i> :	<i>Morinda morindoides</i>
MeOH :	Méthanol
mL :	Millilitre
MS :	Mass Ppectrometry
MTS :	3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl) -5-(3-carboxymethoxyphenyl) -2-(4-sulfophenyl) -2H-tetrazolium
NADP :	Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate
OMS :	Organisation Mondiale de la Santé
P1IR :	Protéine 1 interagissant avec le récepteur
PBS :	Phosphate-buffered saline
pH :	Potentiel hydrogène
PSM :	Poste de sécurité microbiologie
PSN :	Plan stratégique nationale
R1FNT :	Récepteur 1 du facteur de nécrose tumorale
RA :	Récepteur des androgènes
RE :	Récepteur des œstrogènes
RP :	Récepteur de la progestérone
RPMI :	Roswell Park Memorial Institute
SAR :	Sarcome du rat
SOD :	Superoxyde dismutase
SVF :	Sérum de Vœu Fœtal
TNA :	Translocateur des nucléotides d'adénine
UV :	Ultraviolet
VIH :	Virus de l'Immunodéficience Humaine
WCRF :	World Cancer research Fund International

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Quelques composés anticancéreux isolés des plantes.....	30
Tableau II : Conditions de la séparation des composés de l'extrait <i>M. benthamianum</i> par le système CLHP	63
Tableau III : Conditions de la séparation des composés de l'extrait <i>A. polycarpa</i> par le système CLHP	63
Tableau IV : Concentration inhibitrice (CI ₅₀) des extraits sur toutes les lignées cellulaires cancéreuses testées.	71
Tableau V : Molécules identifiées dans l'extrait d'acétate d'éthyle de <i>M. benthamianum</i>	86
Tableau VI : Molécules trouvées dans l'extrait d'acétate d'éthyle de <i>A. polycarpa</i>	94

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Différentes étapes de l'autophagie dans les cellules	7
Figure 2 : Modifications morphologiques cellulaires au cours de la nécrose.....	8
Figure 3 : Modifications morphologiques cellulaires au cours de l'apoptose	9
Figure 4 : Différents marquages à l'annexine V et à l'iodure de propidium en fonction du type de mort cellulaire.....	11
Figure 5 : Transformation d'une cellule saine en une tumeur maligne	14
Figure 6 : Phases de la cancérogenèse	16
Figure 7 : Progression d'une tumeur primitive vers la cascade métastatique.....	16
Figure 8 : Différents stades de cancer de la prostate	20
Figure 9 : Différents stades de cancer du côlon.....	22
Figure 10 : Localisation d'une tumeur maligne dans le sein	23
Figure 11 : Différents types de leucémies	25
Figure 12 : Photo lignée HCT 116.....	32
Figure 13 : Photo lignée MDA-MB-231.....	33
Figure 14 : Photo lignée MCF-7	34
Figure 15 : Photo lignée THP-1	35
Figure 16 : Photo lignée PC-3.....	36
Figure 17 : Tige Feuillée de <i>Annickia polycarpa</i> (DC.) Engl. &Diels (Annonaceae).....	38
Figure 18 : Structures de quelques composés isolés des feuilles de <i>Annickia polycarpa</i>	39
Figure 19 : Tige feuillée de feuilles de <i>Mezoneuron benthamianum</i> (Baill.) Herend. & Zarucchi (Fabaceae).....	40
Figure 20 : Molécules chimiques isolées des feuilles de <i>Mezoneuron benthamianum</i>	41
Figure 21 : Rameau feuillé de <i>Morinda morindoides</i> (Baker) Milne-Redh (Rubiaceae).....	43
Figure 22 : Structures de quelques molécules isolées des feuilles de <i>Morinda morindoides</i> .44	
Figure 23 : Schéma de la préparation des solutions stocks et des dilutions décimales des extraits et de la gamme DMSO/H ₂ O.....	55
Figure 24 : Méthode de préparation de la doxorubicine à 1 µM.	55
Figure 25 : Structure du MTS et de son produit formazan	56
Figure 26 : Photo d'une plaque de 96 puits traitée avec du MTS.....	57
Figure 27 : Mécanisme de réduction du radical DPPH par un antioxydant	59
Figure 28 : Mécanisme de réduction de l'ABTS en présence de Persulfate de potassium (K ₂ S ₂ O ₈) par un antioxydant (AOH).....	61

Figure 29 : Courbes dose-réponse des extraits sur la lignée cellulaire HCT 116.....	66
Figure 30 : Courbes dose-réponse des extraits sur la lignée cellulaire MDA-MB-231.....	67
Figure 31 : Courbes dose-réponse des extraits sur la lignée cellulaire MCF-7	68
Figure 32 : Courbes dose-réponse des extraits sur la lignée cellulaire THP1	69
Figure 33 : Courbes dose-réponse des extraits sur la lignée cellulaire PC-3.....	70
Figure 34 : Cytogramme des cellules en fonction de leur taille (FSC - Forward Scatter) et de leur granularité/complexité interne (SSC - Side Scatter).....	72
Figure 35 : Cytogramme des cellules non traitées à l'Annexine V-FITC (COMP-FITC) et à l'iodure de propidium	73
Figure 36 : Cytogramme de marquage AnnexinV-FITC (COMP-FITC) et Iodure de propidium (COMP-PE) à 10 µg/mL d'extrait <i>Annickia polycarpa</i>	74
Figure 37 : Cytogramme de marquage AnnexinV-FITC (COMP-FITC) et Iodure de propidium (COMP-PE) à 40 µg/mL d'extrait <i>Annickia polycarpa</i>	75
Figure 38 : Cytogramme de marquage AnnexinV-FITC (COMP-FITC) et Iodure de propidium (COMP-PE) à 100 µg/mL d'extrait <i>Annickia polycarpa</i>	76
Figure 39 : Cytogramme de marquage AnnexinV-FITC (COMP-FITC) et Iodure de propidium (COMP-PE) à 10 µg/mL d'extrait <i>Mezoneuron benthamianum</i>	77
Figure 40 : Cytogramme de marquage AnnexinV-FITC (COMP-FITC) et Iodure de propidium (COMP-PE) à 40 µg/mL d'extrait <i>Mezoneuron benthamianum</i>	78
Figure 41 : Cytogramme de marquage AnnexinV-FITC (COMP-FITC) et Iodure de propidium (COMP-PE) à 100 µg/mL d'extrait <i>Mezoneuron benthamianum</i>	79
Figure 42 : Evolution des pourcentages d'inhibition du radical DPPH par l'acide ascorbique et les extraits.....	80
Figure 43 : Histogramme des concentrations inhibitrices 50 % (CI ₅₀) de l'acide ascorbique et des extraits.....	81
Figure 44 : Evolution des pourcentages d'inhibition du radical ABTS par l'acide gallique et des extraits.....	82
Figure 45 : Histogrammes des concentrations inhibitrices 50 % (CI ₅₀) de l'acide gallique et des extraits.....	83
Figure 46 : Chromatogramme de quelques composés de l'extrait d'acétate d'éthyle de <i>Mezoneuron benthamianum</i>	85
Figure 47 : Chromatogramme et structures de quelques composés de l'extrait d'acétate d'éthyle de <i>Mezoneuron benthamianum</i>	88
Figure 48 : Structure du furano-lactone cassane isomère	89

Figure 49 : Structure du furano-cassane	90
Figure 50 : Structure du trimethoxy-hydroxy-homoisoflavonoïde.....	90
Figure 51 : Structure du furano cassane isomère	91
Figure 52 : Chromatogramme de quelques composés de l'extrait d'acétate d'éthyle de <i>Annickia polycarpa</i>	93
Figure 53 : Chromatogrammes et structures de deux composés de l'extrait acétate d'éthyle de <i>Annickia polycarpa</i>	97
Figure 54 : Structure de annoglaxine isomère	98
Figure 55 : Structure de l'Annonacine	99

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : Quelques matériels techniques utilisés au cours de méthodes.....xvii

INTRODUCTION

Le cancer représente un défi majeur de santé publique, touchant un grand nombre de personnes à travers le monde. Les tumeurs, qui en sont à l'origine, peuvent être bénignes (non cancéreuses) ou malignes (cancéreuses), ces dernières étant responsables d'un nombre considérable de décès. Parmi les maladies non transmissibles, le cancer constitue la deuxième cause de mortalité après les maladies cardiovasculaires (De-Martel *et al.*, 2020). Il est impliqué dans un décès sur huit à l'échelle mondiale, causant plus de pertes humaines que le SIDA, la tuberculose et le paludisme réunis (LA LIGUE, 2022). Malgré les progrès réalisés en matière de diagnostic et de traitement, l'incidence du cancer ainsi que sa mortalité continuent d'augmenter, soulignant l'urgence de renforcer les stratégies de prévention et de prise en charge.

En 2022, le nombre de nouveaux cas de cancer a été estimé à 20 millions, avec près de 10 millions de décès, renforçant l'idée de l'ampleur de cette maladie comme un enjeu majeur de santé publique. L'Asie enregistre le plus grand nombre de décès liés au cancer (56 %), suivie de l'Europe (20 %) et de l'Amérique (7 %). En Afrique, l'incidence est d'environ 1,1 million de nouveaux cas par an, entraînant jusqu'à 700 000 décès (OMS, 2023).

Cette augmentation est aggravée par la croissance démographique, le vieillissement de la population, l'urbanisation, et les variations intervenues dans les différents modes de vie. Ces causes contribuent à une incidence de plus en plus croissante du cancer. En outre, selon l'Alliance des Ligues Francophones Africaines et Méditerranéennes contre le Cancer, les facteurs tels que l'absence de mesures préventives, le retard diagnostique, le manque de professionnels formés en oncologie, et l'insuffisance d'infrastructures et d'équipements spécialisés, compromettent la prise en charge efficace de la maladie. Si des mesures adaptées ne sont pas mises en place rapidement, la mortalité due au cancer risque de croître au même rythme que son incidence (ALIAM, 2017).

En Côte d'Ivoire, le nombre de nouveaux cas de cancer est passé de 12 002 en 2012 à 17 300 en 2020 avec près de 11 760 décès estimés en 2020 (PSN, 2022). Selon le PNLCa (2018), l'ignorance autour de la maladie cancéreuse et les diagnostics tardifs sont responsables de près de 75 % des cas de décès. Cette forte mortalité est une préoccupation de l'Etat Ivoirien à cause de l'absence de traitements durables contre le cancer et de leurs coûts trop élevés.

Les stratégies thérapeutiques du cancer reposent sur une approche multidisciplinaire combinant différentes méthodes selon le type de cancer, son stade et l'état général du patient. La chimiothérapie, la radiothérapie, la chirurgie, l'hormonothérapie, l'immunothérapie, la médecine de précision, et la thérapie génique ciblée sont régulièrement utilisées dans le traitement du cancer. Cependant, les traitements sont associés à plusieurs effets secondaires très

souvent insupportables pour les patients. Dans certains cas, des effets toxiques ont été observés sur des organes (Thirion, 2018). Par exemple, des agents anticancéreux tels que le 5-fluorouracile, la bléomycine, le cyclophosphamide, couramment utilisés, sont connus pour avoir une myélotoxicité, une cardiotoxicité, et même une immunotoxicité (Jemal *et al.*, 2007 ; Desai *et al.*, 2008). La toxicité de ces traitements limite leur utilisation dans la thérapie du cancer ; ce qui rend plus difficile leur prise en charge en allopathie.

À la lumière des limites d'efficacité observées avec les traitements conventionnels, des traitements alternatifs sont à l'étude, comme la mise en œuvre de l'argilo-thérapie, la lithothérapie et la phytothérapie qui utilise des produits dérivés des plantes.

Dans plusieurs pays, des études ont été menées sur le potentiel cytotoxique de certaines plantes sur des lignées cancéreuses. Par exemple, en Asie, précisément en Irak, Basim *et al.* (2014) ont montré que l'extrait éthanolique de *Thymus vulgaris* (Lamiaceae) et *Origanum syriacum* (Lamiaceae) réduisaient la viabilité des lignées cancéreuses du sang aux valeurs de $CI_{50} = 0,3345$ mg/mL et $0,4247$ mg/mL respectivement. De plus, en Iran, Toktam *et al.* (2015) ont démontré l'effet antiprolifératif *in vitro* de l'huile essentielle de *Cyperus longus* (Cyperaceae) sur les lignées cellulaires MCF-7 ($CI_{50} = 22,25$ µg/mL) et PC-3 ($CI_{50} = 12,55$ µg/mL). Par ailleurs, en Océanie (Nouvelle-Calédonie), Thieury (2017) a noté que les extraits acétatiques et cyclohexanique des feuilles de *Storckiella pancheri* (Fabaceae) présentaient une activité cytotoxique sur les lignées cancéreuses du sein, du côlon et de la prostate avec des valeurs de CI_{50} comprises entre $0,9$ µg/mL et $6,3$ µg/mL. De même, en Europe (Turquie), Uğur *et al.* (2017) ont montré qu'un extrait éthanolique des feuilles de *Artemisia absinthium* (Asteraceae) avait une activité cytotoxique sur les cellules du cancer du sein ($CI_{50} = 221,5$ µg/mL). Les auteurs, Nelson *et al.* (2020) ont également démontré que l'extrait méthanolique des feuilles de *Eclipta alba* (Asteraceae) était toxique contre les cellules du cancer du côlon ($CI_{50} = 179$ µg/mL). En Amérique, précisément en Nouvelle-Orleans, Bandopadhyaya *et al.* (2015) ont testé l'extrait méthanolique de *Catharanthus roseus* (Apocynaceae) et de *Cinnamomum camphora* (Lauraceae) sur les cellules du cancer du côlon ; et ces auteurs ont obtenu des CI_{50} de $46,21$ µg/mL et $35,21$ µg/mL respectivement. Sur ce même continent, au Brésil, Rosa *et al.* (2020) ont montré que l'extrait dichlorométhanique des feuilles de *Cecropia pachystachya* (Urticaceae) était toxique contre les cellules du cancer de la prostate avec une CI_{50} de $70,85$ µg/mL. Enfin en Afrique, au Nigeria, Tayo *et al.* (2022) ont constaté que l'extrait dichlorométhane des feuilles de *Caesalpinia benthamiana* (Fabaceae) présentait une toxicité contre les cellules du cancer de la prostate (CI_{50} de $27,90$ µg/mL), du poumon ($CI_{50} = 8,45$ µg/mL) et du sein ($CI_{50} = 10,4$ µg/mL). En Côte d'Ivoire, Kporou *et al.* (2018) ont montré que

l'huile essentielle de *Ocimum gratissimum* (Lamiaceae) inhibait la prolifération des cellules du cancer du côlon avec une CI_{50} de $150 \pm 0,02 \mu\text{g/mL}$. Tous ces résultats décrivent la dynamique de la recherche au niveau des plantes à potentialités anticancéreuses.

Malheureusement, en Côte d'Ivoire, bien que des enquêtes ethnobotaniques et ethnopharmacologiques décrivent l'utilisation des plantes dans diverses recettes traditionnelles pour traiter certaines tumeurs (Adjanohoun & Aké-Assi, 1979 ; Kabran *et al.*, 2011), il ressort que peu de données scientifiques sont disponibles sur l'efficacité et l'innocuité de ces recettes traditionnelles. Parmi ces plantes, il est régulièrement cité *Baphia nitida* (Fabaceae), *Nymphaea lotus* (Nymphaeaceae), *Combretum paniculatum* (Combretaceae), *Anthocleista djalonensis* (Loganiaceae), *Ageratum conyzodes* (Asteraceae), *Monodora myristica* (Annonaceae), *Mezoneuron benthamianum* (Fabaceae), *Annickia polycarpa* (Annonaceae), et *Morinda morindoides* (Rubiaceae) (Aké-Assi, 1984 ; Kabran *et al.*, 2011). Ces trois dernières espèces, bien que présentes en Côte d'Ivoire et reconnues pour leur biodisponibilité n'ont pas encore été évaluées pour leur activité cytotoxique sur des lignées cancéreuses dans ce contexte géographique. Il est également important de rappeler que les espèces de *Annickia polycarpa* et *Mezoneuron benthamianum* étaient anciennement désignées sous les appellations de *Enantia polycarpa* et *Caesalpinia benthamiana*.

Cette étude vise à évaluer le potentiel cytotoxique sur des lignées cancéreuses de *Mezoneuron benthamianum*, *Annickia polycarpa* et *Morinda morindoides*, trois plantes de la flore ivoirienne utilisées dans le traitement traditionnel des tumeurs en Côte d'Ivoire. Il s'agit spécifiquement de :

- évaluer *in vitro* le potentiel cytotoxique des extraits de ces plantes sur cinq lignées cellulaires cancéreuses ;
- élucider le mécanisme de mort cellulaire impliqué dans l'activité antitumorale des extraits bioactifs ;
- mesurer l'activité antioxydante des extraits bioactifs ;
- et identifier les composés chimiques des extraits bioactifs.

En dehors de l'introduction et des références, ce manuscrit est structuré en trois parties. La première partie aborde les généralités sur la cellule, le cancer, les plantes étudiées et les phytoconstitués. La seconde partie décrit le matériel et les méthodes utilisés pour réaliser cette étude. Et la troisième partie présente les résultats et leur discussion. Enfin, une conclusion fait le bilan des éléments pertinents de cette étude en y incluant des perspectives.

PREMIERE PARTIE :
GENERALITES

1. CELLULE

1.1. Définition

La cellule est l'élément fondamental de tous les êtres vivants, la plus petite particule de matière vivante capable d'être autonome et de se reproduire. En tant qu'unité essentielle de la vie, elle représente toutes les fonctions essentielles des êtres vivants, telles que l'assimilation, la respiration, la croissance, la différenciation et la reproduction. Selon le principe « *Omnis cellula e cellula* », chaque cellule est issue d'une cellule préexistante. En d'autres termes, la cellule est une entité structurale (composée d'une enveloppe cytoplasmique et d'un hyaloplasme comportant ou non des organites). Elle se développe grâce à la mitose qui est un processus où la cellule de base se divise et produit deux cellules filles identiques sous l'influence des facteurs de croissance (Nedjma, 2022). Cette mitose se produit de manière régulière mais est régulée par un cycle cellulaire, programmé génétiquement. Elle est également considérée comme une entité physiologique, car elle effectue des processus vitaux tels que la nutrition, la locomotion et l'excrétion. Celle-ci agit comme une unité d'hérédité qui abrite un système de mémoire chimique moléculaire sous la forme de gène (Nicod, 2012).

1.2. Toxicité cellulaire

La cytotoxicité désigne la capacité d'un agent, qu'il soit chimique, physique ou biologique, à endommager ou détruire des cellules vivantes. Elle constitue un paramètre fondamental dans l'évaluation de la sécurité et de l'efficacité des substances, notamment dans les domaines de la pharmacologie, de la toxicologie et de la recherche biomédicale. La toxicité d'un composé résulte généralement d'une interaction initiale avec des cibles moléculaires spécifiques, provoquant une cascade d'événements biochimiques et cellulaires. Cette interaction peut entraîner un déséquilibre de l'homéostasie cellulaire, altérant des fonctions vitales telles que la respiration mitochondriale, la synthèse protéique ou l'intégrité membranaire. Ces perturbations fonctionnelles peuvent conduire à des lésions cellulaires réversibles ou irréversibles, selon la nature, la concentration et la durée d'exposition à l'agent toxique. Dans les cas les plus sévères, cela peut aboutir à des formes programmées ou non de mort cellulaire, comme l'apoptose, la nécrose ou l'autophagie. La compréhension des mécanismes sous-jacents à la cytotoxicité est donc essentielle pour anticiper les effets indésirables des substances et orienter leur développement thérapeutique (Dahmani, 2022).

1.2.1. Principaux types de morts cellulaires

1.2.1.1. Autophagie

L'autophagie est un processus de survie cellulaire qui se produit lorsque les cellules sont privées de facteurs de croissance ou de nutriments. Il existe trois mécanismes différents de l'autophagie à savoir : la macro-autophagie, la micro-autophagie et l'autophagie médiée par le chaperon. La macro-autophagie est la plus étudiée et la mieux comprise contrairement aux deux autres (Hotchkiss & Strasser, 2009). Cette autophagie particulière consiste à créer des structures à double membrane (phagocytes) qui contiennent des cargaisons à décomposer. Une fois le phagophore terminé, une vésicule (autophagosome) est formée. Celle-ci fusionne avec un lysosome pour former un auto-lysosome. Ensuite, le contenu des lysosomes est décomposé par les enzymes lysosomales ; et leurs composants sont recyclés (Parzych & Klionsky, 2014). La figure 1 décrit les étapes de l'autophagie.

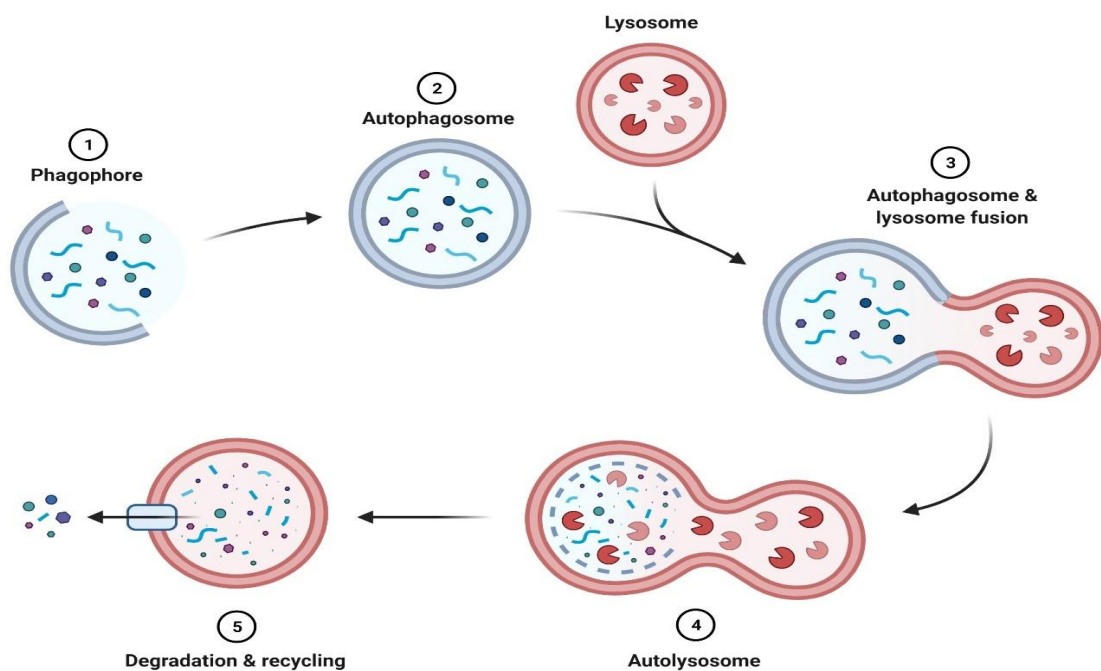


Figure 1 : Différentes étapes de l'autophagie dans les cellules (Parzych & Klionsky, 2014)

1- Allongement du phagophore entourant la cargaison à dégrader ; 2- L'enceinte complète de la cargaison entraîne la formation de l'autophagosome ; 3- Fusion de l'autophagosome et du lysosome ; 4- Formation de l'autolysosome lors de la fusion complète de l'autophagosome et du lysosome ; 5- La cargaison dans l'autolysosome est dégradée pour être réutilisée par la cellule.

1.2.1.2. Nécrose

La nécrose est un processus pathologique caractérisé par la mort des cellules ou des tissus, souvent causée par une blessure grave, une infection ou une privation d'oxygène. Elle se produit occasionnellement (par exemple lors de brûlures ou de fortes compressions). La mort cellulaire nécrotique se caractérise par l'augmentation du volume cellulaire (oncosé, du grec *onkos*, « dilatation »), le gonflement des organites et une accentuation de la perméabilité de la membrane plasmique des cellules mourantes (Gutierrez *et al.*, 2018). Ces phénomènes favorisent la rupture de la membrane plasmique de ces cellules et la libération de leur contenu dans le milieu environnant, ce qui entraîne une réaction inflammatoire intense. Il est possible de mettre en évidence le processus nécrotique en mesurant divers paramètres caractéristiques tels que la perméabilité de la membrane plasmique et le besoin d'ATP (Mayola, 2012). La figure 2 montre les modifications morphologiques cellulaires au cours de la nécrose.

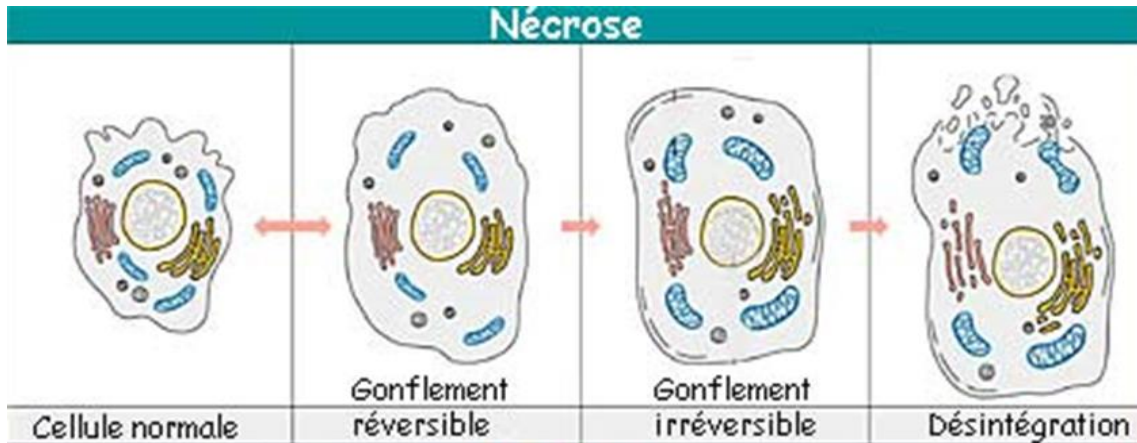


Figure 2 : Modifications morphologiques cellulaires au cours de la nécrose (Carmaux, 2008)

La nécrose débute par un gonflement cellulaire réversible marquée par une perturbation de l'équilibre de la cellule. En l'absence de réparation ce gonflement devient irréversible et est accompagné de modification mitochondriale majeure. Progressivement la cellule subit une rupture de la membrane plasmique provoquant une fuite incontrôlée du contenu intracellulaire dans le milieu extracellulaire. Ce processus se termine par la désintégration complète de la cellule, induisant une réaction inflammatoire dans les tissus environnants.

Une distinction significative avec l'apoptose, en plus des modifications morphologiques, réside dans l'absence d'activation de la cascade des caspases. Ce qui entraîne généralement la mort par nécrose, causée par un traumatisme tel qu'un stress mécanique, chimique ou des températures extrêmes. Lorsqu'elle est activée par des récepteurs de mort tels que R1FNT et Fas/CD95, en présence d'inhibiteurs des caspases, la kinase P-11R contrôle la mort cellulaire nécrotique. Elle agit en inhibant l'activité enzymatique du translocateur de nucléotides d'adénine (TNA), entraînant une accumulation de céramide et déclenchant la

nécrose cellulaire. L'activité biologique de cette protéine peut être inhibée par une petite molécule appartenant à une nouvelle classe d'agents cytoprotecteurs, la nécrostatine-1 (Rauci *et al.*, 2007).

1.2.1.3. Apoptose

L'apoptose est la mort cellulaire programmée essentielle à l'équilibre tissulaire et au développement normal de l'organisme. Elle assure aussi l'élimination des cellules adultes, notamment des cellules dont l'ADN a été altéré afin de préserver l'intégrité du génome. L'apoptose est un phénomène normal de la physiologie des organismes (Elmore, 2007). D'un point de vue morphologique, elle se caractérise par une rétraction progressive de la cellule, avec condensation de la chromatine et du cytoplasme, suivie d'une fragmentation spécifique de l'ADN qui conduit à la formation de fragments cellulaires ou de corps en apoptose. Les corps apoptotiques contiennent des organites intracellulaires qui sont structurellement intacts. L'apoptose peut être comparée à une mitose incomplète, sans réplication, où la cellule se divise en plusieurs fragments, ce qui entraîne une diminution de la viabilité cellulaire. Les corps apoptotiques sont ingérés par les macrophages ou des cellules épithéliales normales de la région. Ces corps apoptotiques qui ont une membrane plasmique intacte empêchent le relargage des composants intracellulaires, ce qui entraîne une réaction inflammatoire. Le processus d'apoptose est donc une implosion cellulaire active et bien maîtrisée. Il est possible que la dérégulation de la mort cellulaire programmée soit responsable de diverses maladies telles que le cancer et les syndromes lymphoprolifératifs (Pistritto *et al.*, 2016). La figure 3 présente les différentes modifications morphologiques cellulaires au cours de l'apoptose.

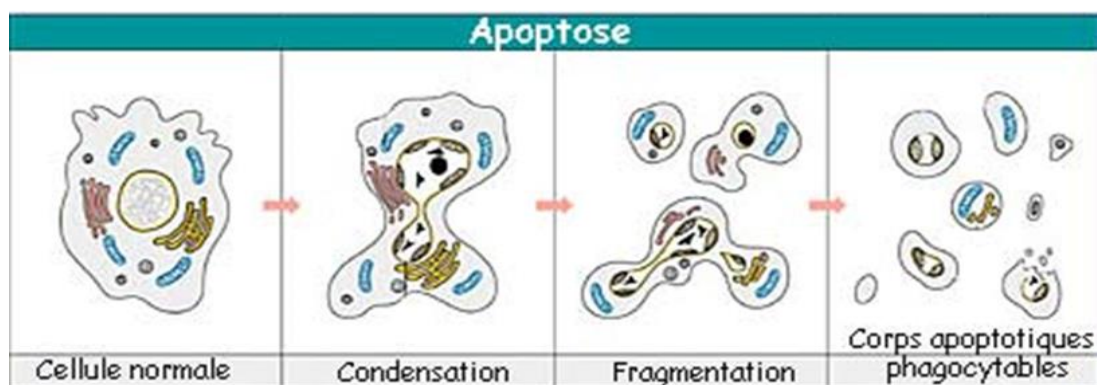


Figure 3 : Modifications morphologiques cellulaires au cours de l'apoptose (Carmaux, 2008)

La cellule normale bourgeonne avec des modifications nucléaires sans altération majeure de la structure mitochondriale. La cellule est ensuite en fragmentation par la formation des corps apoptotiques contenant des fragments de noyau et de cytoplasme tous délimités par une membrane plasmique intacte. Par la suite ses corps apoptotiques sont rapidement phagocytés par des cellules voisines ou macrophages. A l'absence de clairance efficace une nécrose secondaire peut survenir.

1.2.2. Détection de la mort cellulaire par apoptose

La détection de la mort cellulaire par apoptose peut se faire à travers plusieurs techniques. Chacune ciblant des étapes ou marqueurs spécifiques du processus apoptotique. Ces méthodes permettent d'identifier les altérations morphologique, biochimiques et moléculaires caractéristiques de l'apoptose. Parmi les approches les plus couramment utilisées figurent la cytométrie en flux avec le double marquage Annexine V/Iodure de Propidium (IP) qui distingue les cellules vivantes, apoptotiques précoces et tardives puis les cellules nécrosées. En outre les techniques de la fragmentation de l'ADN et du dosage des activité des caspases sont également utilisées.

1.2.2.1. Cytométrie en flux

Au cours de l'apoptose, les cellules exposent, sur le feuillet externe de la membrane plasmique, la phosphatidylsérine (PS) qui normalement est constitutive du feuillet interne de la membrane plasmique. Il s'agit de signaux d'identification « eat me » destinés aux phagocytes, qui ont pour rôle de détruire les cellules apoptotiques. On utilise cette propriété des cellules apoptotiques pour identifier l'apoptose via la microscopie à fluorescence et la cytométrie en flux (Beaulieu, 2023).

La phosphatidylsérine est un phospholipide qui se trouve de manière constante sur le feuillet interne de la membrane plasmique (composés lipidiques complexes). L'annexine V est une protéine qui présente une affinité prononcée pour la phosphatidylsérine. Ainsi, l'association de l'annexine V à un fluorochrome permet de détecter rapidement les cellules apoptotiques par microscopie en fluorescence ou cytométrie en flux (Pezet, 2015).

La figure 4 illustre des différents marquages à l'annexine V et à l'iodure de propidium en fonction du type de mort cellulaire après avoir traité les cellules avec un génotoxique.

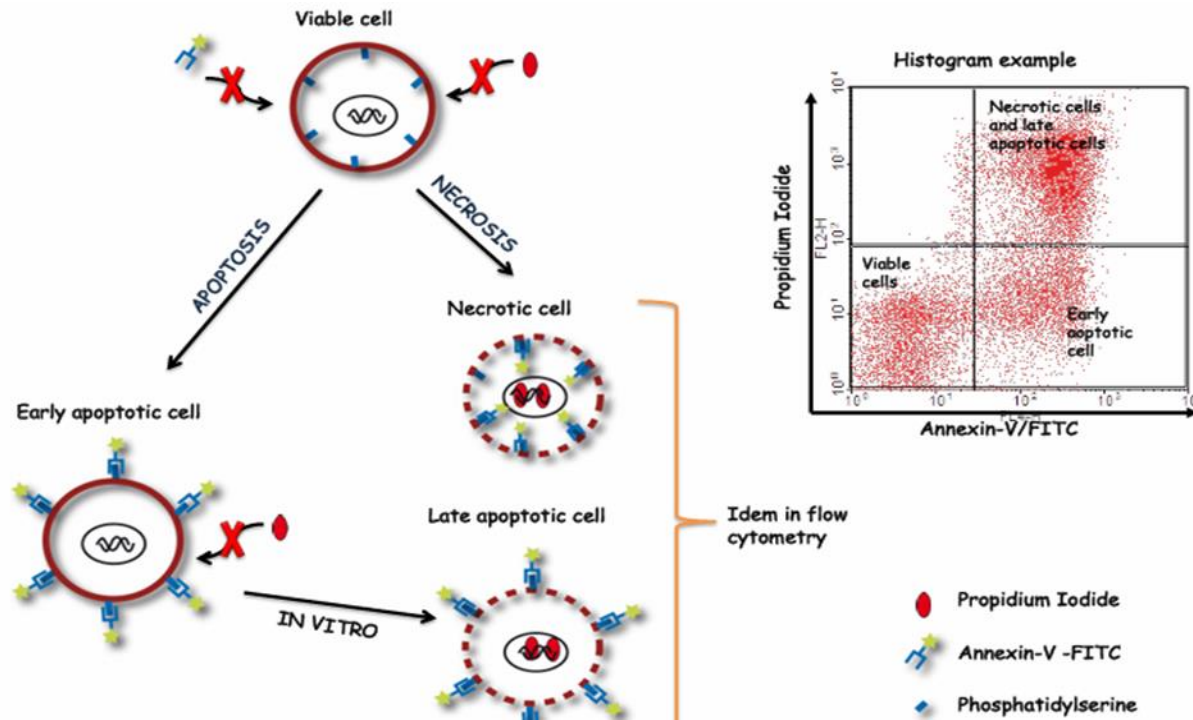


Figure 4 : Différents marquages à l'annexine V et à l'iodure de propidium en fonction du type de mort cellulaire (Fournel, 2024)

1-les cellules n'exprimeraient pas les marqueurs, ce qui sous-entend qu'il n'y a eu aucun signe d'apoptose ou de nécrose. Par conséquent, ces cellules n'ont subi aucun dommage, les cellules sont vivantes (Annexin V-/IP-). 2- Lorsque l'Annexin-V commence à montrer une forte affinité pour la phosphatidylsérine (PS), l'asymétrie de la membrane est donc perdue, la PS se transloque vers la feuille externe, mais les cellules conservent encore leur intégrité membranaire, les cellules sont alors marquées positivement à l'annexine-v. Par contre, l'iodure de propidium n'a pas encore pénétré la membrane cellulaire, les cellules ne sont pas marquées positivement à IP (Annexin V+/PI-) : on dit qu'elles sont en apoptose précoce. 3- L'Annexine-V reste toujours fixée sur la PS, tandis que l'iodure de propidium (IP), quant à lui, réussit à pénétrer dans le noyau à la suite des dommages membranaires, car celui-ci devient plus perméable. Les cellules se trouvent à un stade avancé d'apoptose : on dit qu'elles sont doublement marquées positivement (Annexine V+/PI+). 4- lorsque ces cellules perdent leur intégrité membranaire sans passer par un stade apoptotique typique, elles sont uniquement marquées positivement à IP (Annexin V-/PI+), indiquant ainsi une nécrose.

1.2.2.2. Détection de la fragmentation de l'ADN

La fragmentation de l'ADN constitue une étape tardive de l'apoptose. Au cours de ce processus, l'ADN est spécifiquement hydrolysé en fragments dont la taille correspond à des multiples de 180 à 200 paires de bases, reflétant l'espacement entre les nucléosomes successifs. Cette fragmentation est orchestrée par la DNase activée par les caspases (DAC), qui, dans les cellules saines, est maintenue sous forme inactive en association avec une sous-unité régulatrice nommée IDAC (Inhibiteur de la DNase activée par les caspases). Lors de l'apoptose, la caspase-3 activée clive l'IDAC, libérant ainsi la DAC qui migre vers le noyau et

procède à une fragmentation régulière de l'ADN internucléosomal (en multiples de 180 à 200 paires de bases) (Garlan, 2019).

Au laboratoire, la détection de l'apoptose par la fragmentation de l'ADN se fait comme suit : Les fragments, dont les tailles sont des multiples de 180-200 paires de bases, peuvent être séparés selon leur taille par électrophorèse sur un gel d'agarose après coloration au bromure d'éthidium de l'ADN clivée sur un gel d'agarose après coloration au bromure d'éthidium de l'ADN clivé. Ces fragments apparaissent sous forme d'un profil caractéristique dit « en barreau d'échelle d'ADN » traduisant la fragmentation de l'ADN (Garlan, 2019).

1.2.2.3. Activation des caspases 3/7, 8 ou 9

Les caspases, des protéases à cystéine, catalysent l'hydrolyse des liaisons peptidiques au niveau des résidus d'aspartate L'activité des caspases 3/7, 8 ou 9 peut être mesurée à l'aide d'un test basé sur une séquence inhibitrice spécifique associée à une sonde fluorescente. La fluorescence obtenue reflète directement la quantité de caspases actives dans les cellules vivantes. Par ailleurs, les cellules non viables sont repérées grâce à l'iodure de propidium (IP). Ce test est connu sous le nom de « Dosage de l'inhibiteur marqué au fluorochrome des caspases (Darzynkiewicz *et al.*, 2011).

Lors de ce test d'apoptose (FLICA), l'activité des caspases est évaluée à l'aide d'une séquence inhibitrice spécifique associée à une sonde fluorescente. Cet inhibiteur, non cytotoxique et perméable aux cellules, traverse la membrane plasmique intacte et se lie de manière covalente au résidu cystéine réactif de la grande sous-unité de l'hétérodimère actif des caspases (Darzynkiewicz *et al.*, 2011).

1.2.3. Evaluation de l'activité cytotoxique

L'évaluation de l'activité cytotoxique se fait en suivant les variations de l'indice mitotique (IM) des cellules méristématiques, ce qui est crucial pour le suivi régulier de la santé cellulaire et du taux de prolifération. Il s'agit d'un test colorimétrique largement accepté comme une méthode fiable pour évaluer la viabilité cellulaire, incluant des tests d'activité cellulaire et des tests d'identification morphologique. Le test de cytotoxicité implique le calcul du pourcentage de cellules vivantes, représenté par l'indice mitotique (IM), après avoir exposé une culture cellulaire à une large gamme de concentrations de génotoxiques (Souala *et al.*, 2021). Quelques méthodes couramment utilisées sont les suivants :

- test MTT /MTS : Ce test mesure la réduction du sel de tétrazolium par les enzymes mitochondriales des cellules vivantes, produisant des cristaux de formazan. L'absorbance est ensuite mesurée pour quantifier la viabilité cellulaire ;
- test WST-1 : Similaire au test MTT, mais le formazan produit est soluble, ce qui simplifie l'analyse. L'absorbance est mesurée pour évaluer la viabilité cellulaire ;
- test Cell Titer Glo Luminescent : Ce test utilise la luciférase pour mesurer l'ATP intracellulaire, un indicateur de l'activité métabolique des cellules ;
- et analyse par IncuCyte : Cette méthode permet de suivre la prolifération cellulaire en temps réel grâce à des images en conditions de culture contrôlées.

Ces techniques sont adaptées en fonction du type de cellules et des objectifs de l'étude (Pujalté, 2011).

1.2.4. Cibles biologiques de l'action des agents cytotoxiques

Les cibles biologiques de l'action des agents cytotoxiques jouent un rôle crucial dans l'efficacité et les conséquences des traitements destinés à détruire les cellules nuisibles, comme celles des cancers. Les cibles biologiques possibles sont :

- les membranes cellulaires, susceptibles de subir des altérations telles que la peroxydation lipidique ou la perte de la perméabilité sélective de la membrane plasmique.
- les mitochondries, où les agents toxiques peuvent entraver la phosphorylation oxydative, la bêta-oxydation des acides gras et la respiration cellulaire, provoquant ainsi une diminution des concentrations d'ATP.
- les lysosomes, dont les capacités de dégradation cellulaire peuvent être inhibées.
- et le patrimoine génétique, qui peut être endommagé par des agents génotoxiques.

Ces cibles mettent en lumière la diversité des mécanismes d'action des agents cytotoxiques, tout en soulignant la nécessité d'une approche contrôlée pour limiter les dommages collatéraux aux cellules saines (Dahmani, 2022).

2. CANCER

2.1. Définition et physiopathologie du cancer

2.1.1. Définition

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), le cancer est un terme commun qui désigne un large éventail de maladies qui peuvent affecter n'importe quelle partie de l'organisme. Une des particularités de cette pathologie est la prolifération rapide de cellules anormales qui peuvent se propager dans d'autres organes, créant ce que l'on appelle des

métastases (OMS, 2024a). On peut aussi le décrire comme une maladie où les cellules anormales prolifèrent de manière massive et anarchique, avec la capacité d'envahir, de détruire les tissus sains, de se propager dans l'organisme et de former des tumeurs malignes (Bendimerad & Tachema, 2018).

2.1.2. Physiopathologie du cancer

L'ensemble des cellules des tissus non cancéreux collabore étroitement avec toutes les cellules de leur milieu. Le résultat de cette relation est l'échange de signaux et de substances, ce qui favorise l'alignement optimal des tissus et garantit la fonction particulière de chacun. En détournant les mécanismes de sécurité qui régulent le fonctionnement normal des cellules au sein d'un même tissu, les cellules cancéreuses se libèrent de ces coopérations et acquièrent ainsi une immortalité. Il ne s'agit pas d'une mutation unique qui donne ce caractère immortel, mais d'une succession d'événements mutagènes qui entraînent progressivement des traits cancéreux dans une ou plusieurs cellules. Il s'agit d'un processus à long terme qui peut durer plusieurs dizaines d'années, à la fin duquel une cellule d'un tissu non cancéreux se transforme en tumeur (Bana, 2013). La figure 5 présente la transformation d'une cellule saine en une tumeur maligne suite à des modifications génétiques.

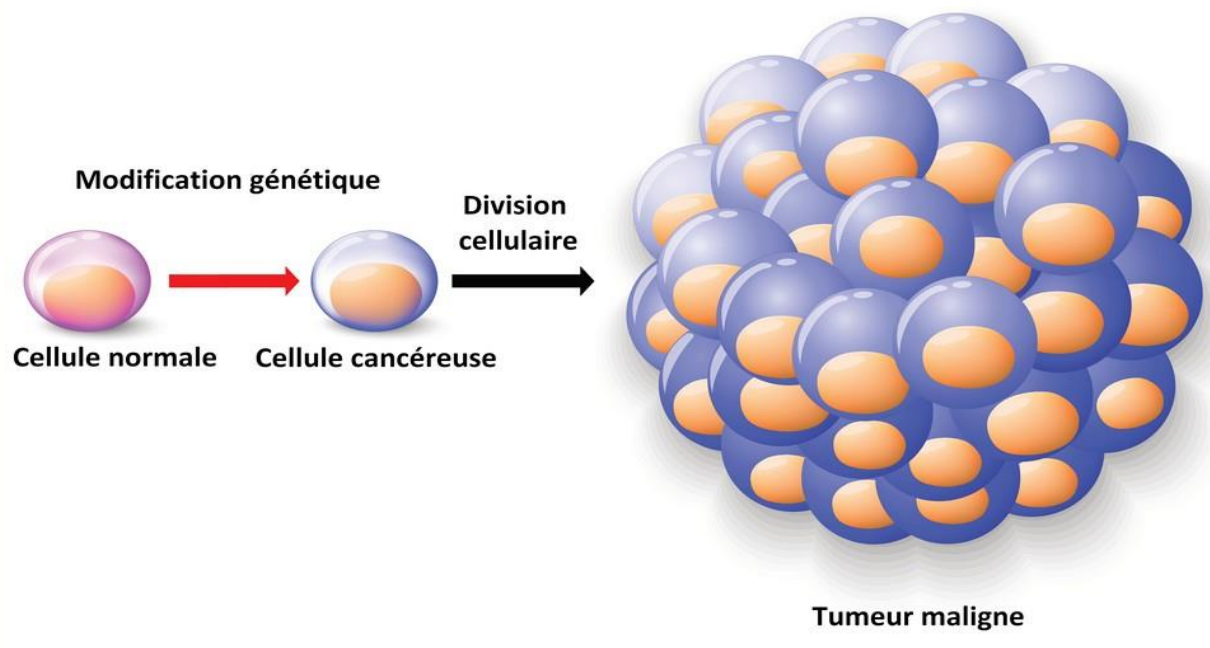


Figure 5 : Transformation d'une cellule saine en une tumeur maligne

(Source : <https://www.google.com>)

La transformation d'une cellule normale en une cellule cancéreuse a lieu suite à une modification génétique. Cette cellule anormale échappe aux mécanismes de régulations et subit une prolifération incontrôlée donnant lieu à la formation d'une tumeur maligne. Contrairement aux cellules normales, les cellules cancéreuses se divisent sans limite. Ce processus est à la base du développement des cancers.

La cancérogenèse se fait généralement en trois phases qui sont : la phase d'initiation, de promotion et de progression.

- **Phase d'initiation**

La phase d'initiation tumorale est causée par une ou plusieurs altérations irréversibles de l'ADN en réponse par exemple à un agent mutagène conférant à la cellule la capacité de proliférer de manière autonome. La cellule initiée, bien que morphologiquement identique aux cellules normales, possède les altérations génotypiques nécessaires à sa transformation (Lemaire *et al.*, 2020). Cette étape implique l'intrusion de l'ADN par un cancérigène génotoxique appelé « initiateur » et cette étape est indéfinie (Lemaire *et al.*, 2020).

- **Phase de promotion**

Il s'agit d'une méthode épigénétique (non génotoxique) qui est déclenchée par un promoteur qui stimule la sélection des cellules initiées. La cellule initiée va se multiplier de manière autonome, créant ainsi un clone de cellules porteuses des mêmes mutations, ce qui entraînera une lésion précancéreuse. Sous l'action de promoteurs tumoraux (cytokines, facteurs de croissance, hormones, etc.), l'expansion clonale se développe rapidement et les communications intercellulaires sont altérées (Carmeliet & Jain, 2000).

- **Phase de progression**

Devenue autonome par rapport aux signaux de contrôle de croissance, la cellule initiée va envahir les tissus environnants et se développer pour former une tumeur. Les cellules tumorales produisent des signaux angiogéniques qui permettent aux cellules composantes des vaisseaux sanguins de créer des ramifications près de la tumeur afin de l'irriguer et de favoriser son développement (Carmeliet & Jain, 2000). Une protéolyse du tissu local sain va permettre une migration des cellules tumorales et l'envahissement local. A ce stade, la tumeur devient détectable. La figure 6 présente les différentes phases de la cancérogenèse.

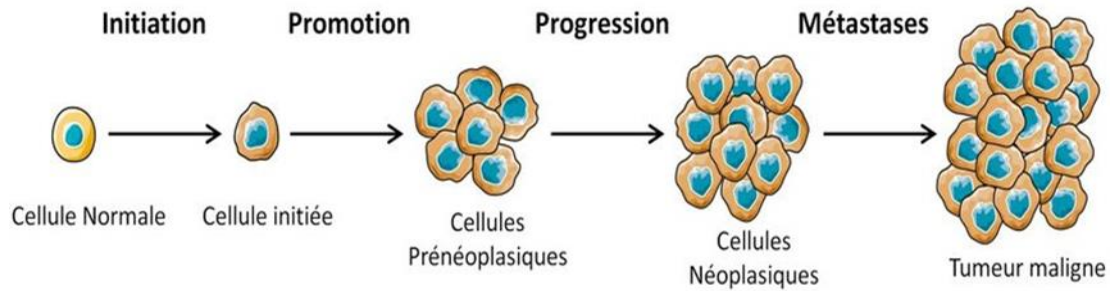


Figure 6 : Phases de la cancérogenèse (Source : <https://www.google.com>)

La cancérogenèse se déroule en 3 phases principales. La phase d'initiation est marquée par une mutation génétique irréversible qui survient dans une cellule suite à une exposition à un agent cancérogène. La phase de promotion est marquée par la prolifération des cellules mutées sous l'effet de facteurs promoteurs sans nouvelle mutation. La phase de progression inclut la phase d'invasion locale puis de dissémination.

Les cellules développent alors des caractéristiques d'invasion, d'anaplasie et augmentent leur taux de croissance, évoluant ainsi vers des niveaux de malignité plus élevés (Figure 7). La rupture protéolytique de la membrane basale qui sous-tend les cellules épithéliales et les cellules endothéliales permet la migration d'une ou plusieurs cellules cancéreuses dans la circulation sanguine ou lymphatique (Bana, 2013).

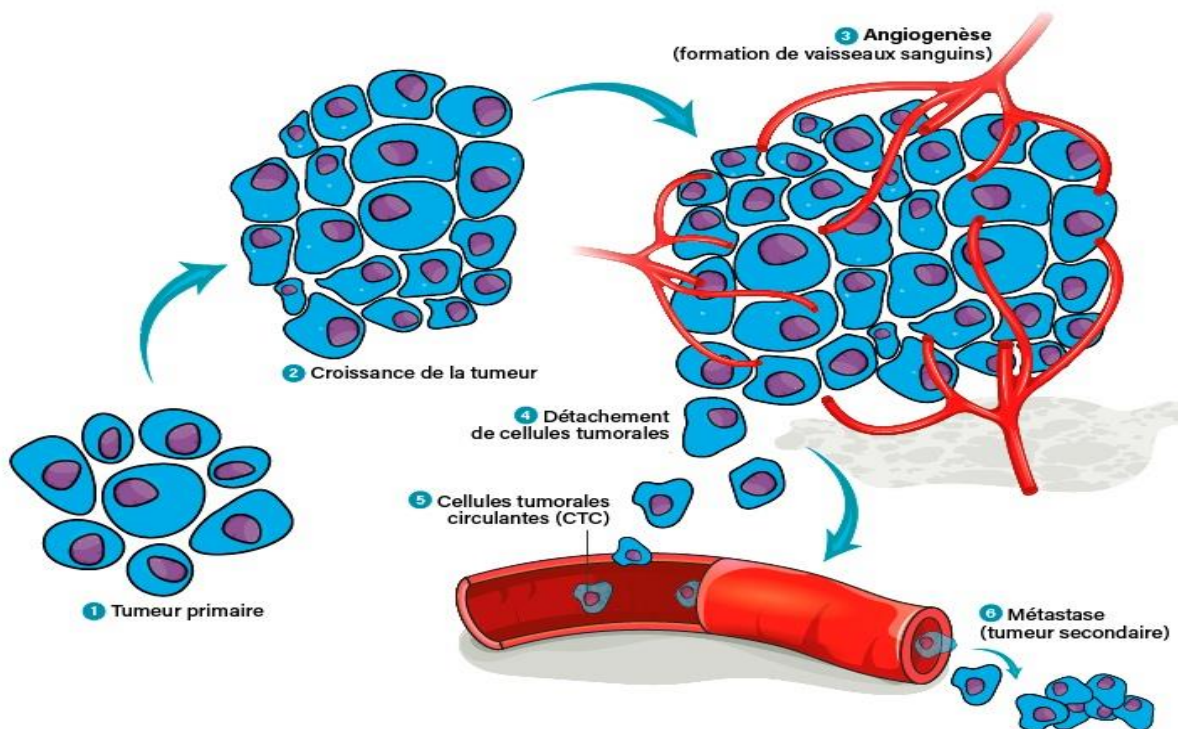


Figure 7 : Progression d'une tumeur primitive vers la cascade métastatique (Pantel & Alix- Panabières, 2010)

1- Tumeur primaire ; 2- Croissance de la tumeur ; 3- Angiogenèse ; 4- Détachement de cellules tumorales ; 5- Cellules tumorales circulantes ; 6- Métastases.

2.1.3. Signalisation et base moléculaire de la carcinogenèse

Divers mécanismes peuvent favoriser l'expression ou l'activation des gènes impliqués dans le développement tumoral. Ce sont :

- mutations génétiques : Des modifications telles que délétions, amplifications, translocations et réarrangements peuvent survenir. Les proto-oncogènes nécessitent une seule altération pour être activés, tandis que l'inactivation des gènes suppresseurs de tumeurs et de surveillance du génome exige deux événements.
- instabilité chromosomique (INC) : Ce phénomène se manifeste par des variations dans le nombre ou la structure des chromosomes, contribuant à l'aneuploïdie et à l'hétérogénéité des cellules tumorales. Il est fréquemment associé à un pronostic défavorable pour certains types de cancer, notamment bronchiques, mammaires et colorectaux.
- mécanismes épigénétiques : La transcription des gènes peut être modulée par des modifications de la méthylation sans affecter la séquence d'ADN, influençant ainsi leur expression.
- et les mécanismes héréditaires : Des facteurs génétiques prédisposent certaines familles aux cancers, avec une transmission pouvant être dominante ou récessive (Tachour, 2005).

Les Principales voies de signalisation impliquée dans le cancer sont les :

- voies des facteurs de croissance : Les cellules cancéreuses activent de manière excessive des récepteurs aux facteurs de croissance (comme EGFR et HER2), stimulant ainsi leur prolifération incontrôlée ;
- voies des MAP kinases (MAPK) : Cette cascade de signalisation favorise la division cellulaire et peut être dérégulée dans de nombreux cancers ;
- voies PI3K/AKT/mTOR : Cruciale pour la survie cellulaire, cette voie est souvent hyperactivée dans les tumeurs, leur permettant de résister à l'apoptose (mort cellulaire programmée) ;
- voies Wnt/ β -caténine : Impliquée dans la régulation de la croissance cellulaire et la différenciation, son activation anormale est associée à plusieurs types de cancers ;
- voies Notch : Joue un rôle dans la communication intercellulaire et peut être impliquée dans la progression tumorale ;
- voies NF- κ B : Favorise l'inflammation et la survie des cellules cancéreuses, contribuant à leur résistance aux traitements ;
- et voies des intégrines : Permet aux cellules cancéreuses de migrer et d'envahir d'autres tissus, facilitant la formation de métastases (Robert, 2010).

2.2. Principaux facteurs de risque

De nombreux facteurs peuvent contribuer à la transformation d'une cellule normale en cellule cancéreuse, notamment le mode de vie, l'environnement et le patrimoine génétique. Les cancers sont des pathologies multifactorielles. L'étude des mécanismes biologiques à l'origine des cancers (ou cancérogenèse) a permis d'identifier plusieurs éléments qui augmentent le risque de développer un cancer. Ces facteurs de risque se divisent en deux catégories principales :

- les facteurs évitables, qui incluent les comportements ou habitudes de vie tels que le tabagisme, la consommation d'alcool, une alimentation déséquilibrée et une exposition excessive aux rayons UV. Par ailleurs, certaines infections virales (comme le VIH, l'EBV, les hépatites B et C, et le HPV) ou bactériennes (notamment *Helicobacter pylori*) sont également des facteurs de risque.
- les facteurs non évitables, tels que l'âge, au cours duquel l'accumulation de lésions cellulaires peut engendrer des anomalies et conduire à la formation de tumeurs. De plus, le patrimoine génétique joue un rôle clé, car des mutations héréditaires ou constitutionnelles peuvent accroître la probabilité de développer certains types de cancers (Fondation ARC, 2022).

2.3. Epidémiologie du cancer

Dans les pays développés, le cancer constitue un véritable défi de santé publique, principalement en raison du vieillissement de la population. Dans les pays en développement, cette maladie risque également de devenir une problématique majeure (Robert *et al.*, 2000). À l'échelle mondiale, le cancer du poumon est le plus fréquent, avec 2,5 millions de nouveaux cas représentant 12,4 % de l'ensemble des cancers. Il reste la principale cause de décès avec 1,8 million de décès (18,7 % des cas de cancer). L'augmentation des cas de cancer du poumon peut être attribuée à la persistance du tabagisme. Ensuite, vient le cancer colorectal (900 000 décès, soit 9,3 %), le cancer du foie (760 000 décès, soit 7,8 %), le cancer du sein (670 000 décès, soit 6,9 %) et le cancer de l'estomac (660 000 décès, soit 6,8 %). Chez les femmes, le cancer du sein occupe la deuxième position (2,3 millions de cas, soit 11,6 %). Chez les hommes, les cancers les plus fréquents sont le cancer du poumon, de la prostate et du côlon. En revanche, le cancer du col de l'utérus, occupe la huitième place des cancers les plus répandus dans le monde ; il représente la neuvième cause de mortalité avec 661 044 nouveaux cas et 348 186 décès, et il demeure l'un des cancers les plus courants chez les femmes en Afrique subsaharienne (OMS, 2024a).

En Afrique de l'Ouest, les cancers les plus courants sont ceux du sein, du col de l'utérus, de la prostate, du foie et du côlon. En 2022, la région africaine a enregistré environ 882 882 nouveaux cas de cancer, entraînant 573 653 décès. Près de 50 % de ces cas étaient dus aux cancers précités (OMS, 2024b). Toujours en 2022, l'Afrique a enregistré plus de 146 000 nouveaux cas de cancer du sein, avec un taux de mortalité atteignant 50 % (OMS, 2024c).

La Côte d'Ivoire a enregistré 21 352 nouveaux cas de cancer, avec une incidence standardisée de 137 pour 100 000 habitants. Les cancers les plus fréquents sont ceux du sein (19,1 % des cas), de la prostate (15,9 %), du col de l'utérus (11,9 %), du foie (6,6 %) et du côlon (5 %) (PNLCa, 2022). Le cancer est particulièrement préoccupant, entraînant 54 % de décès parmi les cas recensés (Globocan, 2022). Comme dans de nombreux autres pays en développement, l'incidence et les mortalités associées au cancer sont en constante augmentation (OMS, 2024d).

2.4. Etiologie et diagnostic de quelques cancers

2.4.1. Cancer de la prostate

Le cancer de la prostate est le cancer le plus courant chez les hommes ; il est le plus souvent un adénocarcinome. Il se développe aux dépens de l'épithélium prostatique, envahissant d'abord la prostate puis la capsule prostatique avant de disséminer par voie lymphatique et hémotogène (Belabed & Bouamama, 2015). Les cellules cancéreuses peuvent rester inactives pendant plusieurs années sans donner de symptômes ou avec peu de symptômes (Marra *et al.*, 2019).

En revanche, lorsque ces cellules se multiplient, les premiers signes se manifestent. Il peut être complètement inaudible ou causer des problèmes urinaires tels que des envies plus fréquentes et des difficultés à uriner, des problèmes d'érection ou une sensation de lourdeur dans le bas-ventre. Ces cancers sont ceux qui se trouvent au stade I ou II de leur évolution, voire certains cancers de stade III qui sont encore limités et peu agressifs. Il est possible que le cancer de la prostate ne cause aucun signe ni symptôme aux premiers stades car il se développe lentement (Matillon *et al.*, 2012). Ce cancer est qualifié de cancer « à risque intermédiaire » lorsqu'il est localement avancé à un stade III ou à un stade IV sans métastase. Le dernier stade de l'évolution du cancer de la prostate est le stade IV. À ce stade, le cancer a envahi les ganglions lymphatiques et/ou provoqué des métastases, c'est-à-dire des cancers secondaires susceptibles de toucher n'importe quel organe du corps. En raison de sa progression lente, le cancer de la prostate atteint rarement le stade métastatique, survenant dans moins de 20 % des cas (Cui *et al.*, 2024). La figure 8 illustre les différents stades de cancer de la prostate.

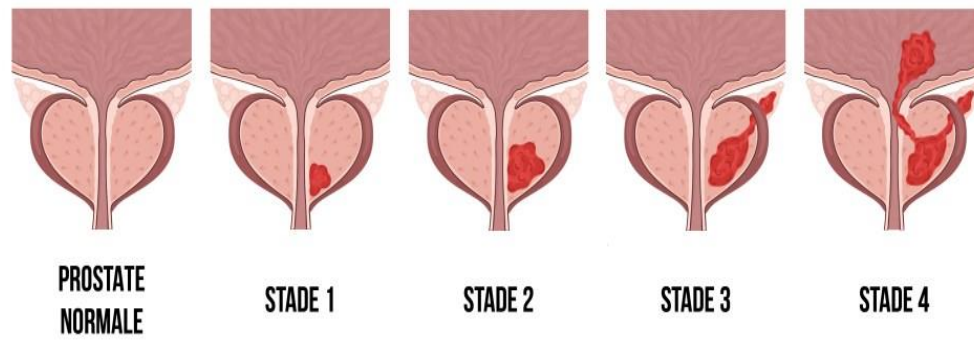


Figure 8 : Différents stades de cancer de la prostate (INCa, 2023)

Stade 1 : tumeur très petite non palpable lors de l'examen clinique ; stade 2 : tumeur palpable à l'examen rectal mais limitée à la prostate sans extension au-delà de la capsule prostatique ; stade 3 : tumeur qui s'étend au-delà de la capsule prostatique pouvant envahir les vésicules séminales ; stade 4 : tumeur envahissant les structures adjacentes comme la vessie, le rectum, les muscles pelviens.

La majorité des cancers de la prostate sont des adénocarcinomes caractérisés par une formation glandulaire et l'expression de marqueurs de différenciation luminale, le récepteur aux androgènes (AR) et l'antigène prostatique spécifique (PSA).

La plupart des adénocarcinomes sont indolents et dépendants des androgènes (Tai *et al.*, 2011). Il dépend à 80 % des hormones (c'est-à-dire qu'il est hormono-sensible) ; et il nécessite des androgènes tels que la testostérone pour sa croissance. Cependant, à un moment donné, il peut devenir indépendant des hormones (hormono-résistant). Pendant cette transition, quatre paramètres entrent en jeu. Il s'agit de :

- l'altération de l'axe androgénique par la dérégulation de l'AR (récepteur des androgènes) via des anomalies de transduction du signal (comme les interleukines et les radicaux libres)
- la modification des activateurs, co-activateurs et régulateurs de l'AR. ;
- les mutations de l'AR induites par les traitements hormonaux (qui augmentent sa sensibilité à d'autres ligands en plus de la testostérone et de la DHT)
- et des modifications génétiques de l'AR telles que les amplifications et les hyperméthylations (Cornu & Cussenot, 2011).

L'âge avancé, les antécédents familiaux, le poids, l'obésité et les facteurs hormonaux sont des facteurs de risque liés à ce genre de cancer (Belabed & Bouamama, 2015 ; Cui *et al.*, 2024). Ce type de cancer est rare avant 40 ans et l'incidence de mortalité augmente d'une manière logarithmique avec l'âge, le risque pour un homme de développer un cancer de la prostate avant 75 ans augmente avec la cohorte de naissance (Belabed & Bouamama, 2015).

Les tests diagnostiques comprennent généralement une évaluation du taux de PSA, une palpation rectale et une biopsie de la prostate. Dans le cadre d'un bilan d'extension, des examens d'imagerie médicale (scanner, IRM, scintigraphie osseuse, etc.) sont souvent réalisés en complément afin d'évaluer l'étendue des atteintes cancéreuses et de rechercher d'éventuelles métastases.

Le toucher rectal implique l'insertion d'un doigt ouvert dans le rectum du patient afin de ressentir les contours de la prostate. Cet examen peut permettre de repérer une possible augmentation du volume ou la rigidification de la glande. Elle est traitée par l'ablation de la prostate (prostatectomie) avec parfois une ablation des ganglions lymphatiques. Il est possible de prescrire la radiothérapie en complément de la chirurgie pour diminuer les risques de récurrence (WCRF, 2018).

2.4.2. Cancer du côlon ou cancer colorectal

Le cancer colorectal est une affection des cellules qui enveloppent l'intérieur du côlon ou du rectum. Il se forme progressivement dans le côlon ou le rectum à partir des petites lésions connues sous le nom de polypes. Pendant leur croissance, il est possible que certains polypes se transforment en cancer. Dans un premier temps, ce cancer évolue sans aucun symptôme ou signe persistant (INCa, 2008). On dénombre 5 stades à savoir le stade 0 où les cellules cancéreuses sont présentes dans uniquement dans la muqueuse du côlon ou du rectum. Au stade I, la tumeur infiltre la couche musculieuse, le stade II, la tumeur infiltre maintenant les différentes couches de l'intestin. Au niveau des deux derniers, ces cellules tumorales se propagent dans les ganglions lymphatiques proches du colon ou rectum (stade III) et on assiste ainsi à une métastase où les cellules envahissent d'autres organes au stade IV (INCa, 2008). La figure 9 présente les différents stades d'un cancer du côlon.

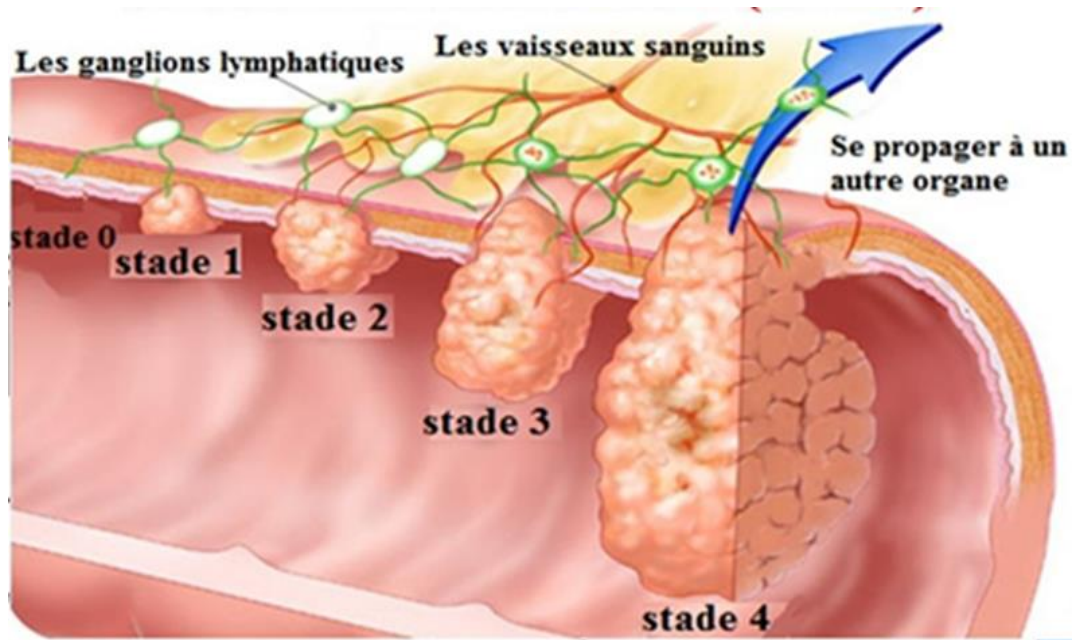


Figure 9 : Différents stades de cancer du côlon (Source : <https://www.google.com>)

Stade 0 : tumeur limitée à la couche la plus interne du colon sans invasion plus profonde ; stade 1 : la tumeur envahit la musculaire propre mais sans atteinte des ganglions lymphatiques, ni métastase ; stade 2 : la tumeur traverse la paroi du colon mais sans envahir les ganglions lymphatiques ; stade 3 : la tumeur envahit les ganglions lymphatiques régionaux sans métastase à distance ; stade 4 : présence de métastase à distance souvent au foie, au poumon ou dans d'autres organes.

Des facteurs de risque majeurs comprennent le surpoids, une alimentation riche en matières grasses animales et pauvre en fibres, la consommation d'alcool et de tabac, une inactivité physique excessive, une consommation excessive de viande rouge, des facteurs génétiques et l'âge. Il est possible que le diabète de type 2 et le manque d'exposition au soleil aient également un effet.

Il est important de mentionner le diagnostic de cancer colorectal lorsqu'on observe des rectorragies, des problèmes de transit, des douleurs abdominales, une anémie ferriprive d'origine inconnue, surtout chez les patients âgés de plus de 50 ans, nausées et vomissements, une constipation qui s'aggrave. En cas de suspicion après le dépistage ou présence de symptômes, une coloscopie est effectuée. Elle permet de visualiser les lésions et d'effectuer des biopsies. L'analyse anatomopathologique de ces prélèvements confirme le diagnostic (INCa, 2008).

2.4.3. Cancer du sein

Les seins ont un impact significatif sur la féminité et l'image que la femme se fait de son corps. Le cancer du sein est une tumeur maligne qui se développe au niveau du

sein (Kabran *et al.*, 2011). Il est localisé dans le sein, précisément dans les canaux galactophores et dans les lobules (Lorinet, 2014). Les canaux galactophores sont des canaux qui transportent le lait jusqu'au mamelon, au centre d'une zone pigmentée (l'aréole). Les lobes quant à eux sont composés de lobules capables de produire du lait pendant la période d'allaitement. La figure 10 montre la localisation d'une tumeur maligne dans le sein d'une femme atteinte du cancer.

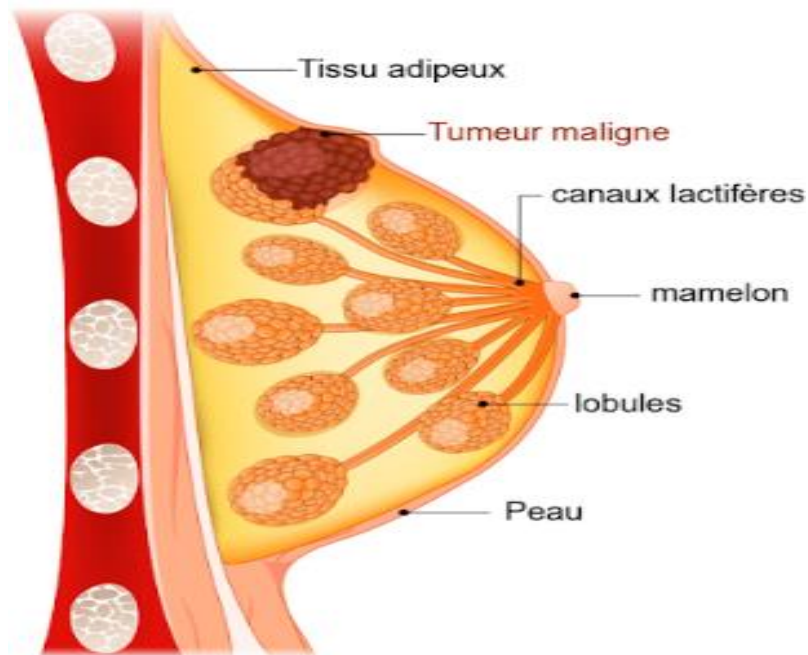


Figure 10 : Localisation d'une tumeur maligne dans le sein (Source : <https://www.google.com>)

Une tumeur maligne peut se localiser au niveau du cadran supéro- externe, cadran supéro- interne, cadran inféro--externe, cadran inféro-interne derrière le mamelon (retro aréolaire) et dans plusieurs foyers (multifocale ou multicentrique).

Le cancer du sein touche autant les femmes que les hommes bien que le cancer du sein chez les hommes soit rare (1 %). Le cancer du sein est dans la plupart du temps asymptomatique, Il est donc important de consulter rapidement si certains signes sont observés :

- le changement de taille ou de forme d'un sein, grosseur/boule dans un sein ;
- l'apparition de ganglion dur au niveau de l'aisselle ;
- l'écoulement au niveau du mamelon, notamment s'il contient du sang ;
- le changement de la couleur ou de la texture de la peau du sein ou de l'aréole ;
- et la rétraction irréversible du mamelon d'apparition récente (Lorinet, 2014).

Le premier facteur de risque est l'âge car environ 10 % des cas de cancer du sein se manifestent chez les femmes âgées de moins de 35 ans (0 - 35 ans) et près de 20 % avant 50 ans (0 - 50)

ans). Ensuite, viennent les antécédents familiaux et l'exposition à des radiologies médicales (Lorinet, 2014).

Son diagnostic s'articule autour d'un examen clinique des seins (inspection visuelle et la palpation des seins), permettant de préciser la nature d'une éventuelle grosseur : taille, consistance, mobilité, etc et d'une mammographie qui permet d'apporter des informations complémentaires ou de révéler la présence de tumeurs trop petites pour être détectées à la palpation (Lorinet, 2014).

2.4.4. Cancer du sang ou leucémie

Les hémopathies malignes, également connues sous le nom de cancers du sang, ne se développent pas, comme les autres cancers, dans un organe. Ils se caractérisent par une prolifération incontrôlée de la moelle osseuse et des cellules sanguines. Ces anomalies peuvent se produire à diverses étapes de maturation des cellules sanguines (globules rouges, blancs et plaquettes), ce qui explique la grande variété des cancers du sang. Elles peuvent être aiguës ou chroniques. Il existe :

- la leucémie aiguë monoblastique qui est une prolifération pure de monoblastes. Ceux-ci sont les blastes les plus volumineux de toutes les leucémies aiguës.
- la leucémie aiguë myélo-monocytaire qui est une leucémie touchant la cellule souche commune des deux lignées granuleuses (polynucléaires et monocytes). Elle se traduit donc par une prolifération mixte de myéloblastes et de monocytes, plus ou moins dystrophiques, que l'on retrouve en grande quantité dans le sang. La prolifération monocytaire est alors souvent d'aspect morphologique plus jeune (monoblastes) dans la moelle que dans le sang (Boutebia *et al.*, 2015).
- et la leucémie monocyttaire chronique qui est une forme particulière de myélodysplasie. Il s'agit de la leucémie myélo-monocytaire chronique. Dans cette maladie, se retrouvent toutes les particularités des myélodysplasies : anémie centrale avec anomalies morphologiques des globules rouges, polynucléaires monolobés et dégranulés, myélémie modérée avec quelques blastes, mais le fait marquant est la forte augmentation des monocytes ayant un aspect morphologique normal ou peu dystrophique, du moins dans le sang (Selma & Dalia, 2021). La figure 11 présente les différents types de leucémie.

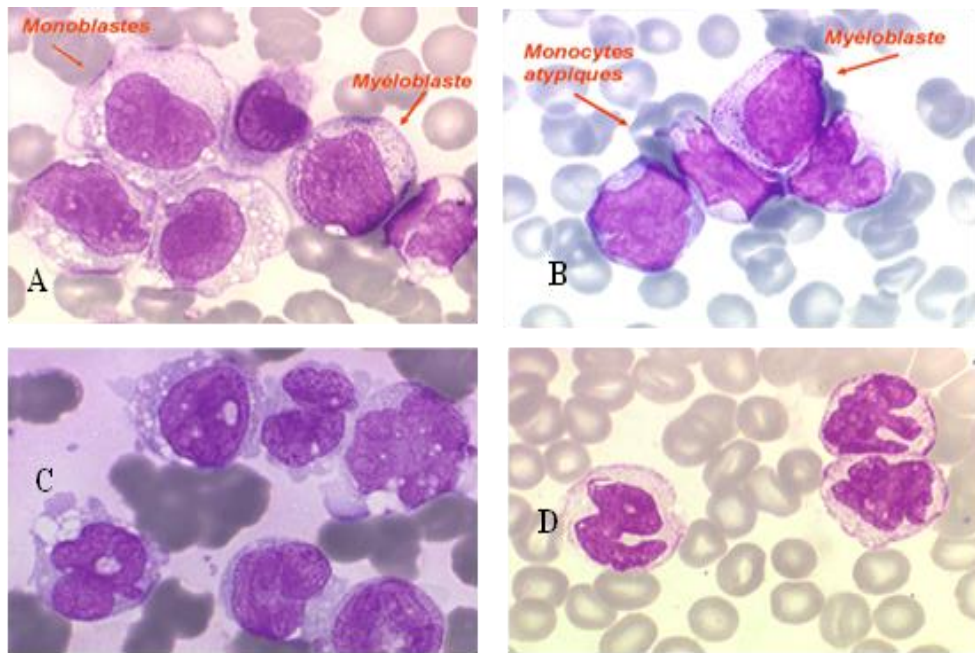


Figure 11 : Différents types de leucémies (Selma & Dalia, 2021)

A : Leucémie aiguë monoblastique ; *B* : Leucémie aiguë myélo-monocytaire (sang) ;
C : Leucémie aiguë myélo-monocytaire (moelle) ; *D* : Leucémie myélo-monocytaire chronique (sang).

La leucémie peut être causée par l'exposition à des substances chimiques telles que le benzène, une chimiothérapie précédente ou des radiations ionisantes. Les symptômes de ces cancers incluent la pâleur, une fatigue intense, un essoufflement, une accélération du rythme cardiaque (leucémie), la fièvre, les démangeaisons, les sueurs nocturnes, la fatigue, la toux persistante ou la présence de ganglions volumineux (lymphomes) (Fuchs, 2018).

Le diagnostic se fait par la réalisation d'un myélogramme ou une biopsie de la moelle osseuse. Il s'agit d'examens microscopiques des cellules de moelle osseuse provenant d'un échantillon de l'os de la hanche ou du sternum. Un examen à partir de tissus prélevés dans les ganglions peut également être réalisé. Dans la plupart des cas, des examens biologiques portant sur l'ADN des cellules anormales sont faits (Thierry & Tanos, 2018).

2.5. Stratégies de traitements du cancer

Le traitement du cancer peut être soit préventif, soit en éliminant la tumeur primaire et les résidus métastatiques, soit en prolongeant et en améliorant la qualité de vie du patient lorsque le cancer est à un stade avancé (Chekkat, 2014). Ainsi, il existe différentes méthodes de traitement telles que les traitements conventionnels et traitements par les plantes (Bana, 2013).

2.5.1. Traitements en médecine moderne

Le traitement du cancer est fonction du type de cancer ; et il fait intervenir les stratégies suivantes :

2.5.1.1. Chirurgie

C'est une intervention chirurgicale qui permet de traiter la tumeur localement, mais pas ses métastases. Elle facilite l'extraction de la tumeur. Le prélèvement est effectué sous anesthésie locale ou générale en fonction de la localisation de la tumeur. Il est parfois précédé d'une détection de la zone suspecte (établissement d'un repère sous imagerie médicale) pour garantir que la biopsie se déroule correctement au bon endroit. Si le cancer est important ou localisé dans une zone délicate, il est parfois nécessaire de prévoir la chirurgie par des rayons ou de la chimiothérapie. Ainsi, il est nécessaire de diminuer le volume tumoral avant l'intervention chirurgicale, ce qui permet ensuite d'opter pour une chirurgie moins mutilante ou plus satisfaisante sur le plan esthétique. Parfois, une radiothérapie est associée à la chirurgie afin de diminuer le risque de récurrence (Fondation ARC, 2022).

2.5.1.2. Radiothérapie

Les rayonnements peuvent avoir une incidence externe ou interne. L'application externe implique de diriger un rayonnement à partir de l'extérieur de l'organisme vers la tumeur. Dans le cadre de l'application interne, il est nécessaire d'implanter chirurgicalement une source radioactive à proximité directe du cancer. Cependant, si les cancers ne sont pas assez réceptifs aux radiations, une autre approche thérapeutique est alors envisagée. Ce traitement peut être utilisé seul ou en combinaison avec d'autres approches comme la chirurgie ou la chimiothérapie. Les principales applications incluent :

- le traitement curatif : Pour éliminer complètement les tumeurs localisées.
- le traitement adjuvant : Après une chirurgie pour réduire le risque de récurrence.
- et le traitement palliatif : Pour soulager les symptômes et améliorer la qualité de vie des patients atteints de cancers avancés (Bana, 2013).

2.5.1.3. Chimiothérapie

Elle repose sur l'utilisation de médicaments spécifiques pour cibler et détruire les cellules cancéreuses, tout en limitant leur capacité à se diviser et à se propager. Ce procédé consiste à administrer des substances chimiques telles que le chlorambucil, le 5-fluorouracile (5-FU), le méthotrexate ou la doxorubicine, entre autres, qui agissent comme cytostatiques en

ciblant les cellules cancéreuses pour perturber leur croissance et leur division. Ainsi, certaines substances peuvent agir:

- en altérant l'ADN : Certains agents, comme les agents alkylants, endommagent l'ADN des cellules cancéreuses, empêchant leur réplication.
- en inhibant de la synthèse de l'ADN ou de l'ARN : Les antimétabolites, par exemple, bloquent la production de ces molécules essentielles, stoppant ainsi la division cellulaire.
- en bloquant la division cellulaire : Les alcaloïdes végétaux et les taxanes perturbent les microtubules, structures nécessaires à la division des cellules.
- et en induisant de l'apoptose : Certains médicaments déclenchent la mort programmée des cellules cancéreuses.

Avant une intervention chirurgicale, la chimiothérapie peut être recommandée pour réduire la taille de la tumeur et ainsi faciliter l'opération. Elle peut également être administrée après la chirurgie pour diminuer le risque de récurrence. Il est possible d'utiliser la chimiothérapie de manière isolée ou combinée avec différentes classes de chimio-drogues afin de réduire le risque de résistance (Chekkat, 2014).

2.5.1.4. Immunothérapie

L'immunothérapie repose sur divers mécanismes permettant de mobiliser le système immunitaire dans la lutte contre les cellules cancéreuses. Dans cette thérapie, le système immunitaire acquiert la capacité de reconnaître et de détruire les cellules tumorales (Chouya & Boudina, 2019). Voici les principaux processus impliqués :

- les inhibiteurs de points de contrôle immunitaire : Ces traitements, tels que le pembrolizumab et le nivolumab, agissent en bloquant les protéines PD-1 ou CTLA-4 des cellules immunitaires, empêchant ainsi les cellules tumorales de neutraliser la réponse immunitaire et favorisant une attaque efficace.
- la thérapie par cellules CAR-T : Ce procédé consiste à modifier les cellules T du patient en laboratoire pour qu'elles soient mieux équipées pour identifier et détruire les cellules cancéreuses. Une fois modifiées, elles sont réintroduites dans l'organisme.
- les anticorps monoclonaux : Ces anticorps synthétiques ciblent des protéines spécifiques présentes sur les cellules tumorales, soit en les marquant pour leur élimination, soit en inhibant leur croissance.
- les vaccins thérapeutiques : Ils servent à entraîner le système immunitaire à reconnaître et attaquer les cellules cancéreuses de manière ciblée.

- et les cytokines : Ces molécules, telles que les interférons et les interleukines, stimulent l'activité des cellules immunitaires, renforçant ainsi leur efficacité contre les cellules tumorales (Chouya & Boudina, 2019).

2.5.1.5. Hormonothérapie

L'hormonothérapie est un traitement utilisé principalement pour les cancers hormonodépendants, comme le cancer du sein ou de la prostate. Elle agit en bloquant ou en réduisant l'effet des hormones qui stimulent la croissance des cellules cancéreuses. Les traitements hormonaux tels que :

- le tamoxifène : utilisé principalement pour les cancers du sein hormonodépendants, il bloque les récepteurs des œstrogènes sur les cellules cancéreuses.
- les inhibiteurs de l'aromatase (comme l'anastrozole, le létrozole) : réduisent la production d'œstrogènes chez les femmes ménopausées.
- les agonistes de la LHRH (comme la leuproréline, la goséréline) : suppriment la production de testostérone ou d'œstrogènes, souvent utilisés pour les cancers de la prostate ou du sein.
- et les anti-androgènes (comme le bicalutamide) : bloquent l'action de la testostérone sur les cellules cancéreuses, principalement pour le cancer de la prostate.

Toutefois, ces traitements anti-cancéreux contemporains entraînent de multiples effets secondaires tels que la fatigue générale, la toxicité des cellules saines (alopécies), des nausées et des vomissements, la toxicité du tube digestif (muqueuses), la toxicité de certains organes vitaux (cœur, foie, reins) et la toxicité médullaire (aplasie médullaire avec risque infectieux accru (Chekkat, 2014).

2.5.2. Phytothérapie

2.5.2.1. Importance des plantes médicinales dans la thérapie du cancer

Depuis des millénaires, les maladies ont été traitées dans le monde entier grâce à des remèdes à base de plantes et de minéraux, transmis de génération en génération. Les plantes médicinales jouent un rôle central dans la recherche et le développement de médicaments. Elles peuvent être utilisées directement comme traitements, servir de matières premières pour la production de médicaments, ou inspirer la conception de composés pharmaceutiques actifs (Decaux, 2002). Les substances végétales actives sont issues de processus biologiques universels chez les êtres vivants, contrairement aux médicaments de synthèse, qui contiennent des xénobiotiques souvent associés à des effets secondaires mal maîtrisés. La médecine

traditionnelle, particulièrement en Afrique, constitue une solution précieuse face à l'augmentation des coûts des soins de santé modernes (Bruneton, 2009).

2.5.2.2. Quelques molécules anticancéreuses d'origine végétale

Dans les années 1950, Hartwell a initié une étude pionnière et méthodique visant à explorer les plantes comme sources potentielles de molécules antitumorales. Cette recherche a permis d'identifier environ 3 000 espèces végétales présentant des propriétés anticancéreuses. Les composés actifs responsables de cette activité ont été isolés et caractérisés à partir des extraits totaux de ces plantes. Comme exemples de composés anticancéreux issus de plantes, il est cité :

- la vincristine et la vinblastine sont des alcaloïdes anticancéreux dérivés de la pervenche de Madagascar (*Catharanthus roseus*). Leur découverte remonte aux années 1950, grâce aux recherches menées par Robert Noble et Charles Beer, des scientifiques canadiens et américains. Ces composés se sont révélés particulièrement efficaces contre des maladies comme la leucémie et le lymphome ;

- le Taxol, également connu sous le nom de paclitaxel, a été découvert dans les années 1960 grâce aux travaux de Monroe Wall et Mansukh Wani. Ce composé a été isolé à partir de l'écorce de l'if du Pacifique (*Taxus brevifolia*) et a démontré une activité cytotoxique remarquable, ce qui a conduit à son utilisation pour traiter divers cancers ;

- le Roopérol est une substance extraite de plantes du genre *Hypoxis*, connues sous le nom de "lis étoilé africain". Il a été découvert en 1991 par Hanna et ses collaborateurs. Ce composé a été étudié pour ses propriétés anticancéreuses, notamment sa capacité à induire l'apoptose (mort cellulaire programmée) dans les cellules cancéreuses tout en préservant les cellules saines.

- et l'arglabine a été découverte en 1982 par Adekenov et ses collaborateurs. Ils ont isolé ce composé à partir de la plante *Artemisia glabella*, aussi appelée "absinthe lisse". Originaire de la région de Karaganda, au Kazakhstan, cette substance a montré un potentiel antitumoral prometteur (Thieury, 2017).

Ces découvertes ont représenté des avancées majeures dans la recherche sur les traitements anticancéreux et continuent d'inspirer les études modernes sur les composés d'origine végétale. Le tableau I présente quelques composés anticancéreux isolés des plantes

Tableau I : Quelques composés anticancéreux isolés des plantes (Thieury, 2017).

Plantes	Nom générique
<i>Artemisia glabella</i> Kar. & Kir	Arglabine
<i>Cantharanthus roseus</i> G.Don	Vinblastine et Vincristine
<i>Larrea divaricatta</i> Cav.	Masoprocol
<i>Solanum linaaeum</i> L.	Solamargine, solasodine et dérivés glycosides
<i>Taxus brevifolia</i> Nutt.	Paclitaxel
<i>Hypoxis hemerocallidea</i>	Roopérol
<i>Acacia victoriae</i>	Dérivés triterpéniques

La découverte d'anticancéreux naturels a été fortement soutenue par les travaux du National Cancer Chemotherapy Service Center (NCCSC) du National Cancer Institute (NCI) aux États-Unis. Dès 1955, ce centre a lancé un programme de recherche qui, sur environ vingt ans, a permis de collecter environ 35 000 plantes. Les extraits de ces plantes ont été testés pour leurs activités anticancéreuses sur des lignées de cellules cancéreuses et des animaux de laboratoire (Thieury, 2017).

3. CULTURE CELLULAIRE

La culture cellulaire est un ensemble de méthodes biologiques qui permet de maintenir et de développer des cellules en dehors de leur organisme ou de leur environnement naturel, dans le but de réaliser des expériences scientifiques ou de la fécondation *in vitro*. C'est une technique de laboratoire qui vise à obtenir un type spécifique de cellule vivante, à trouver un moyen de la faire survivre dans les conditions artificielles du laboratoire, idéalement à la faire se multiplier, tout en maintenant des conditions de stress tolérables. Les conditions et les propriétés du milieu de culture sont essentielles à cet égard. La culture cellulaire nécessite la reconstitution des conditions originales du milieu des cellules. Pour ce faire, la température, la pression, le taux d'humidité, le pH, le CO₂, la composition en nutriments et en minéraux doivent être contrôlés (Mellali, 2022).

3.1. Origine des cellules cultivées

Les cellules cultivées en laboratoire peuvent être des micro-organismes autonomes (comme les bactéries ou les levures), des cellules "saines" prélevées directement d'un

organisme (par exemple, par biopsie), ce que l'on appelle une "culture primaire". Ces cellules ne peuvent généralement pas être cultivées indéfiniment, principalement en raison de leur nombre limité de divisions. Elles peuvent également être des lignées cellulaires, c'est-à-dire des cellules ayant une capacité de division illimitée (on parle d'immortalité en culture). Ces lignées peuvent être des cellules cancéreuses, des cellules en cours de cancérisation, ou des cellules saines rendues "immortelles" de manière artificielle. Enfin, elles peuvent être des explants d'organes dont l'épaisseur est ajustée en fonction des caractéristiques spécifiques du tissu (Onur *et al.*, 2018).

3.2. Intérêt de la culture cellulaire

La culture cellulaire offre une source constante et uniforme de cellules qui sont utiles dans divers domaines tels que la biochimie, la médecine et la santé. Contrairement aux cellules *in vivo*, les cellules en culture peuvent être manipulées de manière simple et variée. Les cultures cellulaires peuvent être congelées sans affecter leur capacité de multiplication ou leur patrimoine génétique. L'utilisation des cultures cellulaires réduit le recours aux animaux de laboratoire, ce qui minimise les coûts d'expérimentation et limite le nombre d'animaux sacrifiés. Elle est utilisée pour acquérir de nouvelles connaissances sur le développement humain normal et pathologique (Mellali, 2022).

Cette méthode permet aux chercheurs de mieux comprendre le fonctionnement des cellules, de tester des médicaments, des produits cosmétiques, de vérifier la toxicité de certains produits chimiques, évitant ainsi les tests sur les animaux. Elle permet également de produire certains vaccins dont les virus se développent à l'intérieur des cellules, et de produire des tissus comme de la peau neuve pour les grands brûlés (Mellali, 2022).

3.3. Lignées cellulaires

Une lignée cellulaire est une population uniforme de cellules qui ont subi des changements génétiques permettant leur croissance sans fin. Autrement dit, elle a une capacité de division illimitée avec un entretien *in vitro* par des repiquages successifs. Elles sont immortelles ; et elles sont couramment utilisées en recherche scientifique du fait de leur rentabilité et facilité d'utilisation. L'utilisation de lignées cellulaires immortelles permet d'éviter les controverses éthiques liées à l'utilisation de tissus animaux ou humains. Les lignées cellulaires peuvent provenir de :

- tumeurs spontanées : cellules cancéreuses extraites d'une tumeur
- et cellules transformées par immortalisation (Kaur & Dufour, 2012).

3.4. Lignées cellulaires cancéreuses étudiées

3.4.1. Lignées HCT 116

La lignée cellulaire HCT 116 est un modèle largement utilisé dans la recherche sur le cancer colorectal. Elle provient d'un carcinome colorectal humain de type A de Duke, isolé chez un homme de 48 ans. Ces cellules présentent une morphologie épithéliale et sont adhérentes, ce qui les rend adaptées aux cultures en monocouche (Figure 12). Cette lignée est utilisée pour étudier les mécanismes de la carcinogenèse, tester l'efficacité des médicaments anticancéreux et explorer les interactions génétiques et moléculaires dans le cancer colorectal (Rosidi *et al.*, 2023).

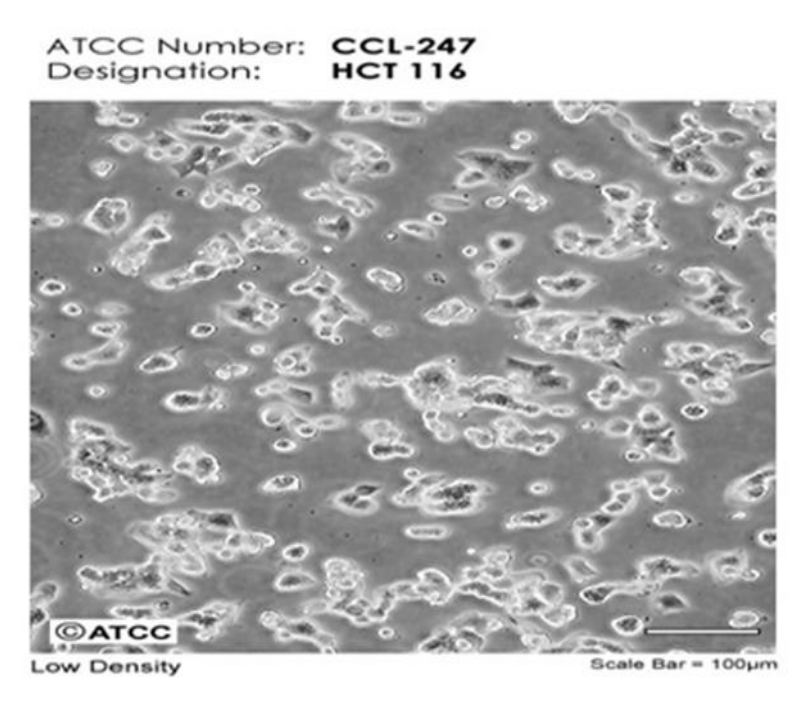


Figure 12 : Photo lignée HCT 116

Cette image a été capturée sur le site de American Type Culture Collection (ATCC). Elle a été prise au microscope à contraste de phase avec une barre d'échelle de 100 µm, à une faible densité cellulaire.

3.4.2. Lignée MDA-MB-231

Les lignées MDA-MB-231 sont des cellules d'adénocarcinome humain provenant d'un patient de 51 ans de race blanche atteint d'un cancer du sein métastatique. Ces cellules, qui sont de nature épithéliale adhérente, sont couramment utilisées dans la recherche sur le cancer du sein (Figure 13). Ces cellules se caractérisent par leur nature agressive et invasive, ce qui en fait un modèle idéal pour l'étude du cancer du sein triple négatif (CSTN). Les cellules MDA-MB-231 sont dépourvues de récepteurs d'œstrogènes (ER), de récepteurs de progestérone (PR)

et d'amplification HER2, qui sont des marqueurs typiques utilisés pour classer et traiter les cancers du sein. Par conséquent, ces cellules sont résistantes aux thérapies hormonales, ce qui reflète les défis cliniques auxquels est confrontée la gestion du cancer du sein (Lingrand, 2019).

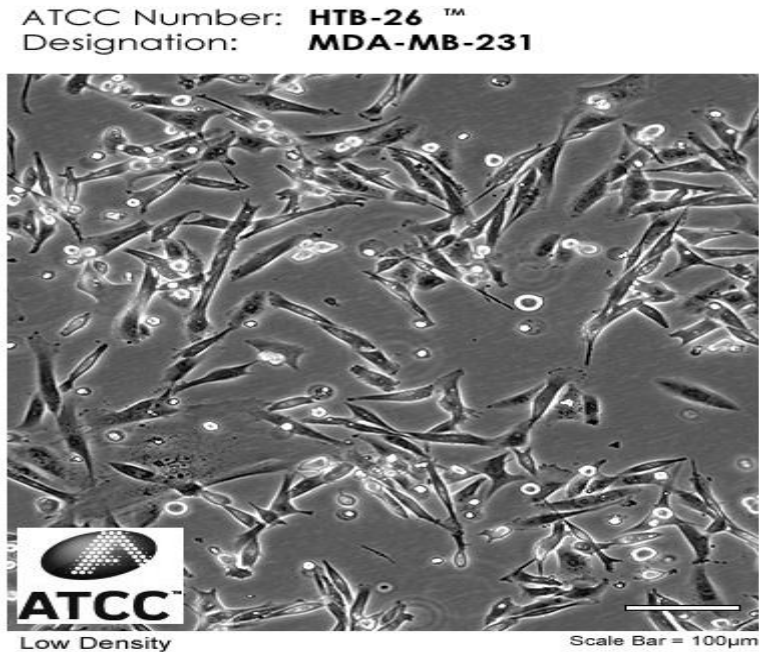


Figure 13 : Photo lignée MDA-MB-231

Cette image a été capturée sur le site de American Type Culture Collection (ATCC). Elle a été prise au microscope à contraste de phase avec une barre d'échelle de 100 µm, à une faible densité cellulaire

3.4.3. Lignée MCF-7

Les lignées cellulaires MCF-7 sont l'une des lignées les plus étudiées dans la recherche sur le cancer du sein (Figure 14). Elle a été établie en 1973 à partir d'un épanchement pleural prélevé chez une patiente de 69 ans atteinte d'un cancer du sein métastatique. Ces cellules adhérentes présentent une morphologie épithéliale ; et elles sont caractérisées par leur réponse aux hormones, ce qui en fait un modèle idéal pour étudier les cancers du sein hormono-dépendants (Lingrand, 2019).

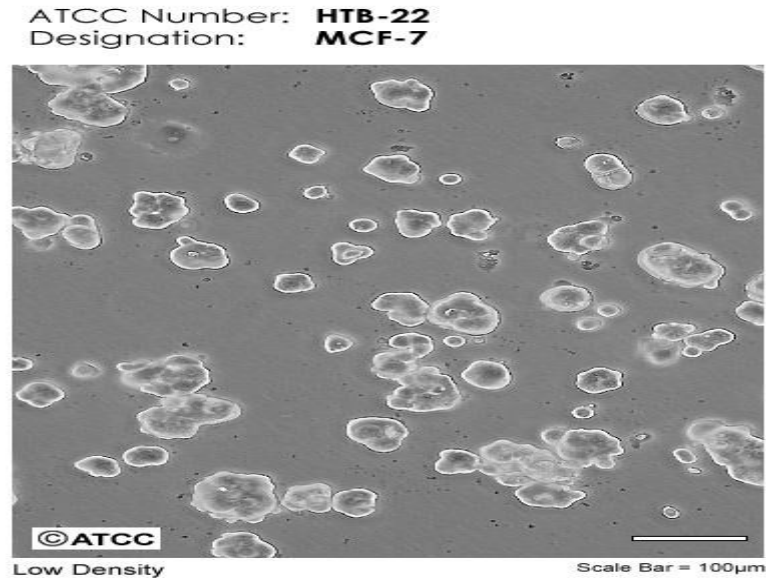


Figure 14: Photo lignée MCF-7

Cette image a été capturée sur le site de American Type Culture Collection (ATCC). Elle a été prise au microscope à contraste de phase avec une barre d'échelle de 100 µm, à une faible densité cellulaire.

3.4.4. Lignée THP-1

Les lignées cellulaires THP-1 sont un modèle précieux pour la recherche en immunologie et en cancérologie (Figure 15). Elles ont été isolées en 1980 à partir du sang périphérique d'un patient âgé d'un an atteint de leucémie monocyttaire aiguë (sous-type M5). Ces cellules sont caractérisées par leur capacité à se développer en suspension tout en ayant la faculté de se différencier en cellules adhérentes similaires aux macrophages sous certaines conditions spécifiques. Elles sont largement utilisées pour modéliser les réponses immunitaires et inflammatoires, explorer les mécanismes de différenciation des macrophages, et étudier les interactions entre les cellules leucémiques et les traitements anticancéreux. Elles constituent également un outil essentiel pour les études sur les cytokines et la modulation immunitaire (Chanput *et al.*, 2015).

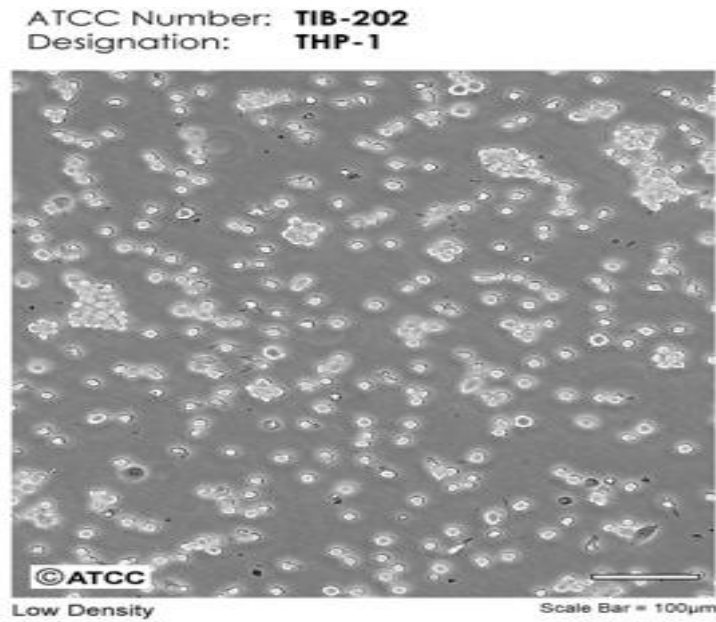


Figure 15 : Photo lignée THP-1

Cette image a été capturée sur le site de American Type Culture Collection (ATCC). Elle a été prise au microscope à contraste de phase avec une barre d'échelle de 100 µm, à une faible densité cellulaire.

3.4.5. Lignée PC-3

Les lignées cellulaires PC-3 sont un modèle *in vitro* largement utilisées pour étudier le cancer de la prostate, en particulier les stades avancés et métastatiques (Figure 16). Elles ont été isolées en 1979 à partir d'une métastase osseuse chez un patient atteint d'un adénocarcinome de la prostate de grade IV. Cette lignée est précieuse pour la recherche en raison de ses caractéristiques uniques. Contrairement à certaines lignées comme LNCaP, les cellules PC-3 ne répondent pas aux androgènes (hormones mâles comme la testostérone), ce qui reflète un stade avancé du cancer de la prostate. Elles sont utilisées pour explorer les mécanismes moléculaires et cellulaires de la propagation tumorale et à évaluer l'efficacité de nouveaux traitements anticancéreux, en particulier ceux ciblant les cancers résistants aux androgènes (Tai *et al.*, 2011).

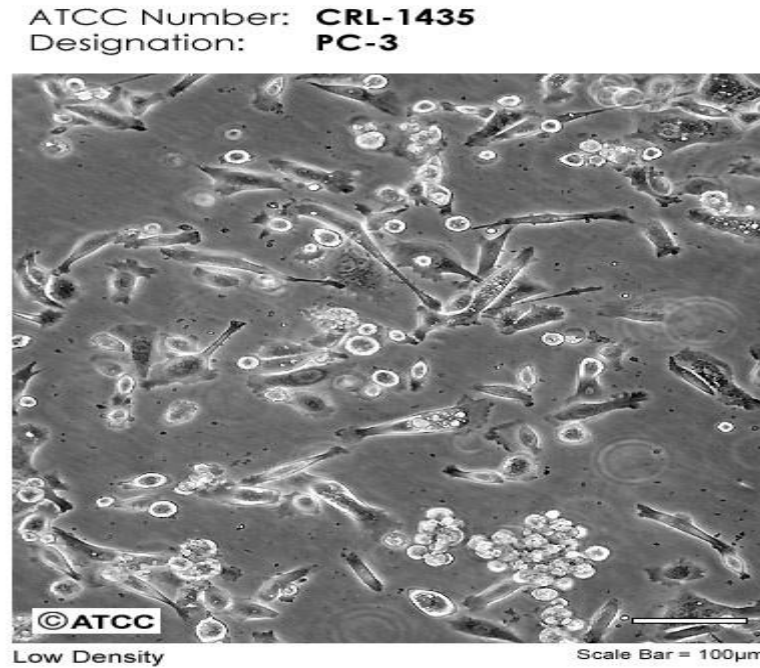


Figure 16 : Photo lignée PC-3 (Source : ATCC)

Cette image a été capturée sur le site de American Type Culture Collection (ATCC). Elle a été prise au microscope à contraste de phase avec une barre d'échelle de 100 µm, à une faible densité cellulaire.

Le choix de ces lignées cellulaires repose sur leur représentativité dans les types de cancers les plus fréquents en Afrique, et plus particulièrement en Côte d'Ivoire, selon les données de Globocan (2022). Ainsi, les lignées MCF-7 et MDA-MB-231 ont été sélectionnées pour modéliser les cancers du sein, la lignée PC-3 pour le cancer de la prostate, la lignée HCT 116 pour le cancer colorectal, et la lignée THP-1 pour les leucémies (Koutsilieris *et al.*, 1999 ; Basim *et al.*, 2014 ; Tayo *et al.*, 2022).

4. PLANTES ETUDIEES

Annickia polycarpa, *Mezoneuron benthamianum* et *Morinda morindoides*, trois espèces végétales choisies sont régulièrement citées dans diverses enquêtes ethnobotaniques pour leur usage traditionnel dans la prise en charge des tumeurs (Aké-Assi, 1984 ; Kabran *et al.*, 2011). De plus, elles présentent l'avantage d'être largement disponibles, et facilement accessibles. Toutefois, malgré leur usage empirique répandu, leurs propriétés anticancéreuses restent encore peu explorées et documentées dans le présent contexte géographique, ce qui justifie pleinement l'intérêt de cette étude.

4.1. *Annickia polycarpa* (DC.) Engl. & Diels

4.1.1. Position systématique

Classification selon APGIII (Arbonnier, 2009).

Règne :	Plantae
Clade :	Magnoliopsida
Ordre :	Magnoliales
Famille :	Annonaceae
Genre :	<i>Annickia</i>
Espèce :	<i>Annickia polycarpa</i>
Synonyme :	<i>Enantia polycarpa</i>

4.1.2. Description botanique

L'arbuste *Annickia polycarpa* également appelé *Enantia polycarpa* est d'une taille moyenne, pouvant atteindre 20 mètres de haut. Il a une écorce lisse, un peu rugueuse ou fissurée, de couleur verte à noirâtre. L'intérieur de l'écorce est fibreux et d'un jaune vif. Les feuilles sont alternes, simples, entières et sans stipules. Le pétiole a une longueur de 3 à 8 cm. Le limbe étroitement elliptique à obovale a une longueur de 5 à 27 cm et une largeur de 2 à 8 cm. Il présente une forme cunéiforme à la base, acuminée à l'apex, avec une texture coriace et un poil fin au-dessus. La figure 17 présente les feuilles de *Annickia polycarpa*.

Les fleurs sont bisexuées et régulières, solitaires sur les jeunes pousses. Le fruit est constitué de 5 à 55 follicules indéhiscents ellipsoïdes obovoïdes de 2 à 2,5 cm de long. À maturité, les follicules sont rouges noirâtres et se trouvent sur un stipe rougeâtre de 6 cm de long, avec une seule graine. Les graines sont oblongues à obovoïdes et légèrement verruqueuses (Adjanooun & Aké Assi, 1979). Il s'agit d'une espèce Guinéo-congolaise présente depuis la Sierra Leone au Nigeria et à l'ouest du Cameroun. On la trouve en abondance en Côte d'Ivoire, où elle pousse sous le couvert des forêts denses, ainsi qu'en Sierra Leone (Ambe *et al.*, 2016).



Figure 17 : Tige Feuillée de *Annickia polycarpa* (DC.) Engl. &Diels (Annonaceae)

(Source : <https://www.google.com>).

4.1.3. Utilisations traditionnelles

En Côte d'Ivoire, plus précisément à Agboville, les feuilles de *A. polycarpa* sont utilisées par la population pour traiter le paludisme (Kipré *et al.*, 2017). L'écorce de la tige est employée dans le traitement de la fièvre typhoïde, de la trypanosomiase, des troubles diarrhéiques ainsi que de diverses maladies oculaires (Ambe *et al.*, 2016). Au Nigeria également, le même organe est employé pour soigner les ulcères, la lèpre et les blessures (Anosa *et al.*, 2014).

Au Ghana, elle est utilisée pour traiter la fièvre paludéenne, la fièvre, l'ulcère gastrique, les infections oculaires, les plaies lépreuses, les blessures et les infections bactériennes (Kumatia *et al.*, 2016).

4.1.4. Propriétés pharmacologiques

De nombreuses propriétés pharmacologiques ont été démontrées sur des extraits de *A. polycarpa*. Elles peuvent être différentes selon l'organe de la plante et la nature de l'extrait. D'après les recherches réalisées en Côte d'Ivoire par Ambe *et al.* (2016), l'extrait éthanolique de ces écorces présente des propriétés antifongiques contre *Candida albicans* ainsi qu'une activité cytotoxique sur les cellules humaines HFF. De plus, l'écorce de la tige présente des propriétés antipaludiques, comme l'ont démontré les travaux d'Anosa *et al.* (2014). Ajali (2020)

et Kamanzi *et al.* (2004) ont démontré qu'elle possède des propriétés antibactériennes, antiparasitaires (notamment anti-plasmodiales) et anti-trypanosomiasis *in vitro*.

Au Ghana, Kumatia *et al.* (2016) ont démontré que l'extrait éthanolique de l'écorce de tige possède des propriétés anti-inflammatoires et analgésiques.

4.1.5. Quelques molécules isolées des feuilles de *Annickia polycarpa*

Plusieurs molécules ont été isolées de cette plante dont : l'isoquinolone, la corydaldine, les protoberbérines, etc. La figure 18 présente la structure de ces composés extraits des feuilles de *A. polycarpa*.

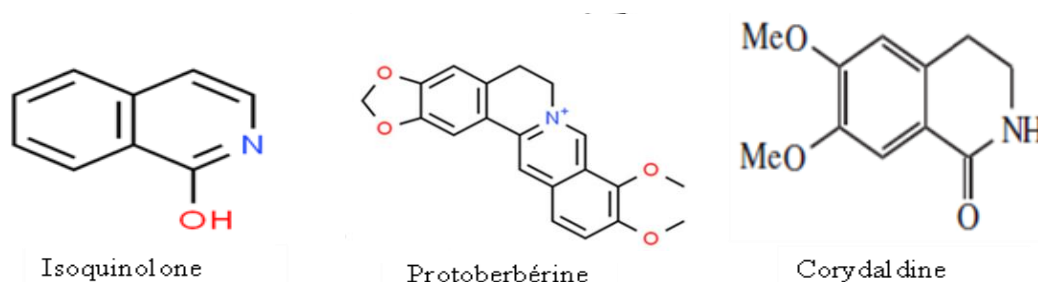


Figure 18 : Structures de quelques composés isolés des feuilles de *Annickia polycarpa* (Jössang, 1977)

4.2. *Mezoneuron benthamianum* (Baill.) Herend. & Zarucchi

4.2.1. Position systématique

Classification selon APGIII (Arbonnier, 2009).

Règne :	Plantae
Clade :	Magnoliopsida
Ordre :	Fabales
Famille :	Fabaceae
Genre :	<i>Mezoneuron</i>
Espèce :	<i>Mezoneuron benthamianum</i>
Synonyme :	<i>Caesalpinia benthamiana</i>

4.2.2. Description botanique

Mezoneuron benthamianum (Baill.) Herend. & Zarucchi, également connue sous le nom de *Caesalpinia benthamiana*, est un arbuste sarmenteux très épineux au feuillage persistant, disposé de manière alterne, bipenné, oblong et à marge entière. Avec une base

symétrique et une nervure réticulée, l'apex est obtus. Cependant, les feuilles terminales présentent une forme obovale, avec des folioles et des foliolules en nombre égal (Dickson *et al.*, 2011). L'espèce présente des épines tant sur la tige que sur le rachis (Holou *et al.*, 2013). La figure 19 illustre une tige feuillée de *M. benthamianum*. Les fleurs pentamères se groupent en épis auxiliaires et terminaux de grande taille. Les Césalpinies sont des plantes hermaphrodites dont la floraison peut s'étendre toute l'année en zone tropicale. Dans certains pays d'Afrique de l'Ouest, cette plante est largement reconnue pour ses vertus médicinales (Osho, 2014). Elles se rencontrent sur la Côte Ouest Africaine, du Sénégal au Nigeria, en passant par la Guinée, la Sierra Leone, le Libéria, la Côte d'Ivoire, le Ghana, le Togo et le Bénin (Kpemissi, 2007).



Figure 19 : Tige feuillée de *Mezoneuron benthamianum* (Baill.) Herend. & Zarucchi (Fabaceae) (Photo Tanoh 2023).

4.2.3. Utilisations traditionnelles

En Côte d'Ivoire, la mastication quotidienne des racines fraîches par voie orale au coucher ou la décoction aqueuse des racines est recommandée pour traiter les problèmes d'érection (Békro *et al.*, 2007 ; Zamblé *et al.*, 2007). La pâte composée d'écorces de racines en poudre, mélangée à du beurre de karité, de l'huile de palme ou de l'huile de palme de chenille, est utilisée localement pour traiter les plaies (Dickson & Peter 2007). Toujours en Côte d'Ivoire,

elle est aussi utilisée dans la prise en charge de la dysenterie, des écoulements urétraux, les morsures de serpent, la cataracte et d'autres problèmes oculaires (Dickson *et al.*, 2006). En Guinée, cette plante est utilisée pour traiter le paludisme (Traoré *et al.*, 2013). Au Nigeria, *M. benthamianum* est employée pour soigner les maladies de la peau et les plaies (Tayo *et al.*, 2022).

4.2.4. Propriétés pharmacologiques

L'activité cytotoxique des feuilles de *M. benthamianum* a été démontrée sur les lignées cancéreuses de la prostate, du sein et des poumons (Tayo *et al.*, 2022). Les racines possèdent des propriétés vasoactives, antioxydantes, aphrodisiaques, anti-fertilité et vasorelaxantes (Zamblé *et al.*, 2007). Des recherches précédentes sur les feuilles de cette plante ont permis d'isoler l'acide gallique et des dérivés d'acide gallique qui ont une activité antibactérienne (Dickson & Peter, 2007). En outre, Mbagwu *et al.* (2007) ont révélé les propriétés anti-inflammatoires, analgésiques et antipyrétiques de l'extrait aqueux de cette plante chez la souris, le rat et le lapin. Mbagwu & Adeyemi, (2008) ont démontré l'effet antidiarrhéique de l'extrait aqueux sur la diarrhée induite expérimentalement chez la souris. Loua *et al.* (2017) ont également mis en évidence l'activité anti-protazoaire de cette plante.

4.2.5. Quelques molécules chimiques isolées des feuilles de *Mezoneuron benthamianum*

De nombreuses molécules chimiques ont été extraites des feuilles de *M. benthamianum*. Parmi celles-ci figurent, les Benthamianines, et le Méthyl gallate. La figure 20 présente les structures de ces composés.

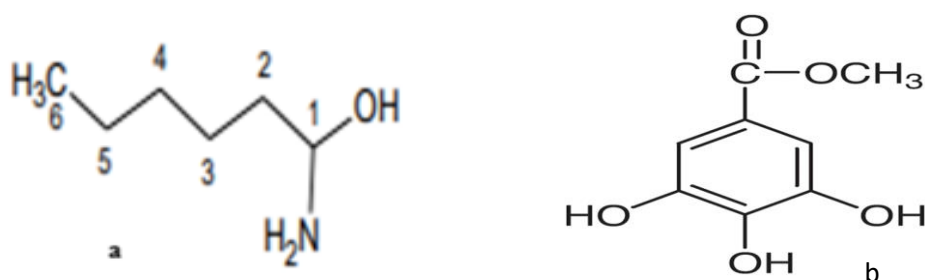


Figure 20 : Molécules chimiques isolées des feuilles de *Mezoneuron benthamianum* (Tayo *et al.*, 2022)

a : Benthamianin ; b : Methyl gallate

4.3. *Morinda morindoides* (Baker) Milne-Redh

4.3.1. Position systématique

Classification selon APGIII (Arbonnier, 2009).

Règne :	Plantae
Clade :	Magnoliopsida
Ordre :	Gentianales
Famille :	Rubiaceae
Genre :	<i>Morinda</i>
Espèce :	<i>Morinda morindoides</i>

4.3.2. Description botanique

Morinda morindoides est une liane grimpante appartenant au genre *Morinda*, largement connue pour ses propriétés médicinales et son importance écologique. Cette plante se distingue par ses feuilles opposées, de forme elliptique ou oblongue-elliptique, avec une base cunéiforme. Les feuilles, glabres, mesurent entre 6 et 15 cm de longueur et 3 à 8 cm de largeur, et présentent environ six paires de nervures latérales bien visibles sur le limbe, ce qui leur confère une apparence caractéristique (Bagré *et al.*, 2011). Les fleurs de *M. morindoides* sont regroupées en capitules serrés et arborent une couleur blanche éclatante. Ces fleurs se distinguent par leur tube de corolle court et robuste, adapté à leur mode de pollinisation.

Les fruits de la plante, quant à eux, sont bosselés et changent de couleur au cours de leur maturation : verts lorsqu'ils sont jeunes, ils prennent une teinte jaune à maturité, signalant leur disponibilité pour la dispersion (Koffi, 2013).

Cette liane possède également une grande importance dans divers écosystèmes, notamment en Afrique tropicale. La figure 21 illustre avec précision les caractéristiques distinctives des feuilles de *M. morindoides* en mettant en évidence leur forme et leur structure nervurée unique (Koffi, 2013).



Figure 21 : Rameau feuillé de *Morinda morindoides* (Baker) Milne-Redh (Rubiaceae)

(Photo Tanoh 2023)

4.3.3. Utilisations traditionnelles

Les feuilles de *M. morindoides* sont utilisées en décoction au Congo pour traiter le paludisme, les hémorroïdes, le diabète, les éruptions cutanées, les infections microbiennes et le prurit (Mankele *et al.*, 2006 ; Koni & Bostoen ; 2008 ; Konda *et al.*, 2012). Au Nigeria, la décoction des feuilles de cette plante est également utilisée pour traiter les vers, l'amibiase, la tuberculose et la gonorrhée (Okiemy *et al.*, 2010).

En Côte d'Ivoire, les fruits sont utilisés en application locale dans les cas d'épilepsie ; et les feuilles sont utilisées pour traiter le paludisme et aussi les diarrhées (Koffi, 2013). Elles sont également employées pour soulager les douleurs rhumatismales (Bagré *et al.*, 2011) ; Koffi, 2013).

4.3.4. Propriétés pharmacologiques

Les feuilles de *M. morindoides* possèdent une activité antifongique efficace contre *Cryptococcus neoformans*, ainsi que des propriétés antiprotozoaires ciblant particulièrement *Entamoeba histolytica* (Bagré *et al.*, 2011). Par ailleurs, l'extrait aqueux de cette plante a montré des effets immunologiques remarquables en réduisant le nombre de cellules basophiles polynucléaires, responsables des réactions anaphylactiques (Mankele *et al.*, 2006).

4.3.5. Quelques molécules isolées des feuilles de *Morinda morindoides*

Certaines molécules ont été isolées de *M. morindoides* dont : Quercetine-7, 4- dimethyl ether, kaempferol-3-o-rutinoside, Apigenine-7, O- glucoside. La figure 22 illustre la structure de quelques molécules isolées des feuilles de *Morinda morindoides*.

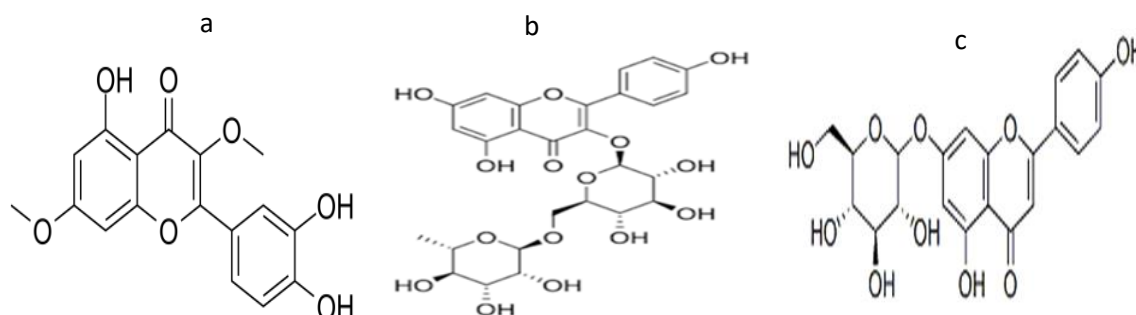


Figure 22 : Structures de quelques molécules isolées des feuilles de *Morinda morindoides*

(Koffi, 2013).

a : Quercetine-7, 4- dimethyl ether ; b : kaempferol-3-o-rutinoside ; c: Apigenine-7, O- glucoside

5. TECHNIQUES DE CARACTERISATION STRUCTURALE ET METABOLITES SECONDAIRES SPECIALISES DES PLANTES

5.1. Techniques de caractérisation structurale

5.1.1. Spectrométrie HPLC-ESI-QTOF-MS/MS

Le couplage HPLC-ESI-QTOF-MS/MS est un outil puissant pour caractériser des systèmes complexes de composés chimiques (Han *et al.*, 2012). C'est une technique analytique avancée qui combine la chromatographie liquide haute performance (HPLC) avec la spectrométrie de masse à temps de vol quadripôle (QTOF-MS) et l'ionisation par électrospray (ESI). Plusieurs méthodes d'analyse sont utilisées dans ce système. La première technique HPLC permet de séparer, identifier et quantifier la composition d'un mélange haute pression (Quirantes *et al.*, 2013). La seconde technique ESI-QTOF-MS/MS fournit une masse à haute résolution et permet d'assurer la composition élémentaire des ions fils. Les détecteurs de masse à temps de vol sont très réactifs et sensibles. L'identification moléculaire par sélection d'ions parents intenses, fragmentation et identification des formules atomiques les plus probables pour les fragments générés, en fonction de leur masse exacte, est possible dans les systèmes hybrides avec un premier filtre de masse quadripolaire (Jongmin *et al.*, 2017).

5.1.3. Chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC/MS)

La chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS) est une méthode d'analyse qui combine les performances de la chromatographie en phase liquide et de la spectrométrie de masse pour identifier et/ou quantifier précisément de nombreuses substances. Elle permet de dissocier les composées et souvent leurs isomères, de réduire la suppression d'ionisation et le bruit ambiant (Giles *et al.*, 2010). Dans la Chromatographie en phase liquide (LC), l'échantillon est dissous dans un solvant et filtré à travers une colonne contenant une phase stationnaire. C'est une méthode séparative qui permet de séparer un maximum de composés présents dans un mélange complexe. Les différents composés de l'échantillon interagissent de manière différente avec ce matériau et se déplacent à des vitesses différentes, ce qui les sépare.

La spectrométrie de masse (MS) est une technique qui permet d'identifier les composés en mesurant le rapport masse/charge de leurs ions après la séparation par LC. Les ions sont divisés selon leur masse et leur charge. Le spectromètre de masse est un spectre qui peut être utilisé pour déterminer la masse moléculaire des composés et identifier leur structure chimique. Les impuretés ou les contaminants présents dans un échantillon sont détectés, identifiés et mesurés grâce à ces méthodes (Reymond, 2022).

5.1.2. Spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse est une technique d'analyse qui permet de calculer le poids moléculaire des éléments, de les identifier et de les quantifier. La méthode repose sur la séparation et la détection des ions présents dans la source d'ions ou dans une cellule de collision. La molécule à analyser provient de ces ions. Dans le cas d'ionisation douce, l'ion résulte de l'addition ou de la soustraction d'un proton (H^+) ou d'un électron. Le poids moléculaire peut être déterminé grâce à cet ion pseudo-moléculaire ou ion moléculaire. Dans le cas d'ionisation dure ou dans une cellule de collision, les ions moléculaires sont disloqués pour donner naissance aux ions filles. Les règles bien connues et les caractéristiques de la structure du composé à analyser produisent les fragmentations (Menet, 2011).

5.2. Métabolites secondaires spécialisés des plantes

5.2.1 Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés organiques d'origine naturelle, principalement issus des plantes, caractérisés par la présence d'au moins un atome d'azote dans leur structure chimique. Leur basicité varie selon les molécules. Depuis la découverte du tout premier alcaloïde, la morphine, extraite de l'opium en 1806 plus de dix mille alcaloïdes ont été isolés à partir de

végétaux. Bien que leur source principale soit les plantes à fleurs, certains alcaloïdes ont également été identifiés chez quelques espèces animales, notamment les fourmis, les grenouilles et les coccinelles. Ces substances, généralement stables, sont accumulées dans les plantes en tant que produits de diverses voies biosynthétiques, souvent dérivées d'acides aminés tels que la lysine, l'ornithine, la tyrosine ou le tryptophane. Certaines structures alcaloïdiques sont relativement simples, tandis que d'autres présentent une complexité remarquable (Muniz, 2007).

5.2.2. Composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des substances organiques dépourvues d'azote, dont les cycles aromatiques proviennent principalement de deux grandes voies métaboliques : la voie du shikimate et celle de l'acétate. Cette double origine biosynthétique est à l'origine de la grande diversité structurale observée parmi les composés phénoliques. Lorsque les deux voies métaboliques interviennent simultanément, elles permettent la formation de structures hybrides telles que les flavonoïdes, les stilbènes ou encore les xanthones. À ce jour, plus de 8 000 composés phénoliques ont été identifiés dans le règne végétal.

Les composés phénoliques se caractérisent par la présence d'un noyau aromatique portant un ou plusieurs groupes hydroxyles. Cette configuration favorise leur polymérisation, transformant les structures simples en phénols complexes ou polymérisés. En dépit de leur grande diversité structurale, ces substances sont regroupées sous l'appellation générale de polyphénols. Ils représentent l'un des groupes les plus abondants et les plus largement répandus dans le règne végétal, étant présents dans l'ensemble des organes de la plante (Dibala, 2017).

5.2.3. Terpènes

Les terpénoïdes sont des composés naturels issus de l'assemblage d'un nombre entier d'unités isopréniques. Ils font partie des substances secondaires majeures du métabolisme végétal. Étant dérivés de l'isoprène, ils sont également désignés sous le nom d'isoprénoïdes. Selon le nombre d'unités isopréniques qui les composent, on distingue plusieurs catégories :

- Monoterpènes (C_{10}) : les terpènes au sens strict
- Sesquiterpènes (C_{15})
- Diterpènes (C_{20})
- Triterpènes (C_{30})
- Tétraterpènes (C_{40})
- Polyterpènes (jusqu'à C_{4000})

Les stéroïdes sont inclus dans la famille des terpénoïdes, tandis que les caroténoïdes appartiennent à la classe des tétraterpènes (Merghem, 2019).

6. ANTIOXYDANTS

6.1. Définition

Par définition, un antioxydant est une substance capable de ralentir ou d'empêcher l'oxydation des cellules et des molécules. Il a donc la capacité de prévenir la formation de radicaux libres en inhibant l'apparition des chaînes réactionnelles ou en désactivant directement les espèces réactives de l'oxygène. Il est possible de classer les antioxydants en fonction de leurs différentes actions : systèmes enzymatiques, inhibiteurs d'enzymes oxydantes, chélateurs de métaux et piègeurs de radicaux libres. L'organisme dispose de systèmes endogènes spécialement conçus pour cette fonction de protection. Toutefois, cette ligne de défense s'épuise rapidement. L'alimentation contient également de nombreux antioxydants exogènes qui jouent un rôle important dans la lutte contre les radicaux libres (Desmier, 2016).

6.2. Types d'antioxydants

6.2.1. Antioxydants endogènes

Les cellules produisent des antioxydants, qui incluent à la fois des antioxydants enzymatiques et non enzymatiques. La superoxyde dismutase (SOD), la glutathion peroxydase (GPX) et la catalase (CAT) sont les principaux antioxydants enzymatiques. Ces enzymes antioxydantes préviennent le stress oxydatif en récupérant les radicaux libres et les espèces réactives avant qu'ils n'endommagent les composants cellulaires (Desmier, 2016).

Le glutathion (GSH), un tripeptide, formé par l'acide glutamique, la cystéine et la glycine est le principal antioxydant non enzymatique de toutes les cellules. Il peut non seulement être utilisé comme un piège pour les oxydants indépendants, mais aussi travailler en collaboration avec le glutathion peroxydase afin d'éliminer le peroxyde d'hydrogène de la cellule (Desmier, 2016).

Les antioxydants, qu'ils soient enzymatiques ou non enzymatiques, agissent de manière concertée pour protéger les cellules contre les dommages oxydatifs induits par les radicaux libres (Powers & Jackson, 2008).

6.2.2. Antioxydants exogènes

L'alimentation joue un rôle déterminant dans la lutte contre les effets néfastes du stress oxydatif. Les études mettent en lumière les bénéfices d'une consommation riche en fruits et légumes, véritables réservoirs d'antioxydants naturels (Desmier, 2016). Ces aliments

contiennent une variété de composés essentiels pour protéger nos cellules contre les dommages liés au stress oxydatif. Parmi ces antioxydants figurent :

- la vitamine E, sous ses formes de tocophérols et tocotriénols, qui protège les membranes cellulaires.
- la vitamine C (acide ascorbique), qui joue un rôle clé dans la neutralisation des radicaux libres.
- les caroténoïdes, tels que le bêta-carotène, qui renforcent les défenses cellulaires et favorisent la santé oculaire.
- les polyphénols, aux propriétés anti-inflammatoires et antioxydantes remarquables.
- et les oligo-minéraux, comme le sélénium, le cuivre et le zinc, qui participent activement à la régulation des mécanismes antioxydants enzymatiques. Ainsi, adopter une alimentation équilibrée, riche en ces nutriments, constitue une stratégie clé pour réduire le stress oxydatif et favoriser une meilleure santé globale (Traber & Stevens, 2011).

6.3. Stress oxydant

Dans des conditions physiologiques, la production des ERO est parfaitement maîtrisée par les systèmes de défense de notre organisme : on parle d'équilibre balance anti-oxydants / pro-oxydants. Le stress oxydant résultera d'une situation où l'organisme ne contrôle plus la présence excessive de radicaux oxygénés toxiques. Cela entraîne des dommages souvent irréversibles pour la cellule (Garait, 2006 ; Haleng *et al.*, 2007). En effet, dans des conditions physiologiques, les espèces réactives de l'oxygène (ERO) présentent une toxicité pouvant compromettre l'intégrité des cellules (Ali-Azouaou, 2016).

6.4. Pathologies liées au stress oxydant

Le stress oxydant est un phénomène qui touche toutes les cellules de l'organisme. Il est lié à la production excessive de radicaux libres. Lorsque ces radicaux libres ne sont pas neutralisés par nos défenses antioxydantes, ils peuvent causer des problèmes tels que des anomalies dans l'expression des gènes, des perturbations des récepteurs membranaires, la prolifération ou la mort cellulaire, des troubles immunitaires, la mutagenèse et le dépôt de protéines ou de lipofuscine dans les tissus (Prasad, 2017).

Avec l'âge, une dégradation générale de toutes les fonctions physiologiques se produit, rendant l'organisme plus vulnérable à certaines maladies comme l'inflammation, le diabète de type 2, l'athérosclérose et les maladies neurodégénératives comme la maladie d'Alzheimer, de Parkinson ou la maladie de Charcot (Favier, 2006).

Le stress oxydatif joue également un rôle clé dans divers processus de cancérogenèse. Des recherches ont montré qu'une accumulation excessive des ERO peut favoriser le cancer.

En effet les ERO, générés de manière exogène ou endogène, neutralisent d'abord les mécanismes de défense cellulaire tels que les antioxydants. Le déséquilibre dynamique causé par les ERO entraîne généralement des lésions de l'ADN. Lorsqu'elles ne sont pas correctement réparées ou que la réparation est incomplète, ces lésions peuvent s'accumuler, augmentant ainsi le risque de développement du cancer. Aussi, les métastases cancéreuses étant la principale cause de mortalité liée au cancer, de nombreuses preuves suggèrent que les cellules cancéreuses hautement métastatiques contiennent des niveaux élevés de ERO. Les antioxydants quant à eux sont capables de supprimer les métastases induites par l'hypoxie des cellules cancéreuses (Prasad, 2017).

**DEUXIEME PARTIE : MATERIEL
ET METHODES**

1. MATERIEL

1.1. Matériel biologique

1.1.1. Plantes

Les feuilles des espèces végétales *Mezoneuron benthamianum* (Baill.) Herend. & Zarucch (UCJ00956), de la famille des Fabaceae, *Annickia polycarpa* (DC) Engl. & Diels (UCJ001189), de la famille des Annonaceae et *Morinda morindoides* (Baker) Milne-Redh (UCJ015334) de la famille des Rubiaceae ont été récoltées dans la végétation sauvage de l'Université Jean LOROUGNON GUEDE Daloa (Côte d'Ivoire) puis identifiées au Centre National Floristique (CNF) d'Abidjan. Ainsi, *M. benthamianum*, *A. polycarpa* et *M. morindoides* ont été récoltées et séchées respectivement dans le mois de décembre 2022, janvier et février 2023.

1.1.2. Lignées cellulaires

Toutes les lignées cellulaires utilisées sont d'origine humaine ; et ont été fournies par American Type Culture Collection (ATCC) (Manassas, Virginie).

Les lignées HCT 116 (carcinome colorectal ATCC-CRL-3488), MDA-MB-231 (adénocarcinome du sein ATCC HTB-26MET) n'exprimant ni les récepteurs à l'œstrogène ni ceux à la progestérone, MCF-7 (adénocarcinome du sein HTB-22) exprimant les récepteurs à l'œstrogène, et la lignée PC-3 (carcinome prostatique ATCC CRL-1435) sont des cellules adhérentes de type épithélial. La lignée THP-1 (leucémie monocyttaire ATCC TIB-202) se cultive en suspension.

Les lignées cellulaires HCT 116, MDA-MB-231 et THP-1, ont été maintenues dans le milieu de culture RPMI 1640 (sigma -Aldrich R2405-500 mL) ; la lignée PC-3 a été entretenue dans le milieu DMEM/F12 (PAN Biotech P04-41550-500 mL), et la lignée MCF-7 dans le milieu DMEM-high glucose (sigma-Aldrich D0819-500 mL). Tous ces milieux ont été supplémentés avec 10 % (V/V) de sérum bovin fœtal (SBV) et de pénicilline + streptomycine (P/S : 10 U/0.1 mg). Les cellules ont été incubées à 37 °C dans un incubateur atmosphérique contenant 5 % de CO₂ et 95 % d'air.

1.2. Matériel technique

Le matériel technique était constitué de :

- Un broyeur (STIHL6) pour la transformation des feuilles des plantes en poudre ;
- Une balance (Kern & Sohn GmbH) pour la pesée des poudres végétales ;

- Un évaporateur rotatif (Büchi) pour évaporer rapidement les solvants organiques à basse température ;
- Un congélateur (Thermo Fisher Scientific) à -150 °C pour conserver les cellules ;
- Un congélateur (Thermo Fisher Scientific) à -20 °C pour conserver les extraits secs de plantes à tester ;
- Un poste de sécurité microbiologique (type II BH 2003) pour assurer la protection du manipulateur (et de toute personne également présente dans le laboratoire) des aérosols pathogènes manipulés sous l'enceinte ;
- Un compteur Countess TM II (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts) pour le comptage des cellules ;
- Un incubateur (PHCBI MCO-171 AICD-PE) contenant du CO₂ humidifié (5 %) ;
- Un agitateur vortex (Cole Parmer V-100) pour mélanger les solutions d'extrait ;
- Un spectrofluorimètre (SAFAS Xenius XC, Monaco) pour la lecture des absorbances (cytotoxicité) ;
- Un bain-marie (Heinrich-Pette-Instituts-Hamburg (HPI)) pour le chauffage des milieux de culture ;
- Du papier Whatman pour la filtration des extraits de plantes ;
- Une pipette multicanaux pour l'ensemencement des cellules dans les puits ;
- Des pipettes Gilson pour les prélèvements ;
- Des plaques de 96 puits pour les tests de cytotoxicité ;
- Un spectrophotomètre pour la lecture des absorbances ;
- Une HPLC (Agilent 1200 Série Gradient) pour l'identification des composés ;
- Un spectromètre de masse (Agilent Accurate Mass QToF 6520) pour identifier et quantifier les composés chimiques ;
- Un cytomètre en flux (BD FACSCanto A, BD Biosciences, USA) pour élucider le type de mort cellulaire ;
- et le logiciel FlowJo 10 (TreeStar Inc.) pour l'analyse des données de cytométrie.

1.3. Réactifs, solvants et autres produits

1.3.1. Réactifs

Les réactifs utilisés étaient :

- Le MTS (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl) -5-(3-carboxymethoxyphenyl) -2-(4-sulfophenyl) -2H-tetrazolium) (Promega Corporation G9682) utilisé pour les tests de viabilité cellulaire ;
- Les réactifs DPPH (2,2- diphényl-1-picrylhydrazyl) (Thermo Scientific Chemicals) et ABTS (acide 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonique) (Thermo Scientific Chemicals) pour les tests antioxydant ;
- Le persulfate de potassium ($K_2S_2O_8$) (Sigma-Aldrich) pour les tests antioxydants.

1.3.2. Solvants

Les solvants utilisés étaient :

- L'acétate d'éthyle (EtOAc) (Sigma-Aldrich) pour les extractions ;
- Le diméthylsulfoxyde (DMSO) (Fluka analytical 41644) pour la dissolution des extraits ;
- L'acétonitrile et l'acide formique pour les analyses HPLC
- L'eau (H_2O) (ultra pure milli-Q) pour la dissolution des extraits ;
- L'éthanol (EtOH) (Sigma-Aldrich) pour la préparation du radical ABTS ;
- Le PBS (solution saline tamponnée au phosphate) (Sigma-Aldrich D8537-500 mL) utilisé comme solution de rinçage pour les passages, et comme diluant du réactif MTS lors des tests de viabilité ;
- Le méthanol (MeOH) (Sigma-Aldrich) pour la préparation du radical DPPH.

1.3.3. Autres produits

Les autres produits étaient :

- L'acide ascorbique 100 % pur (qualité Quali-C®) et l'acide gallique (Thermo Scientific Chemicals) qui ont été utilisés comme témoins positifs dans les tests antioxydants ;
- Le sérum de vœux fœtal (SVF) pour la croissance des cellules ;
- La pénicilline et la streptomycine, deux antibiotiques utilisés pour éviter la contamination des milieux ;
- La trypsine pour la dissociation des cellules ;
- Le milieu RPMI 1640 (Sigma-Aldrich R2405-500 mL) pour la culture des HCT 116, MDA-MB-231, et THP-1 ;
- Le milieu DMEM /F12 (PAN Biotech P04-41550-500 mL) pour la culture des PC-3 ;

- Le milieu DMEM-high glucose (Sigma-Aldrich D0819-500 mL) pour la culture des MCF-7 ;
- Le bleu de trypan utilisé pour le test d'exclusion de colorant pour la viabilité des cellules ;
- L'annexine-V-FITC (BioLegend ref 640906) et l'iodure de propidium (Sigma-Aldrich ref P417) pour le marquage des cellules pour les mesures de cytométrie en flux ;
- et la doxorubicine (anticancéreux de référence) à 1 μ M, utilisée comme substance de référence (témoin positif) pour toutes les lignées.

2. METHODES

2.1. Préparation des extraits

Après la récolte, les feuilles ont été séchées à l'abri du soleil pendant 15 jours puis broyées pour obtenir une poudre fine. Vingt (20) g de poudre de chaque plante ont été macérés séparément dans 250 mL d'acétate d'éthyle pendant 24 h. Les extraits obtenus ont été filtrés sur du papier filtre Whatman, puis le solvant a été éliminé à l'aide d'un évaporateur rotatif jusqu'à l'obtention d'un extrait (Alam *et al.*, 2017). Ces extraits secs ont été conservés au congélateur à -20 °C pour des utilisations ultérieures. Les rendements en pourcentage (%) ont été déterminés par la formule suivante (1) :

$$R = \frac{mf}{mi} \times 100 \quad (1)$$

R : rendement (%)

mf : masse de l'extrait sec (gramme)

mi : masse de la poudre végétale (gramme)

2.2. Culture cellulaire

Les cellules conservées dans un mélange de 90 % SVF et de 10 % DMSO, ont été récupérées du congélateur (-150 °C) et introduites dans un tube contenant du milieu de culture complet puis centrifugées à 200 g pendant 3 min. Ensuite, le surnageant a été éliminé, le culot cellulaire a été repris dans du milieu de culture complet selon la lignée. Le culot a étéensemencé dans une boîte de Pétri pour la culture. Les cellules sont incubées à 37 °C dans un incubateur à 5 % de CO₂, 95 % d'humidité.

Lorsque la confluence des cellules atteint 80 %, les cellules sont détachées à la trypsine. Brièvement, le milieu est d'abord éliminé de la boîte de Pétri, ensuite 5 mL de PBS sont ajoutés pour le rinçage des cellules. Puis, 1 mL de trypsine-EDTA à 0,25 % est ajouté sur les cellules et incubées pendant 2 minutes (sauf pour la lignée THP-1 culture en suspension). Une fois les cellules dissociées les unes des autres, 10 mL de milieu de culture ont été ajoutés pour inactiver l'action de la trypsine. Enfin, 1 mL à 3 mL de la suspension cellulaire en fonction de la lignée sont réensemencées dans une nouvelle boîte contenant 10 mL de milieu de culture frais et remise à l'incubateur à 37 °C (Ali-Azouaou, 2016).

2.3. Evaluation de l'activité cytotoxique

2.3.1. Comptage et ensemencement (jour 0)

Un mélange de 50 µL de suspension cellulaire et de 50 µL du bleu de Trypan a été déposé sur une lame de comptage. L'appareil de comptage Countess TM II a permis d'obtenir le nombre de cellules totales, vivantes et mortes. Le pourcentage de viabilité a ensuite permis de calculer les concentrations cellulaires. Ainsi, 20 000 cellules/puits pour les lignées HCT 116, PC-3, MDA-MB et MCF-7, et 50 000 cellules/puits pour la lignée THP-1 ont été ensemencées dans les plaques de 96 puits en raison d'un volume de 100 µL/puits. Trois puits ont été laissés vides sur chaque plaque pour le contrôle (puits avec uniquement du MTS correspondant au blanc). Les plaques ont été ensuite incubées à 37 °C pendant 24 heures.

2.3.2. Préparation de solutions stocks pour le traitement des cellules (jour 1)

Dix milligrammes (10 mg) des trois plantes ont été dissous dans un mélange de DMSO et d'eau milli-Q (1 :1, V/V) pour obtenir une solution stock de 1 mL à une concentration de 10 mg/mL. Par la suite, des solutions diluées ont été préparées dans le milieu de culture à une concentration 2X (de 400 µg/mL à 0,002 µg/mL). Pour le premier point de gamme, soit une concentration 2X à 400 µg/mL, 24 µL de la solution mère à 10 mg/mL ont été ajoutés à 576 µL de milieu de culture. Ensuite des dilutions au tiers ont été réalisées pour les points suivants : 200 µL de concentration 400 µg/mL ajoutés à 400 µL de milieu de culture pour préparer une seconde concentration de 133 µg/mL, 200 µL de concentration 133 µg/mL ajoutés à 400 µL de milieu de culture pour préparer une seconde concentration de 44,33 µg/mL, etc. Les cellules ont été traitées avec une gamme de concentrations de l'extrait comprise entre 200 µg/mL et 0,001 µg/mL (concentration finale) par ajout de 100 µL des dilutions 2X dans les puits contenant 100 µL de cellules (20000 cellules /puits). Pour les cellules non traitées (témoin),

100 μL de milieu de culture ont été ajoutés dans chaque puits (contrôle positif de croissance) puis incubées pendant 24 h.

Pour vérifier l'effet du DMSO sur les cellules, la solution de resuspension des extraits (DMSO/H₂O) a subi les mêmes dilutions

La figure 23 présente le schéma de la préparation des solutions stocks et des dilutions décimales des extraits ainsi que de la gamme DMSO/H₂O.

Pour les cellules non traitées (témoin), 100 μL de milieu de culture ont été ajoutés dans chaque puits (contrôle positif de croissance) comme décrit par Ali-Azouaou (2016).

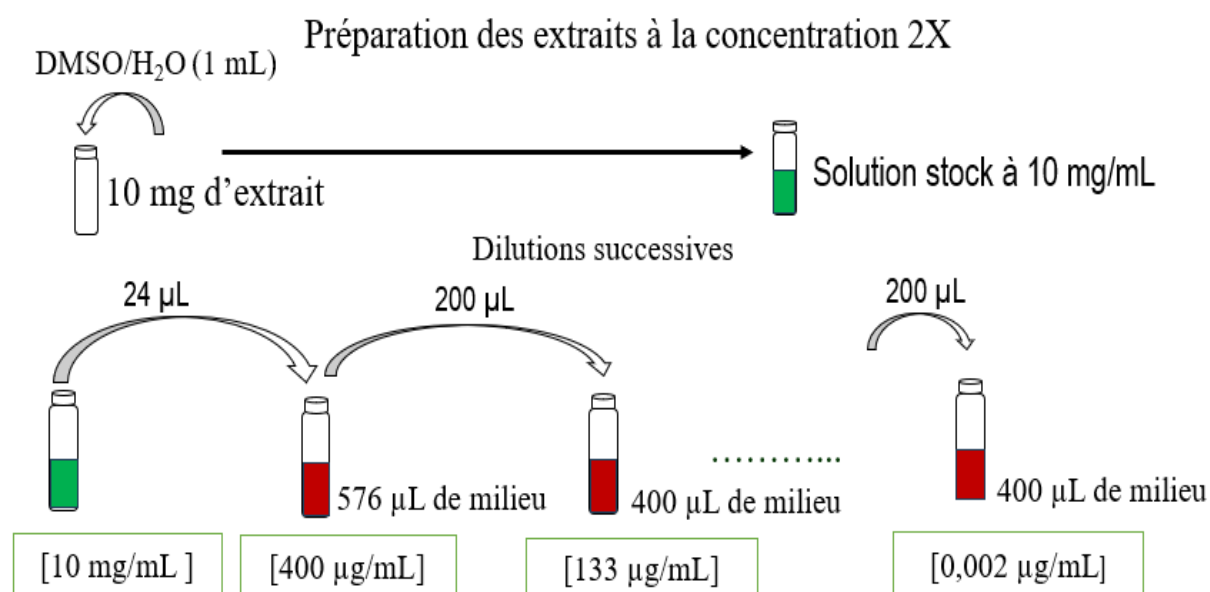


Figure 23 : Schéma de la préparation des solutions stocks et des dilutions décimales des extraits et de la gamme DMSO/H₂O.

La doxorubicine, une substance anticancéreuse de référence dont la CI₅₀ est déterminée à 1 μM a été utilisée comme contrôle positif de toxicité. La figure 24 présente la méthode de préparation de la doxorubicine à 1 μM .

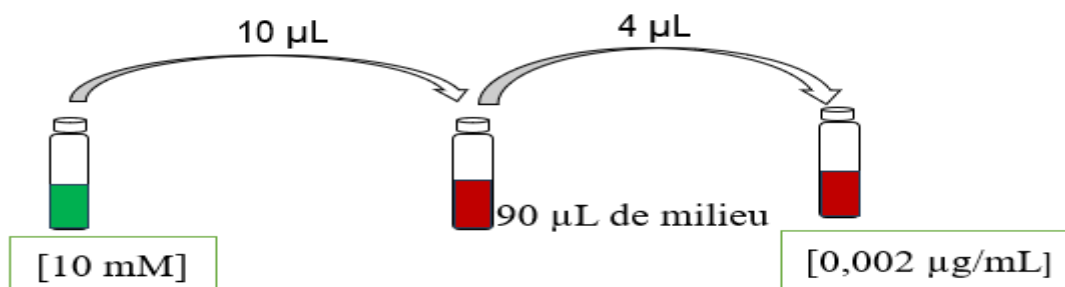


Figure 24 : Méthode de préparation de la doxorubicine à 1 μM .

Après traitement, les cellules ont été observées au microscope puis incubées pendant 24 h à 37 °C avant la réalisation du test MTS.

2.3.3. Evaluation de la viabilité cellulaire par le MTS (jour 2)

La cytotoxicité a été évaluée avec le kit CellTiter96® AQueous One Solution Reagent (Promega, Madison, Wisconsin) selon les recommandations du fabricant.

Principe :

Le test de prolifération cellulaire CellTiter 96® AQueous One Solution est une méthode colorimétrique permettant de déterminer le nombre de cellules viables dans les tests de prolifération, de cytotoxicité ou de chimiosensibilité. Il contient un composé tétrazolium [3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl) -5-(3-carboxyméthoxyphényl) -2-(4-sulfophényl) -2H-tétrazolium, sel interne ; MTS] et un réactif de couplage électronique (phénazine éthosulfate ; PES). Le PES présente une stabilité chimique améliorée, ce qui lui permet d'être combiné avec le MTS pour former une solution stable. En présence de cellules vivantes et métaboliquement actives, le éthosulfate de phénazine dans le réactif MTS peut être bio-réduit par les enzymes déshydrogénases dépendantes du NADPH. Le taux de prolifération des cellules peut être déterminé à partir de la quantité de sel de tétrazolium hydrosoluble-1 formé.

L'absorbance est mesurée à l'aide d'un lecteur de plaques à 96 puits entre 490 et 500 nm. La quantité de produit formazan mesurée est directement proportionnelle au nombre de cellules vivantes en culture (Barltrop *et al.*, 1991). La figure 25 montre la structure du composé MTS et le formazan.

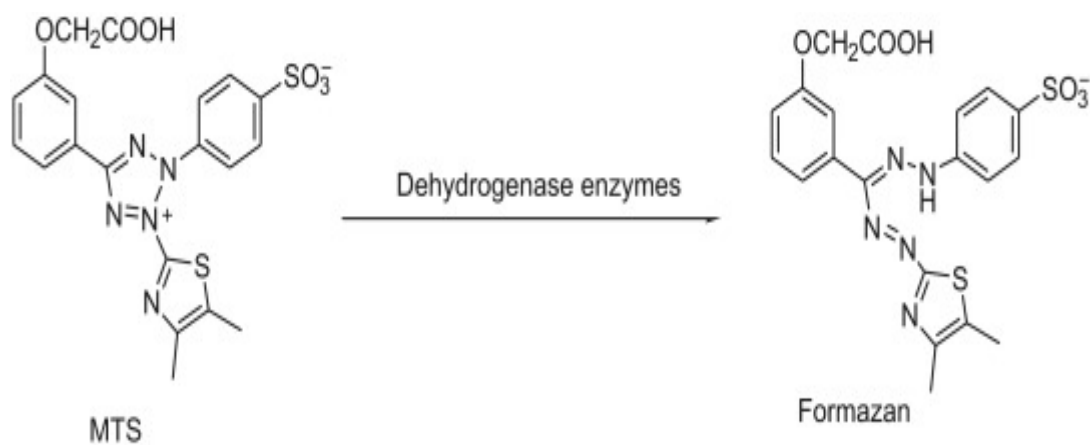


Figure 25 : Structure du MTS et de son produit formazan

Protocole :

Au deuxième jour, pour les cellules adhérentes, 200 μ L de surnageant présent dans les puits ont été d'abord retirés et 100 μ L du mélange MTS/PBS (1 : 9, le blanc) ont été ajoutés dans les puits y compris les trois puits qui ne contiennent pas de cellules (le blanc). Quant aux cellules en suspension (THP-1), 100 μ L du mélange MTS/PBS (1 : 9) ont été ajoutés dans les puits sans avoir retiré le surnageant. Les plaques ont été incubées à 37 °C pendant environ 1 h (expérience stoppée selon l'intensité de la coloration). Elles ont été retirées puis l'absorbance des plaques a été mesurée à 490 nm au spectrophotomètre. La quantité de formazan mesurée par absorbance à 490 nm est proportionnelle au nombre de cellules vivantes. Ainsi, le MTS initialement jaune prend une teinte orange foncé lorsqu'il entre en contact avec les cellules vivantes pour former le formazan (Ali-Azouaou, 2016). Dans la figure 26, on peut voir un exemple de plaque obtenue après incubation avec le MTS.

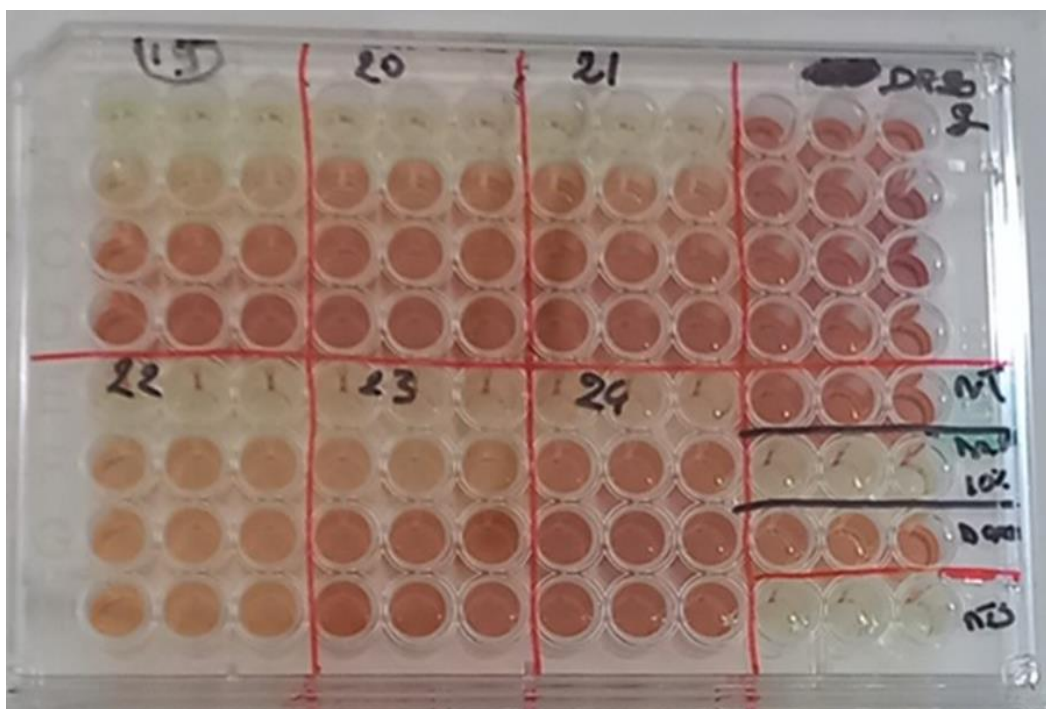


Figure 26 : Photo d'une plaque de 96 puits traitée avec du MTS (Photo Tanoh).

Plus l'intensité de coloration est importante (orange foncé) et plus il y a de cellules vivantes dans le puits ; à l'inverse, les puits de couleur jaune indiquent une très forte mortalité cellulaire. Par exemple, dans le quadrant marqué 19 (extrait 19), les 3 premiers puits de la première ligne, de coloration jaune indique qu'il y a une forte mortalité cellulaire. Les trois puits de la 2^{ème} ligne, de coloration orange clair montre qu'il y a une mortalité modérée. Par contre les 6 derniers puits de coloration orange foncé, indique qu'il y a une viabilité cellulaire très importante.

Les résultats ont été exprimés en pourcentage de viabilité cellulaire selon la formule (2) suivante (Ali-Azouaou, 2016) :

$$\% Viab = \frac{A_{Echantillon} - A_{Blanc}}{A_{Témoin} - A_{Blanc}} \times 100 \quad (2)$$

% Viab : Pourcentage de viabilité des cellules

$A_{Echantillon}$: Absorbance des cellules traitées avec l'extrait

$A_{Témoin}$: Absorbance des cellules non traitées

A_{Blanc} : Absorbance du mélange PBS/MTS dans les puits sans cellule (MTS).

2.4. Mécanisme d'action des extraits par cytométrie en flux

Principe de la cytométrie :

La cytométrie en flux est une technique permettant l'étude individuelle des paramètres physiques et biologiques des cellules présentes dans un prélèvement. Son principe est basé sur les phénomènes optiques engendrés après le passage des cellules une à une devant différents lasers ; et des détecteurs captent les signaux émis par chaque cellule.

- Dans un premier temps, des phénomènes optiques permettent une analyse des caractéristiques physiques de chaque cellule. Ainsi, on peut obtenir des informations sur la taille, la diffusion à 90 °C (Forward Scatter, FSC), la forme et la granularité des cellules (Side Scatter, SSC) (Voirin-Mathieu, 2018).

- Dans un second temps, la lumière du laser va également exciter des fluorochromes préalablement couplés à des marqueurs de cellule, exemple l'annexin-V et l'iodure de propidium. Il est possible de détecter de façon très précise des cellules vivantes, cellules apoptotiques et cellules nécrotiques (Pezet, 2015).

Protocole :

Pour la suite des expérimentations, la lignée cellulaire HCT 116 a été choisie comme modèle cellulaire en raison de sa grande sensibilité à au moins deux des extraits testés. Les extraits concernés ont également eu des valeurs de CI_{50} les plus basses sur la majorité des lignées cellulaires cibles de cette étude.

Les cellules HCT 116 ont étéensemencées dans des plaques (20 000 cellules/puits) et traitées avec des concentrations de 10 µg/mL, 40 µg/mL, et 100 µg/mL pendant 24 heures avec les extraits acétatiques de *Mezoneuron benthamianum* et *Annickia polycarpa*. Après traitement, les cellules ont été lavées avec du PBS, trypsinées, lavées et remises en suspension dans 100 µL de tampon annexine V. Après centrifugation (5 min 300 g), 50 µL d'une dilution 1/100 d'annexine-V-FITC ont été ajoutés. Après 15 minutes d'incubation à 37 °C, les cellules sont à

nouveau centrifugées ; et le culot repris dans 50 μL de tampon annexine V avant d'être transféré dans un tube de cytométrie contenant 250 μL d'iodure de propidium dilué dans le même tampon. Après 5 min d'incubation, les données de dix mille cellules par condition sont acquises en cytométrie avec le logiciel DIVA (BD) puis analysées avec FlowJo (Uğur *et al.*, 2017).

2.5. Activités antiradicalaires

Cette étude a été réalisée selon deux (02) tests chimiques antiradicalaires à savoir : le test de DPPH (2,2 diphényl-1-picryl-hydrazyle) et le test de l'ABTS (acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique) comme recommandée par Roukia *et al.* (2015).

2.5.1. Test de DPPH

Principe :

Le DPPH est un radical stable et il présente en solution une absorption caractéristique à 517 nm qui lui confère une coloration violette. Cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit par un capteur de radicaux libres (un antioxydant). Le changement de la coloration du violet au jaune pâle est proportionnel au pouvoir antioxydant. Cette réaction se résume par le mécanisme suivant (Figure 27).

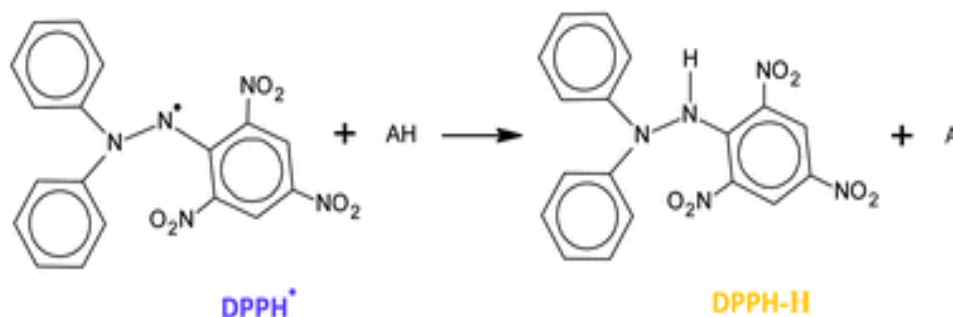


Figure 27 : Mécanisme de réduction du radical DPPH par un antioxydant (Habibou *et al.*, 2019).

Le radical DPPH• (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) est un radical stable qui capte un électron ou un atome d'hydrogène donné par un antioxydant. Cette réaction réduit le DPPH• en une forme non radicalaire (DPPH-H), entraînant une diminution de sa coloration violette mesurable par spectrophotométrie. Ce test reflète ainsi la capacité antioxydante d'un composé.

Protocole :

Une solution mère a été préparée en dissolvant 0,024 g de DPPH dans 100 mL d'éthanol. Le spectrophotomètre UV/Vis a été employé pour mesurer la densité optique (DO) de la solution obtenue à 517 nm. Ensuite, 1680 μL de la solution de DPPH ont été ajoutés avec 1600 μL de l'extrait à différentes concentrations comprises entre 100 $\mu\text{g/mL}$ et 3,12 $\mu\text{g/mL}$. Le

mélange a été incubé pendant 30 minutes à l'abri de la lumière. Ensuite, l'absorbance a été mesurée à 517 nm.

L'acide ascorbique, utilisé comme antioxydant de référence, a été testé aux mêmes concentrations que les extraits. Chaque test a été effectué en *triplicata* ; et les résultats ont été présentés par la moyenne des trois essais \pm Ecart type (Tepe *et al.*, 2005). Le pourcentage d'inhibition (PI) du radical DPPH est calculé selon la formule (3) suivante :

$$\% I = \frac{DO_{\text{Témoin}} - DO_{\text{Echantillon}}}{DO_{\text{Témoin}}} \times 100 \quad (3)$$

% I : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH

$DO_{\text{Témoin}}$: Densité optique du témoin (solution éthanolique de DPPH)

$DO_{\text{Echantillon}}$: Densité optique de l'échantillon testé

La CI_{50} ou concentration inhibitrice à 50 % (aussi appelée Concentration Efficace CE_{50}), est la concentration de l'échantillon nécessaire pour neutraliser 50 % des radicaux libres. Elle a été déterminée graphiquement par les régressions linéaires des graphes obtenus à partir des pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations. Plus les valeurs CI_{50} sont faibles, plus l'activité antioxydante du produit testé est importante.

2.5.2. Test de l'ABTS

Principe :

En réagissant avec le persulfate de potassium ($K_2S_2O_8$), l'ABTS (acide 2,2'-azino-bis(3éthylbenz-thiazoline-6-sulfonique) forme le radical ABTS, de couleur bleue à verte. L'ajout d'antioxydants va réduire ce radical en donnant un H, et provoquer la décoloration du mélange. La décoloration du radical mesurée par spectrophotométrie à 734 nm est proportionnelle à la concentration en antioxydants (Marc *et al.*, 2004). La figure 28 présente le mécanisme d'action du radical $ABTS^{\bullet+}$ par un antioxydant.

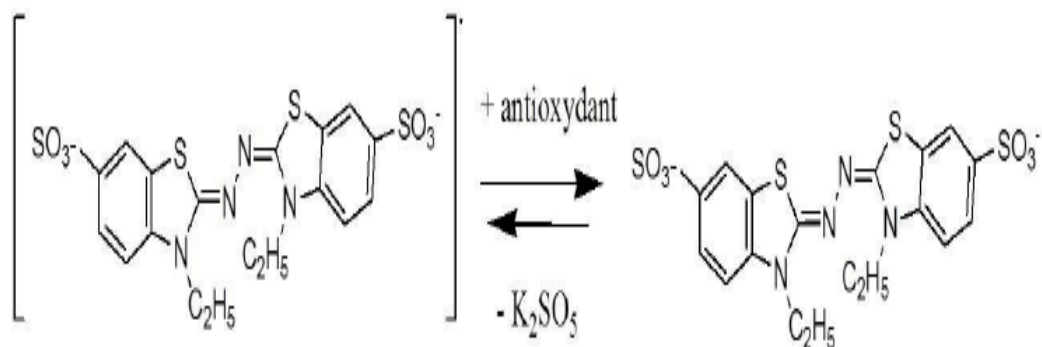


Figure 28 : Mécanisme de réduction de l'ABTS en présence de Persulfate de potassium ($K_2S_2O_8$) par un antioxydant (AOH) (Besnard, 2017).

Le persulfate de potassium ($K_2S_2O_8$) oxyde l'ABTS (2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)) en radical $ABTS^{\bullet+}$, un cation stable de couleur bleue-verte. Ce radical est utilisé ensuite pour évaluer l'activité antioxydante d'un composé, qui le réduit en sa forme neutre, entraînant une décoloration mesurable par spectrophotométrie.

Protocole :

Une quantité de 0,038 g d'ABTS a été préalablement dissoute dans 10 mL d'eau avant d'y ajouter 0,0067 g de persulfate de potassium. Le mélange obtenu a été conservé à l'abri de la lumière et à température ambiante pendant 12 h. Par la suite, il a été dilué avec de l'éthanol afin d'obtenir une absorbance de 0,7 à 734 nm.

Les extraits ont été préparés dans une gamme de concentration comprise entre 200 $\mu\text{g/mL}$ et 12,5 $\mu\text{g/mL}$. L'activité antioxydante a été mesurée en ajoutant 2 mL de la solution radicalaire $ABTS^+$ dans chacune des dilutions de l'extrait. Les dilutions ainsi préparées sont conservées à l'abri de la lumière, à la température ambiante pendant 10 mn.

L'acide gallique utilisé comme antioxydant de référence, a été préparé et testé aux mêmes concentrations que les extraits (Shui & Leong, 2002). La lecture de l'absorbance a été faite au spectrophotomètre UV/Vis à 734 nm en utilisant l'éthanol comme blanc. Trois mesures de l'absorbance ont été effectuées pour chaque concentration testée ($n = 3$).

Les résultats (pourcentages d'inhibitions et de CI_{50}) ont été déterminés tels que décrits dans le cas du DPPH.

2.6. Caractérisation chimique des composés des extraits de *Annickia polycarpa* et

Mezoneuron benthamianum

L'identification des composés chimiques présents dans les extraits d'acétate d'éthyle de *A. polycarpa* et *M. benthamianum* s'est faite par le couplage HPLC-PDA-ESI-HRMS/MS.

Principe :

Le chromatographe liquide haute performance (CLHP) a été utilisé, couplé à un spectromètre de masse LCMS-IT-TOF équipé d'un piège à ions (IT), d'un détecteur de temps de vol (TOF) et d'une source d'ionisation par électrospray (ESI). Les spectres de masse ont été enregistrés en mode ionique positif (Seyer, 2011). Le couplage HPLC-PDA-ESI-HRMS/MS permet de séparer et détecter simultanément la masse moléculaire exacte de petites molécules. Il fait ressortir les chromatogrammes, spectres ESI-MS et MS/MS. Il traite les données brutes par le logiciel open-sources (MZmine), génère une liste de formules brutes de données correspondant aux composés présents dans l'extrait brut, puis, à l'aide de la plateforme « Lotus », une base de données de composés naturels, un traitement semi-automatisé des données est effectué afin de ne retenir que pour une formule brute les composés naturels qui lui sont associés en considérant également les informations taxonomiques (Aubert, 2023).

Protocole :

Les échantillons d'extraits bruts ont été préparés pour l'analyse HPLC-PDA-ESI-HRMS/MS par solubilisation dans du méthanol CLHP à une concentration de 10 mg/mL. Les analyses ont été effectuées sur un système Agilent 1200 Serie Gradient HPLC couplé à un spectromètre de masse Agilent Accurate Mass QToF 6520. Toutes les séparations chromatographiques ont été réalisées sur une colonne analytique Upstisphere Strategy C18-3 (55 x 250 mm, Interchim), la taille de particules de 4,6 µm a été utilisée. L'instrument était équipé d'une source d'ionisation par électrospray (ESI) et les spectres MS/MS ont été acquis en mode d'ionisation positive avec une gamme de m/z 50-2000. Les paramètres de la source ont été déterminés comme suit : voltage du capillaire, 3000 V ; débit du gaz réactif à 8 L/min pour une température de 340 °C ; pression de nébulisation, 30 psis et voltage du skimmer, 68 V. Pour la détection des ions parents, une faible énergie de collision a été fixée à 30 eV tandis que la détection de leurs fragments a été menée après une collision à une haute énergie de 120 V. Le volume d'injection était 3 µL, avec un débit de 0,2 mL/min, et une durée de l'analyse de 65 min. La phase mobile suivait un gradient de ratio entre le solvant A (Eau + 0,1 % acide formique) et solvant B (Acétonitrile + 0,1 % acide formique) (Azi, 2024). Les conditions de la séparation des composés des extraits par le système CLHP sont consignées dans les tableaux II et III.

Tableau II : Conditions de la séparation des composés de l'extrait *M. benthamianum* par le système CLHP

Temps (minutes)	Solvant A (%)	Solvant B (%)
0-20	90	10
40	40	60
45-55	0	100
60-65	90	10

Tableau III : Conditions de la séparation des composés de l'extrait *A. polycarpa* par le système CLHP

Temps (minutes)	Solvant A (%)	Solvant B (%)
0-10	80	20
40-50	0	100
55-65	80	20

Analyse statistique

Toutes les expériences ont été réalisées en *triplicat* techniques (3 puits/concentration, reproductibilité intra-expérience), puis en *triplicat* biologiques (n = 3, reproductibilité inter-expérience) ; et les résultats sont exprimés en moyenne \pm erreurs standard des moyennes. La courbe sigmoïde dose-réponse obtenue à partir d'analyses de régression non linéaire (logarithme de l'inhibiteur par rapport à la réponse normalisée) a été obtenue à l'aide du logiciel GraphPad Prism (version 8) pour les tests de cytotoxicité. L'analyse statistique par ANOVA couplée au test multiple de Tukey a été effectuée sur les valeurs des Concentrations inhibitrices à 50 % (CI₅₀) obtenues à partir des courbes de régression non linéaire. Pour les tests antiradicalaire, l'analyse statistique par ANOVA couplée au test multiple de Tukey a été effectuée sur les valeurs des Concentrations inhibitrices à 50 % (CI₅₀) obtenues à partir des droites de régressions linéaires des graphes obtenus sur Excell.

**TROISIEME PARTIE : RESULTATS
ET DISCUSSION**

1. RESULTATS

1.1. Rendements d'extractions

L'extraction à l'acétate d'éthyle de 20 g de poudre des feuilles de chacune des trois plantes de la flore ivoirienne à savoir *M. benthamianum*, *A. polycarpa* et *M. morindoides* a permis d'obtenir des extraits secs avec des rendements respectifs de 5,26 % ; 5,24 % et 3,91 %. L'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de *M. benthamianum*, *A. polycarpa*, ont montré un meilleur rendement.

1.2. Survivance des cellules traitées

Les extraits acétatiques des trois plantes ont eu une toxicité sur toutes les lignées cellulaires mais c'est la lignée HCT 116 qui s'est révélée la plus sensible aux extraits. La figure 29 montre la courbe dose-réponse des trois extraits sur la lignée cellulaire HCT 116. Les extraits de *A. polycarpa* (courbe orange) et de *M. morindoides* (courbe noire) ont montré une cytotoxicité marquée dès la concentration de 0,1 µg/mL, avec une diminution progressive de la viabilité cellulaire, atteignant jusqu'à 90 % de mortalité à 200 µg/mL. En revanche, l'extrait de *M. benthamianum* présente une activité nettement plus faible, la cytotoxicité n'étant observable qu'aux deux plus fortes concentrations testées. Concernant le contrôle DMSO/H₂O, une viabilité de 65 % est observée à la concentration maximale (200 µg/mL), tandis que pour des concentrations inférieures la viabilité avoisine 100 %. Ces résultats indiquent une cytotoxicité dose-dépendante pour certains extraits, avec des profils d'activité variables selon l'espèce végétale.

La doxorubicine, substance anticancéreuse de référence a entraîné 50 % de mort cellulaire à la concentration 1 µM (point rouge sur la courbe).

Ainsi sur la lignée HCT 116, les trois extraits d'acétate d'éthyle se sont montrés toxiques avec une forte toxicité de l'extrait d'acétate d'éthyle de *A. polycarpa*.

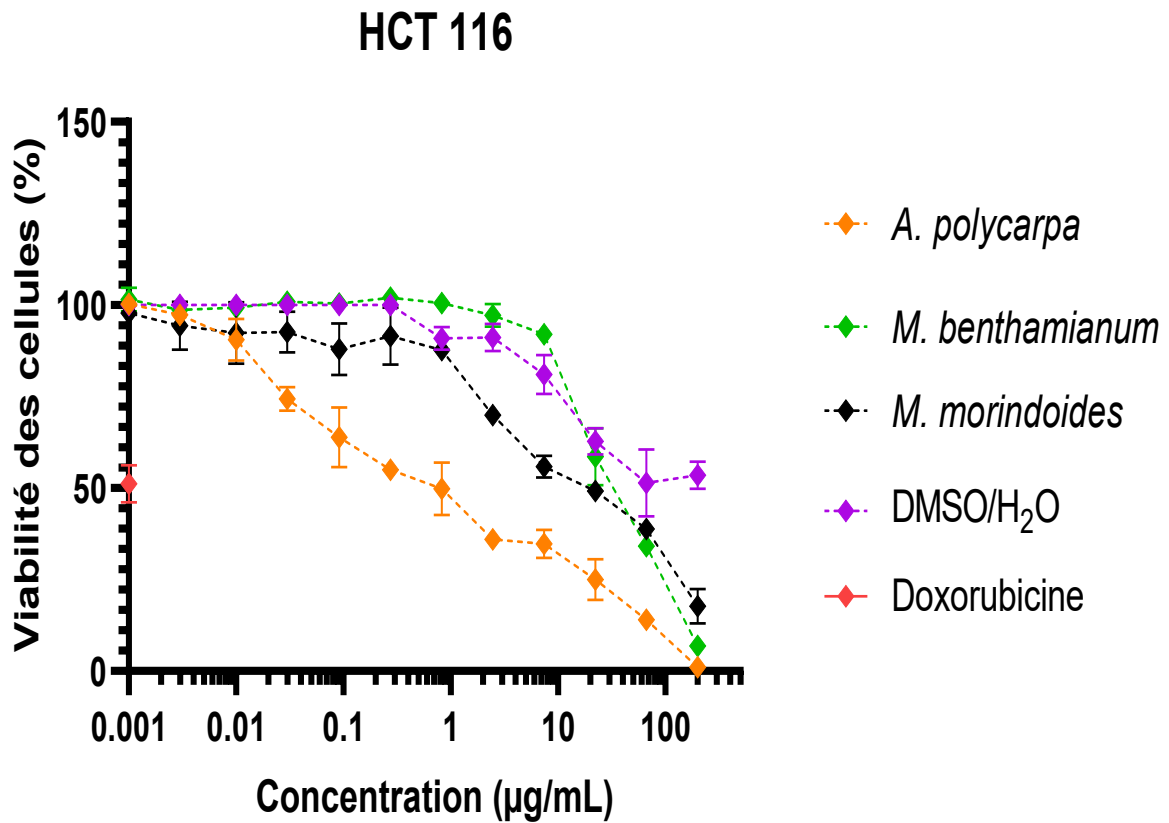


Figure 29 : Courbes dose-réponse des extraits sur la lignée cellulaire HCT 116

Toutes les courbes avec les extraits végétaux présentent une tendance décroissante de la viabilité cellulaire en fonction de l'augmentation des concentrations. La réduction la plus marquée de la viabilité a été observée avec l'extrait *Annickia polycarpa*. A l'inverse, l'extrait *Mezoneuron benthamianum* a induit la diminution la plus faible.

Les extraits de *A. polycarpa* (courbe orange) et de *M. benthamianum* (courbe verte) ont montré une cytotoxicité marquée dès 20 $\mu\text{g/mL}$, avec une réduction progressive de la viabilité cellulaire, atteignant jusqu'à 90 % de mortalité à 200 $\mu\text{g/mL}$. En revanche, l'extrait de *M. morindoides* s'est révélé nettement moins cytotoxique, la diminution de la viabilité n'étant perceptible qu'à la concentration la plus élevée. Pour le contrôle DMSO/H₂O, une viabilité de 85 % a été observée à 200 $\mu\text{g/mL}$, tandis qu'à des concentrations inférieures, les cellules sont restées totalement viables (100 %). La doxorubicine (point rouge sur la courbe) à 1 μM a entraîné 50 % de mortalité cellulaire. La figure 30 illustre les courbes dose-réponse des extraits testés sur la lignée cellulaire MDA-MB-231.

Sur la lignée MDA-MB-231 les extraits *A. polycarpa* et *M. benthamianum* se sont montrés plus toxiques par rapport à l'extrait de *M. morindoides*.

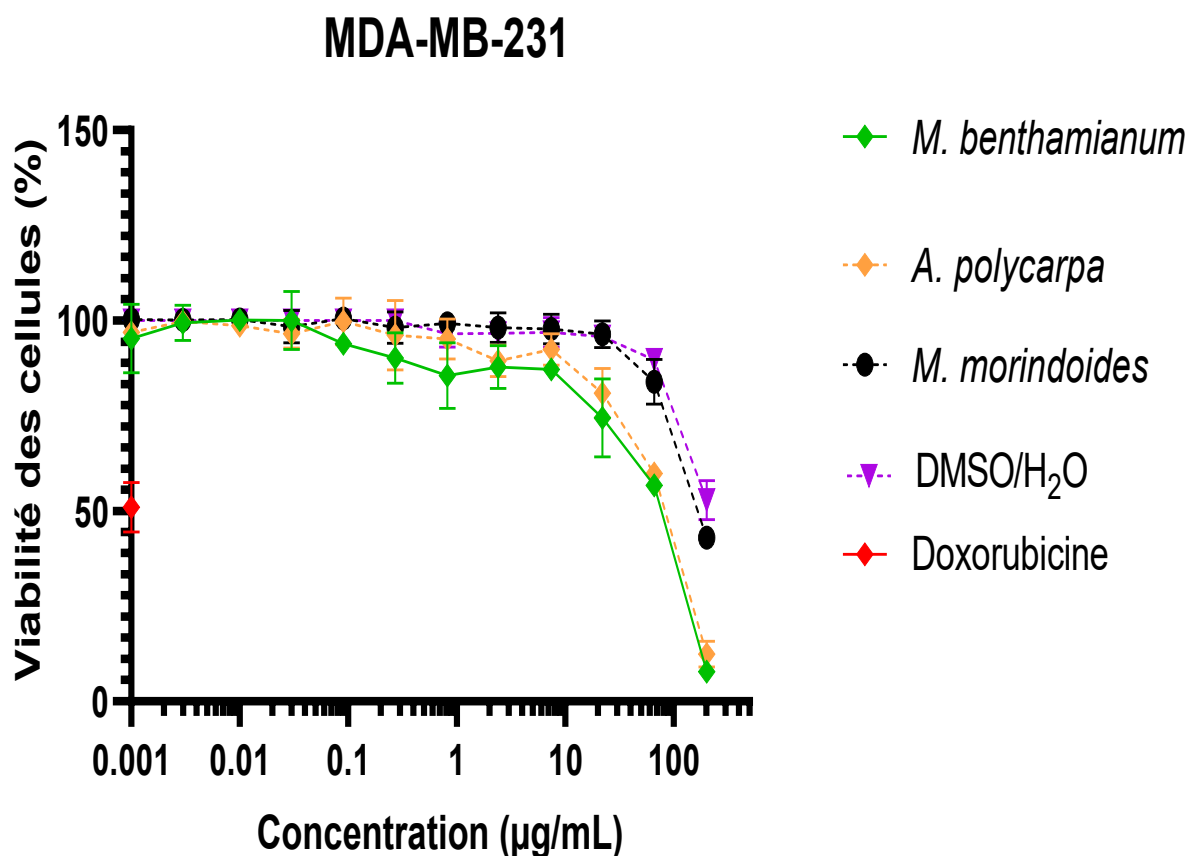


Figure 30 : Courbes dose-réponse des extraits sur la lignée cellulaire MDA-MB-231

Toutes les courbes avec les extraits végétaux présentent une tendance décroissante de la viabilité cellulaire en fonction de l'augmentation des concentrations à partir de 20 $\mu\text{g/mL}$. La réduction la plus marquée de la viabilité a été observée avec les extraits de *Mezoneuron benthamianum* et *Annickia Polycarpa*. A l'inverse, l'extrait *Morinda morindoides* a induit la diminution la plus faible.

La figure 31 présente les courbes dose-réponse des extraits testés sur la lignée cellulaire MCF-7. Les extraits de *A. polycarpa* (courbe orange) et de *M. benthamianum* (courbe verte) ont induit une cytotoxicité notable dès 22,22 $\mu\text{g/mL}$, avec une diminution progressive de la viabilité cellulaire. À la concentration de 200 $\mu\text{g/mL}$, l'extrait de *M. benthamianum* a provoqué une mortalité cellulaire de 90 %, tandis que celui de *A. polycarpa* a entraîné une mortalité de 70 %. À cette même concentration, l'extrait de *M. morindoides* a réduit la viabilité cellulaire d'environ 60 %. En ce qui concerne le contrôle DMSO/H₂O, une viabilité de 70 % a été observée à 200 $\mu\text{g/mL}$, et les cellules sont restées entièrement viables (100 %) à partir de 20 $\mu\text{g/mL}$. La doxorubicine (point rouge sur la courbe) a entraîné 50 % de cellules mortes.

Sur la lignée MCF-7, l'extrait de *A. polycarpa* et *M. benthamianum* se sont montré également plus toxique par rapport à l'extrait de *Morinda morindoides*.

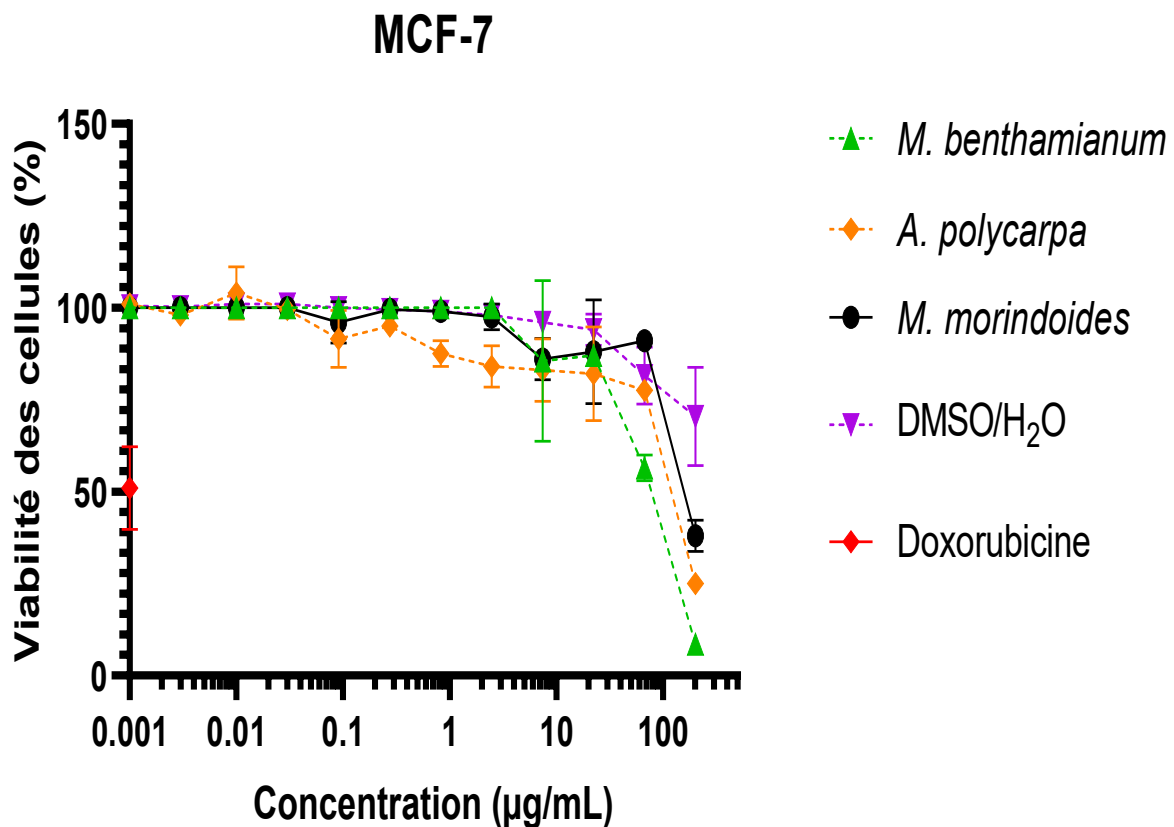


Figure 31 : Courbes dose-réponse des extraits sur la lignée cellulaire MCF-7

Toutes les courbes avec les extraits végétaux présentent une tendance décroissante de la viabilité cellulaire en fonction de l'augmentation des concentrations à partir de 22,22 $\mu\text{g/mL}$. La réduction la plus marquée de la viabilité a été observée avec les extraits de *Mezoneuron benthamianum* et *Annickia polycarpa*. A l'inverse, l'extrait *Morinda morindoides* a induit la diminution la plus faible.

Sur la lignée THP-1, une diminution progressive de la viabilité cellulaire est observée pour les trois extraits testés, avec une cytotoxicité notable à partir de 66,66 $\mu\text{g/mL}$. À cette concentration, la mortalité cellulaire est estimée à environ 30 % pour l'extrait de *M. benthamianum*, 20 % pour celui de *A. polycarpa* et 10 % pour *Morinda morindoides*. Pour le contrôle DMSO/H₂O, une viabilité de 50 % a été observée à 200 $\mu\text{g/mL}$, et les cellules sont restées entièrement viables (100 %) aux concentrations inférieures. La doxorubicine (point rouge sur la courbe) a entraîné 50 % de cellules mortes à 1 μM .

La figure 32 illustre les effets cytotoxiques des extraits végétaux sur la lignée cellulaire THP-1, traduits par les courbes dose-réponse.

Sur cette lignée les cytotoxicités plus marquées ont été observées avec les extraits de *A. polycarpa* et *M. benthamianum*

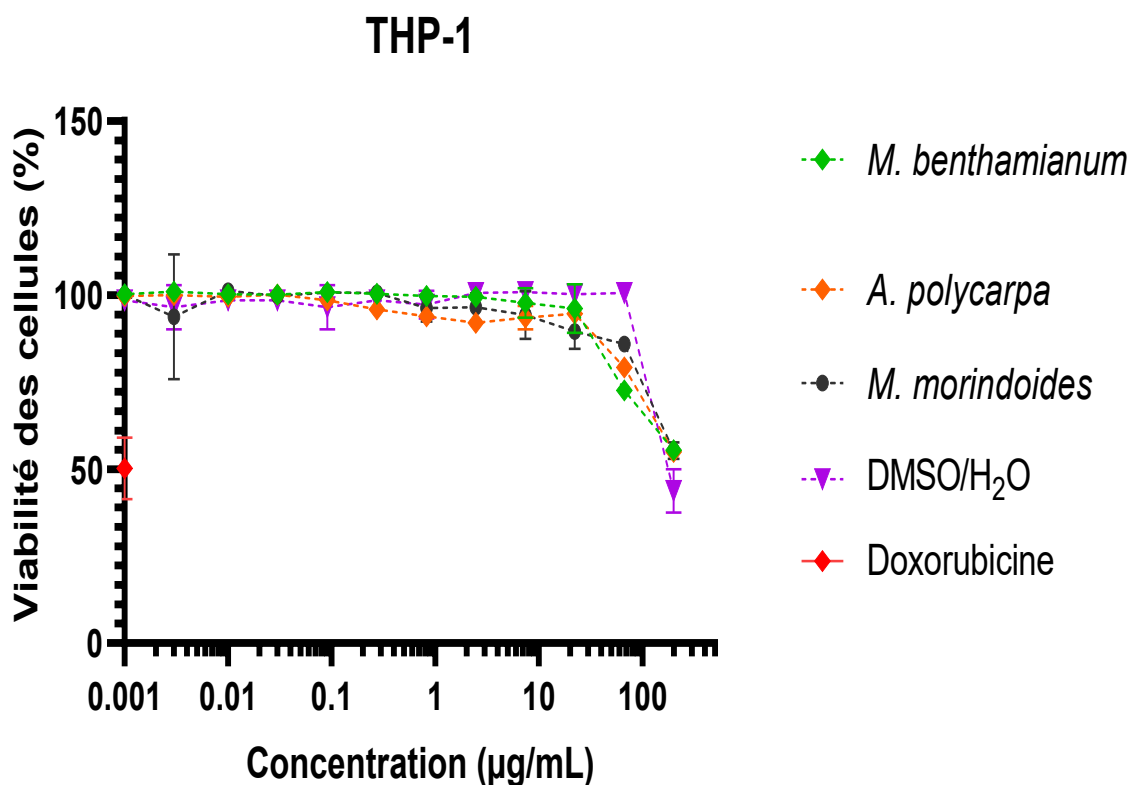


Figure 32 : Courbes dose-réponse des extraits sur la lignée cellulaire THP-1

Toutes les courbes avec les extraits végétaux présentent une tendance décroissante de la viabilité cellulaire en fonction de l'augmentation des concentrations à partir de 66,66 $\mu\text{g/mL}$. La réduction la plus marquée de la viabilité a été observée avec les extraits de *Mezoneuron benthamianum* et *Annickia polycarpa*. A l'inverse, l'extrait *Morinda morindoides* a induit la diminution la plus faible.

Au niveau de la lignée PC-3, une diminution progressive de la viabilité cellulaire est observée, particulièrement marquée avec l'extrait de *M. benthamianum* (courbe verte). Cet extrait induit une baisse de la viabilité cellulaire déjà à des concentrations très faibles dont l'activité atteint une mortalité cellulaire d'environ 95 % à 200 µg/mL. On a une viabilité de 100 % qu'à la dernière concentration (0,001 µg/mL). En revanche, les extraits de *A. polycarpa* (courbe orange) et de *M. morindoides* (courbe noire) n'induisent une baisse significative de la viabilité qu'à partir de 66,66 µg/mL. Cependant, entre 0,001 et 10 µg/mL, la viabilité cellulaire de ces extraits avoisine 100 %. Concernant le contrôle DMSO/H₂O, une viabilité de 75 % est notée à la concentration maximale (200 µg/mL), et se maintient entre 75 % et 100 % à des concentrations faibles. Ces résultats suggèrent une cytotoxicité dose-dépendante, particulièrement prononcée avec *M. benthamianum*. La doxorubicine (point rouge sur la courbe) a entraîné environ 50 % de cellules mortes. La figure 33 illustre les effets cytotoxiques des extraits végétaux sur la lignée cellulaire PC-3.

L'extrait d'acétate d'éthyle de *M. benthamianum* a montré une bonne toxicité sur la lignée PC-3.

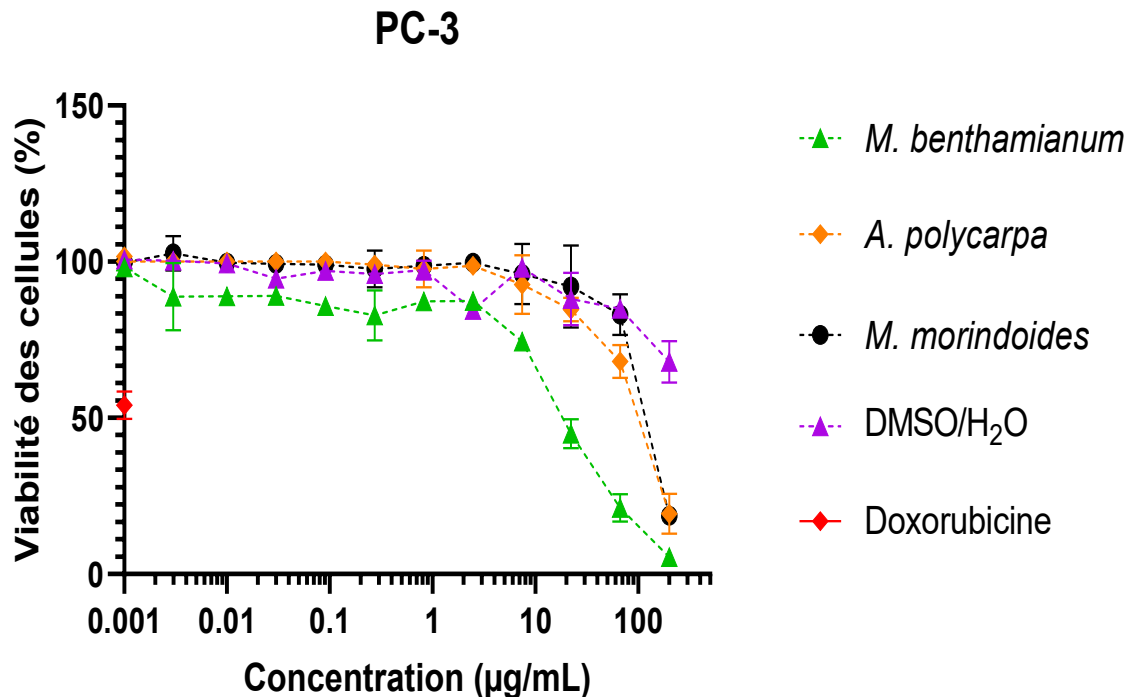


Figure 33 : Courbes dose-réponse des extraits sur la lignée cellulaire PC-3

Les courbes illustrant les activités cytotoxiques des extraits végétaux *Annickia polycarpa* et *Morinda morindoides* présentent une tendance décroissante de la viabilité cellulaire à partir de 66,66 µg/mL. La réduction la plus marquée de la viabilité a été observée avec l'extrait de *Mezoneuron benthamianum* qui évolue dépendamment de la concentration.

Afin de mieux caractériser la cytotoxicité des extraits, les concentrations inhibitrices 50 % (CI₅₀) ont été déterminées pour chaque lignée cellulaire. La doxorubicine, utilisée comme molécule anticancéreuse de référence, a été testée à une concentration de 1 µM (0,543 µg/mL), correspondant à la concentration inhibant 50 % de la viabilité cellulaire. Le Tableau IV récapitule les valeurs de CI₅₀ obtenues pour chacun des trois extraits végétaux sur l'ensemble des lignées testées, permettant ainsi une comparaison quantitative de leur activité cytotoxique. Ainsi, sur la lignée HCT 116, l'extrait *A. polycarpa* a été le plus toxique avec la plus basse valeur de CI₅₀ = 1,61 ± 0,08 µg /mL. Sur la lignée MDA-MB-231, l'extrait le plus actif a été celui de *M. benthamianum* avec une CI₅₀ = 56,14 ± 0,3 µg /mL. Sur la lignée MCF-7, *M. benthamianum* a également une bonne cytotoxicité avec une CI₅₀ déterminée à 44,48 ± 3,4 µg /mL. Sur la lignée THP-1, une toxicité remarquable a été observée avec l'extrait de *A. polycarpa* avec une CI₅₀ évaluée à 169,72 ± 0,51 µg /mL. Enfin, la lignée PC-3 a été très sensible à l'extrait de *M. benthamianum* avec une CI₅₀ = 17,79 ± 0,09 µg /mL. En définitive, sur les 5 lignées, les plus basses valeurs de CI₅₀ ont été obtenues avec l'extrait *A. polycarpa* sur la lignée HCT 116 et avec l'extrait *M. benthamianum* sur 2 lignées cellulaires (HCT 116 et PC-3).

Tableau IV : Concentration inhibitrice (CI₅₀) des extraits sur toutes les lignées cellulaires cancéreuses testées.

Plantes étudiées Lignée cellulaire	<i>M. benthamianum</i> (µg/mL)	<i>A. polycarpa</i> (µg/mL)	<i>M. morindoides</i> (µg/mL)
HCT 116	27,58 ± 0,28 ^c	1,61 ± 0,08 ^a	16,58 ± 0,2 ^b
MDA-MB-231	56,14 ± 0,3 ^a	71,84 ± 0,6 ^b	198,96 ± 0,16 ^c
MCF-7	44,48 ± 3,4 ^a	85,34 ± 0,04 ^b	155,35 ± 0,1 ^c
THP-1	194,50 ± 0,5 ^b	169,72 ± 0,51 ^a	199,66 ± 0,4 ^c
PC-3	17,79 ± 0,09 ^a	65,07 ± 0,06 ^b	92,15 ± 01 ^c

Les valeurs portant les mêmes lettres sur la ligne sont statistiquement égales.

L'ANOVA avec le test multiple de Tukey a montré que la cytotoxicité des extraits n'était pas significativement différente entre eux. Cependant, en comparant la réduction de la viabilité cellulaire des extraits avec le contrôle positif, il apparaît que la doxorubicine (contrôle positif) est plus toxique sur les cinq lignées cellulaires cancéreuses que les extraits.

1.3. Type de mort cellulaire

Dans cette partie, une analyse par cytométrie en flux a été réalisée sur la lignée HCT 116 pour détecter le type de mort cellulaire (apoptose, nécrose, nécroptose). Tout d'abord, nous avons voulu vérifier que la population de cellules était homogène en taille et granulosité. Pour ce faire, des cellules non traitées ont été analysées. La figure 34 représente la distribution des cellules en fonction de leur taille (FSC - Forward Scatter) et de leur granularité/complexité interne (SSC - Side Scatter) : la population est homogène, les cellules sont toutes de taille et granularité similaire.

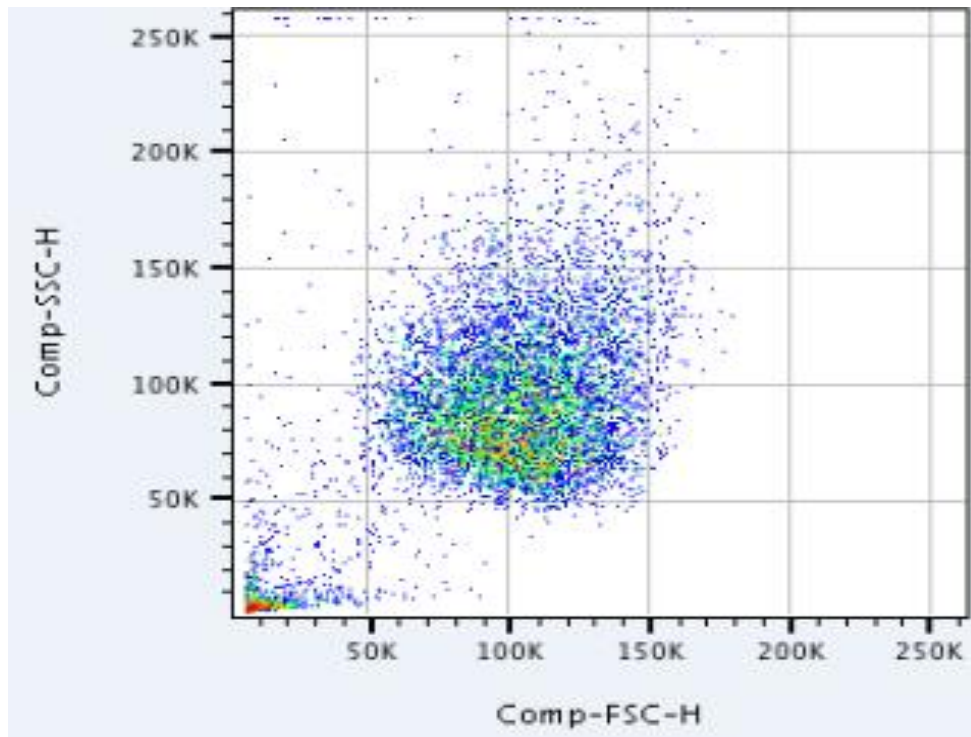


Figure 34 : Cytogramme des cellules en fonction de leur taille (FSC - Forward Scatter) et de leur granularité/complexité interne (SSC - Side Scatter).

Ce cytogramme en flux montre la distribution des cellules selon leur taille (FSC-H) et leur granularité interne (SSC-H). Chaque point bleu correspond à une cellule individuelle. La majorité des cellules forment une population dense au centre du nuage, traduisant une homogénéité relative en taille et complexité. Les points plus dispersés autour suggèrent des cellules de tailles ou granularités variables, possiblement dues à des états physiologiques différents (apoptose, activation, etc.).

Les cellules non traitées ont été marquées avec de l'Annexine V-FITC (COMP-FITC) et de l'iodure de propidium (PI) pour connaître le nombre exact de cellules vivantes et mortes avant de les traiter avec les extraits. La figure 35 montre le marquage des cellules non traitées à l'Annexine V-FITC (COMP-FITC) et l'iodure de propidium. Ce graphique en quadrants permet de distinguer les cellules viables, apoptotiques et nécrotiques en fonction de leur affinité pour l'Annexine V-FITC (marquant l'exposition de la phosphatidylsérine en apoptose précoce) et le PI (indiquant la perte d'intégrité membranaire en apoptose tardive ou en nécrose). Ici, 90,6 % des cellules non traitées étaient vivantes (quadrant Q8) ; 2,7 % des cellules étaient mortes par apoptose précoce (quadrant Q7) ; 3,31 % des cellules étaient mortes par apoptose tardive ou nécrose précoce (quadrant Q6) ; 3,38 % des cellules étaient mortes par nécrose tardive (quadrant Q5).

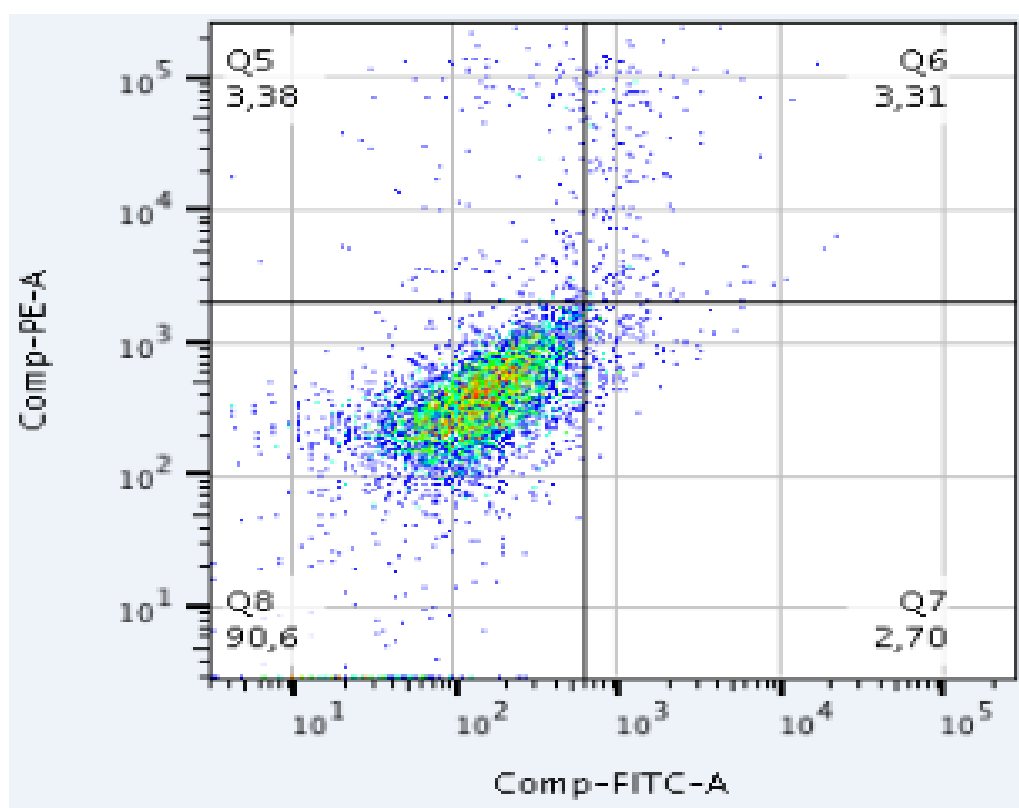


Figure 35 : Cytogramme des cellules non traitées à l'Annexine V-FITC (COMP-FITC) et à l'iodure de propidium

Ce cytogramme en flux illustre le marquage des cellules non traitées à l'Annexine V-FITC (axe X) et à l'iodure de propidium (PI, axes-Y). La majorité des cellules (90,6 %) se trouvent dans le quadrant Q8, indiquant des cellules viables, négatives pour les deux marqueurs. Les quadrants Q5 (3,38 %) et Q6 (3,31 %) montrent respectivement des cellules en nécrose et en apoptose tardive. Le quadrant Q7 (2,70 %) correspond aux cellules en apoptose précoce. Cette distribution confirme que la majorité des cellules sont vivantes en absence de traitement.

Pour déterminer le type de mort induite par les extraits *M. benthamianum* et *A. polycarpa*, il était d'abord nécessaire de vérifier si le processus était de nature apoptotique. À cette fin, les cellules HCT 116 ont été marquées avec de l'annexine V et de l'iodure de propidium après une période de contact de 24 heures avec les extraits, et les résultats ont ensuite été analysés par cytométrie en flux. Le graphique en quadrants des figures 36, 37 et 38 permet de distinguer les cellules viables, apoptotiques et nécrotiques en fonction des concentrations (10 ; 40 et 100 $\mu\text{g/mL}$).

Sur la figure 36, il est observé qu'à 10 $\mu\text{g/mL}$ d'extrait de *A. Polycarpa*, 78,5 % des cellules traitées étaient vivantes (Q8) ; 6,80 % des cellules étaient mortes par apoptose précoce (Q7) ; 6,97 % des cellules étaient mortes par apoptose tardive ou nécrose précoce (Q6) ; 7,74 % des cellules sont mortes par nécrose (Q5).

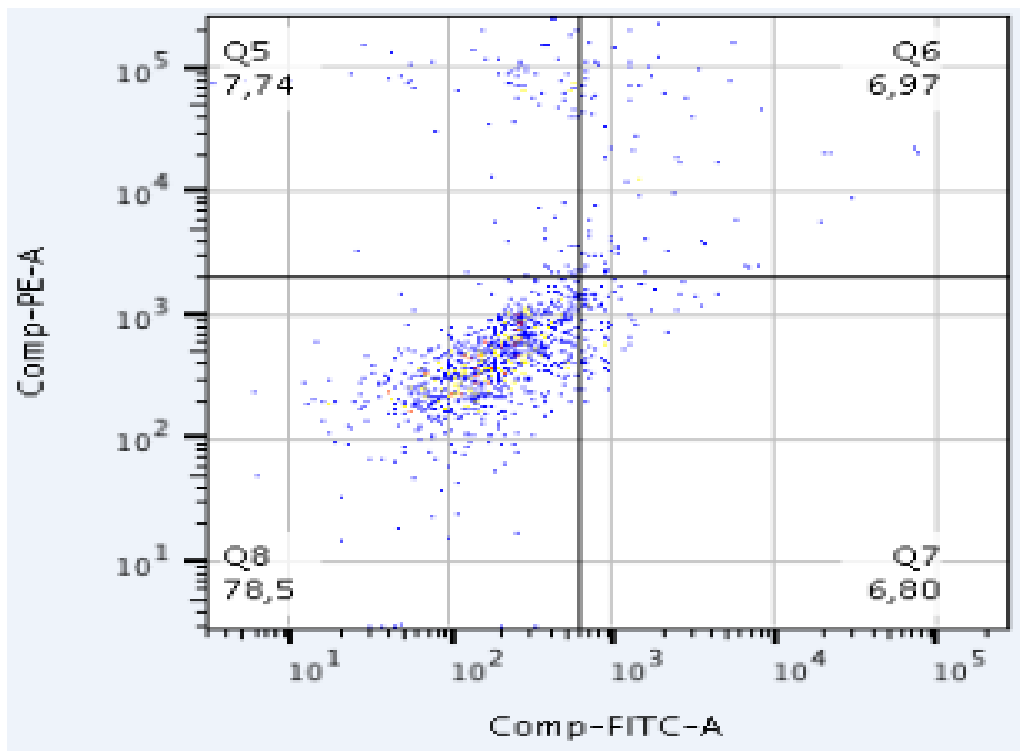


Figure 36 : Cytogramme de marquage AnnexinV-FITC (COMP-FITC) et Iodure de propidium (COMP-PE) à 10 $\mu\text{g/mL}$ d'extrait *Annickia polycarpa*

Ce cytogramme en flux illustre le marquage des cellules à l'Annexine V-FITC (axe X) et à l'iodure de propidium (PI, axe Y) après traitement à 10 $\mu\text{g/mL}$ de *E. polycarpa*. La majorité des cellules (78,5 %) se trouvent dans le quadrant Q8, indiquant des cellules viables, négatives pour les deux marqueurs. Les quadrants Q5 (7,74 %) et Q6 (6,97 %) montrent respectivement des cellules en nécrose et en apoptose tardive. Le quadrant Q7 (6,80 %) correspond aux cellules en apoptose précoce. Cette distribution confirme que la majorité des cellules sont vivantes.

A la concentration de 40 $\mu\text{g/mL}$, 77,1 % des cellules traitées ont montré une viabilité (Q8) ; 3,45 % des cellules traitées ont subi une apoptose précoce (Q7) ; 13,7 % des cellules traitées sont mortes par apoptose tardive ou nécrose précoce (Q6) ; 5,78 % des cellules traitées étaient mortes par nécrose (Q5) (Figure 37).

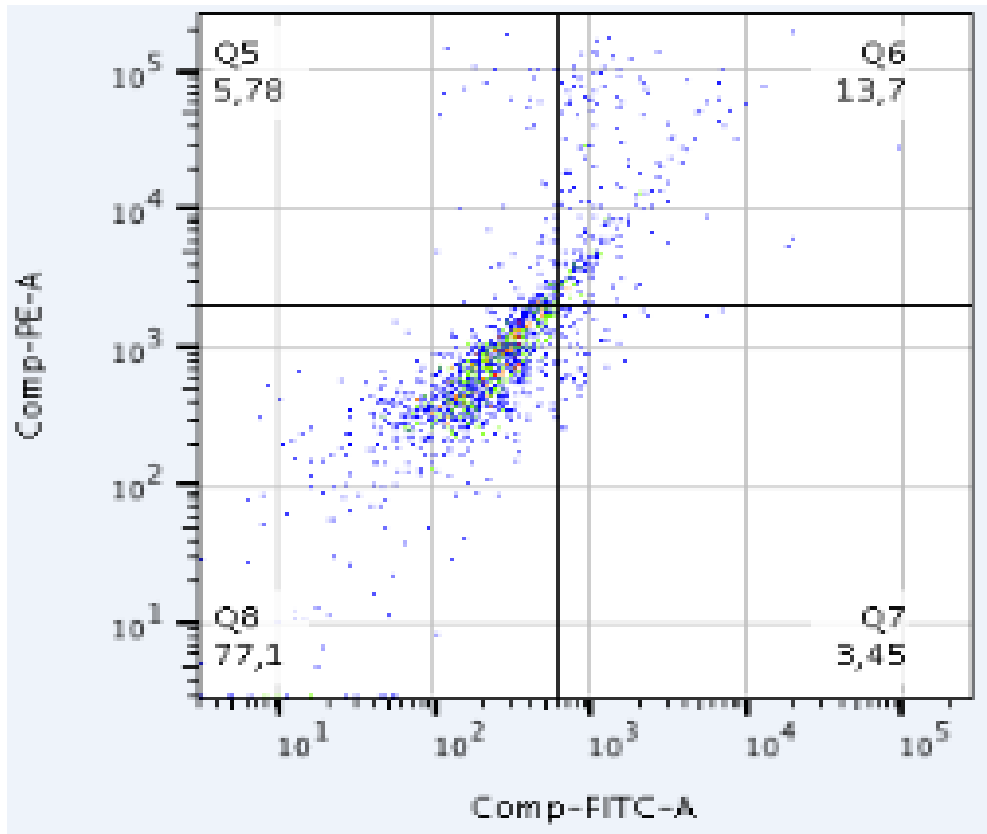


Figure 37 : Cytogramme de marquage AnnexinV-FITC (COMP-FITC) et Iodure de propidium (COMP-PE) à 40 $\mu\text{g/mL}$ d'extrait *Annickia polycarpa*.

Ce cytogramme en flux illustre le marquage des cellules à l'Annexine V-FITC (axe X) et à l'iodure de propidium (PI, axe Y) après traitement à 40 $\mu\text{g/mL}$ de *A. Polycarpa*, la majorité des cellules (77,1 %) se trouvent dans le quadrant Q8, indiquant des cellules viables, négatives pour les deux marqueurs. Les quadrants Q5 (5,78 %) et Q6 (13,7 %) montrent respectivement des cellules en nécrose et en apoptose tardive. Le quadrant Q7 (3,45 %) correspond aux cellules en apoptose précoce. Cette distribution confirme qu'à cette concentration la majorité des cellules sont vivantes.

Enfin, à la concentration de 100 µg/mL, 43,4 % des cellules traitées ont montré une viabilité (Q8), tandis que 8,97 % des cellules traitées ont subi une apoptose précoce (Q7) ; 23,5 % des cellules traitées sont mortes par apoptose tardive ou nécrose précoce (Q6) ; et 24,2 % des cellules traitées étaient mortes par nécrose (Q5) (Figure 38).

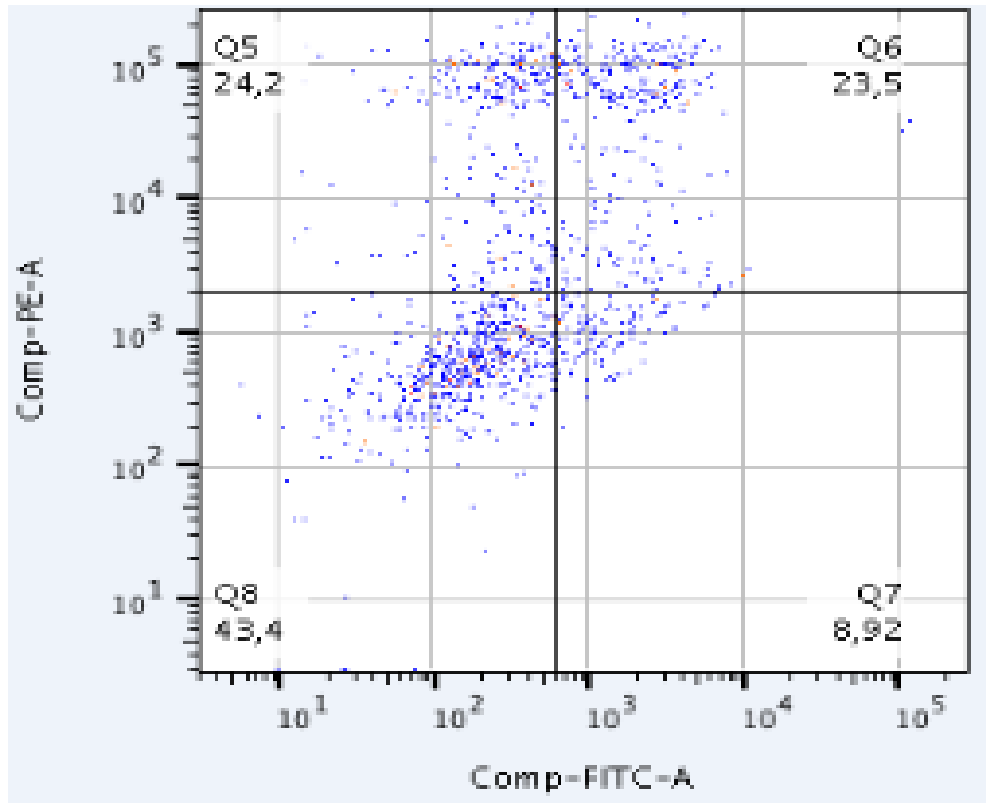


Figure 38 : Cytogramme de marquage AnnexinV-FITC (COMP-FITC) et Iodure de propidium (COMP-PE) à 100 µg/mL d'extrait *Annickia polycarpa*.

Ce cytogramme montre la distribution des cellules traitées avec 100 µg/mL d'extrait de *A. polycarpa*, marquées à l'Annexine V-FITC (axe X) et à l'iodure de propidium (axe Y). Le quadrant Q8 (43,4 %) représente les cellules viables. Le quadrant Q7 (8,92 %) indique les cellules en apoptose précoce, tandis que Q6 (23,5 %) correspond aux cellules en apoptose tardive et Q5 (24,2 %) aux cellules en nécrose. Ces résultats révèlent une induction notable de la mort cellulaire, principalement par apoptose, suite au traitement.

Dans l'extrait *M. benthamianum*, il a été observé qu'à 10 µg/mL, 91,6 % des cellules traitées étaient vivantes (Q8) ; 0,76 % des cellules étaient mortes par apoptose précoce (Q7) ; 2,87 % des cellules étaient mortes par apoptose tardive ou nécrose précoce (Q6) ; 4,75 % des cellules sont mortes par nécrose (Q5) (Figure 39).

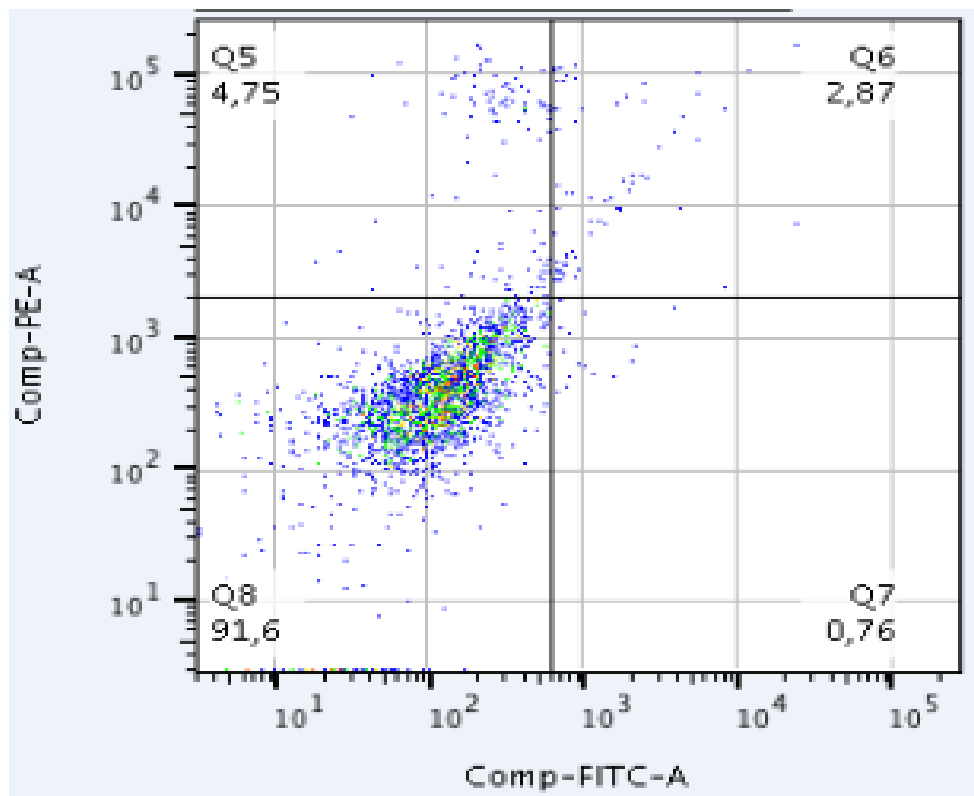


Figure 39 : Cytogramme de marquage AnnexinV-FITC (COMP-FITC) et Iodure de propidium (COMP-PE) à 10 µg/mL d'extrait *Mezoneuron benthamianum*

Ce cytogramme en flux illustre le marquage des cellules à l'Annexine V-FITC (axe X) et à l'iodure de propidium (PI, axe Y) après traitement à 10 µg/mL de *Mezoneuron benthamianum*. La majorité des cellules (91,6 %) se trouvent dans le quadrant Q8, indiquant des cellules viables, négatives pour les deux marqueurs. Les quadrants Q5 (4,75 %) et Q6 (2,87 %) montrent respectivement des cellules en nécrose et en apoptose tardive. Le quadrant Q7 (0,76 %) correspond aux cellules en apoptose précoce. Cette distribution confirme que la majorité des cellules sont vivantes.

À la concentration de 40 $\mu\text{g/mL}$, 84,2 % des cellules traitées ont montré une viabilité (Q8) ; 4,61 % des cellules traitées ont subi une apoptose précoce (Q7) ; 6,78 % des cellules traitées étaient mortes par apoptose tardive ou nécrose précoce (Q6) ; 4,43 % des cellules traitées étaient mortes par nécrose (Q5) (Figure 40).

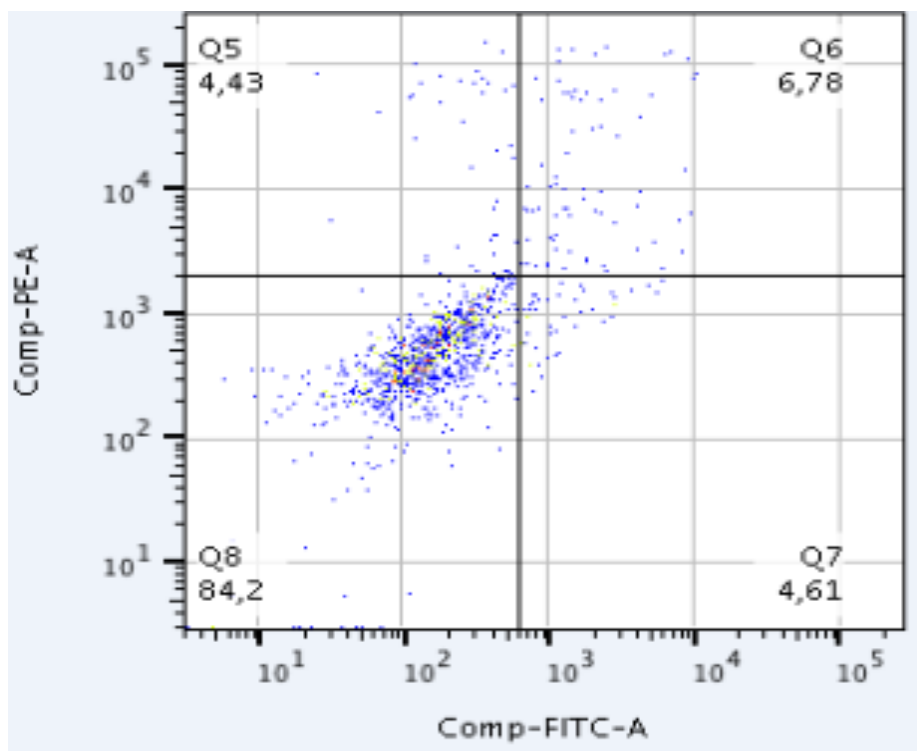


Figure 40 : Cytogramme de marquage AnnexinV-FITC (COMP-FITC) et Iodure de propidium (COMP-PE) à 40 $\mu\text{g/mL}$ d'extrait *Mezoneuron benthamianum*

Ce cytogramme en flux illustre le marquage des cellules à l'Annexine V-FITC (axe X) et à l'iodure de propidium (PI, axe Y) après traitement à 40 $\mu\text{g/mL}$ de *Mezoneuron benthamianum*. La majorité des cellules (84,2 %) se trouvent dans le quadrant Q8, indiquant des cellules viables, négatives pour les deux marqueurs. Les quadrants Q5 (4,43 %) et Q6 (6,78 %) montrent respectivement des cellules en nécrose et en apoptose tardive. Le quadrant Q7 (4,61 %) correspond aux cellules en apoptose précoce. Cette distribution confirme qu'à cette concentration a majorité des cellules sont vivantes.

Enfin, à 100 µg/mL, 76,3 % des cellules traitées ont montré une viabilité (Q8), tandis que 2,29 % des cellules traitées ont subi une apoptose précoce (Q7) ; 12,3 % des cellules traitées étaient mortes par apoptose tardive ou nécrose précoce (Q6) ; et 9,15 % des cellules traitées étaient mortes par nécrose (Q5) (Figure 41).

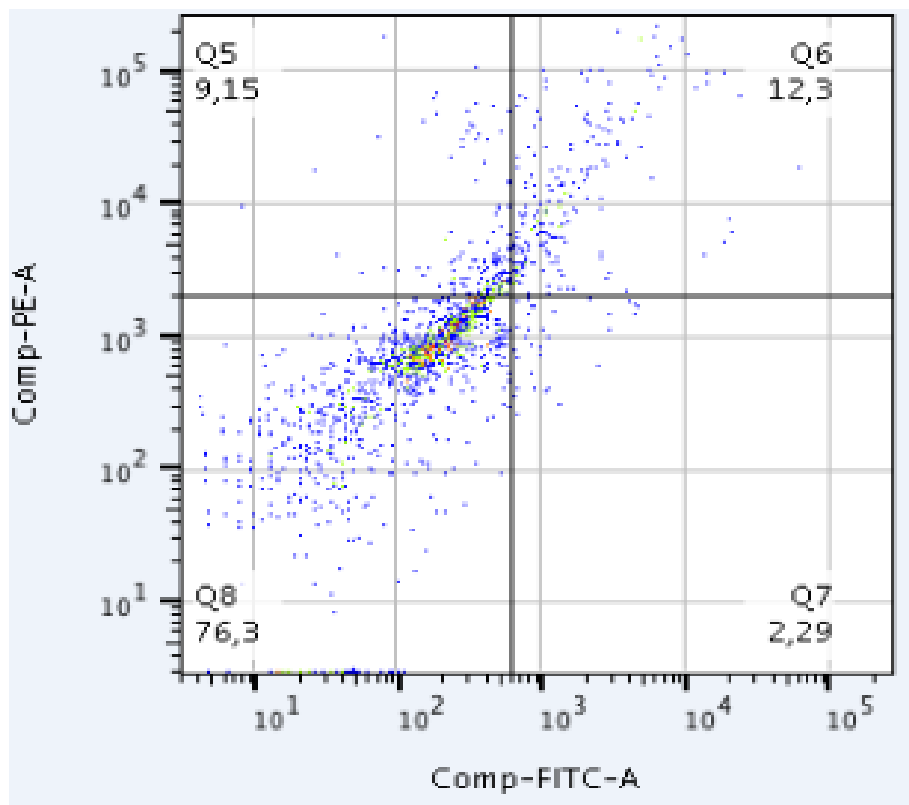


Figure 41 : Cytogramme de marquage AnnexinV-FITC (COMP-FITC) et Iodure de propidium (COMP-PE) à 100 µg/mL d'extrait *Mezoneuron benthamianum*.

Ce cytogramme montre la distribution des cellules traitées avec 100 µg/mL d'extrait de *Mezoneuron benthamianum*, marquées à l'Annexine V-FITC (axe X) et à l'iodure de propidium (axe Y). Le quadrant Q8 (76,3 %) représente les cellules viables. Le quadrant Q7 (2,29 %) indique les cellules en apoptose précoce, tandis que Q6 (12,3 %) correspond aux cellules en apoptose tardive et Q5 (9,15 %) aux cellules en nécrose. Ces résultats révèlent que la majorité des cellules sont vivantes, suite au traitement.

1.4. Potentiel antiradicalaire des extraits les plus actifs

1.4.1. Potentiel antiradicalaire par le test de DPPH

Les extraits *M. benthamianum* et *A. polycarpa* ayant montré une bonne activité cytotoxique respectivement sur les lignées PC-3 et HCT 116 ont été évalué pour leur potentiel antiradicalaire L'évolution des pourcentages d'inhibition du radical DPPH par l'acide ascorbique et les extraits testés à différentes concentrations est présentée sur la figure 42.

L'acide ascorbique a obtenu une inhibition maximale d'environ 99 % à 100 µg/mL. Tandis que le pourcentage d'inhibition maximal obtenue par les extraits était 86 % et 72 % respectivement pour l'extrait *M. benthamianum* et *A. polycarpa* à 100 µg/mL.

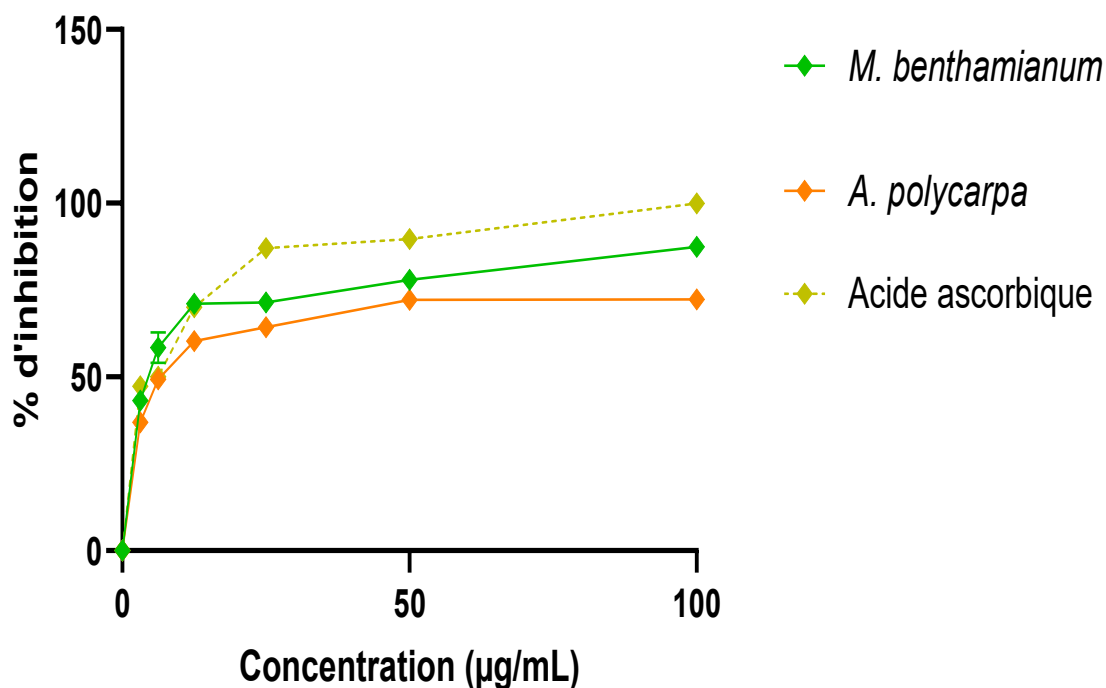


Figure 42 : Evolution des pourcentages d'inhibition du radical DPPH par l'acide ascorbique et les extraits.

Les courbes ont toutes une allure croissante. Les pourcentages d'inhibition avec l'acide ascorbique, *Mezoneuron benthamianum* et *Annickia polycarpa* à 100 µg/mL sont de 99 %, 86 % et 72 % respectivement. A cette concentration-là plus importante inhibition du radical DPPH par les extraits a été obtenue avec l'extrait d'acétate d'éthyle de *Mezoneuron benthamianum*.

Les équations des droites de régression linéaire ci-dessous décrites obtenues à partir des pourcentages d'inhibition du radical ont permis de calculer les valeurs des CI_{50} de l'antioxydant de référence et des extraits testés.

Pour l'acide ascorbique, $Y = 0,6863X + 45,131$

Pour l'extrait de *Mezoneuron benthamianum*, $Y = 0,5582X + 42,199$

Pour l'extrait de *Annickia polycarpa*, $Y = 0,4666X + 37,814$

Ainsi, l'acide ascorbique présentait une CI_{50} de $7,09 \pm 0,3 \mu\text{g/mL}$, celle des extraits acétate d'éthyle des feuilles de *M. benthamianum* et *A. polycarpa* étaient respectivement $13,97 \pm 0,9 \mu\text{g/mL}$ et $26,11 \pm 2,6 \mu\text{g/mL}$. La figure 43 présente les valeurs des CI_{50} de l'acide ascorbique et des extraits testés obtenus.

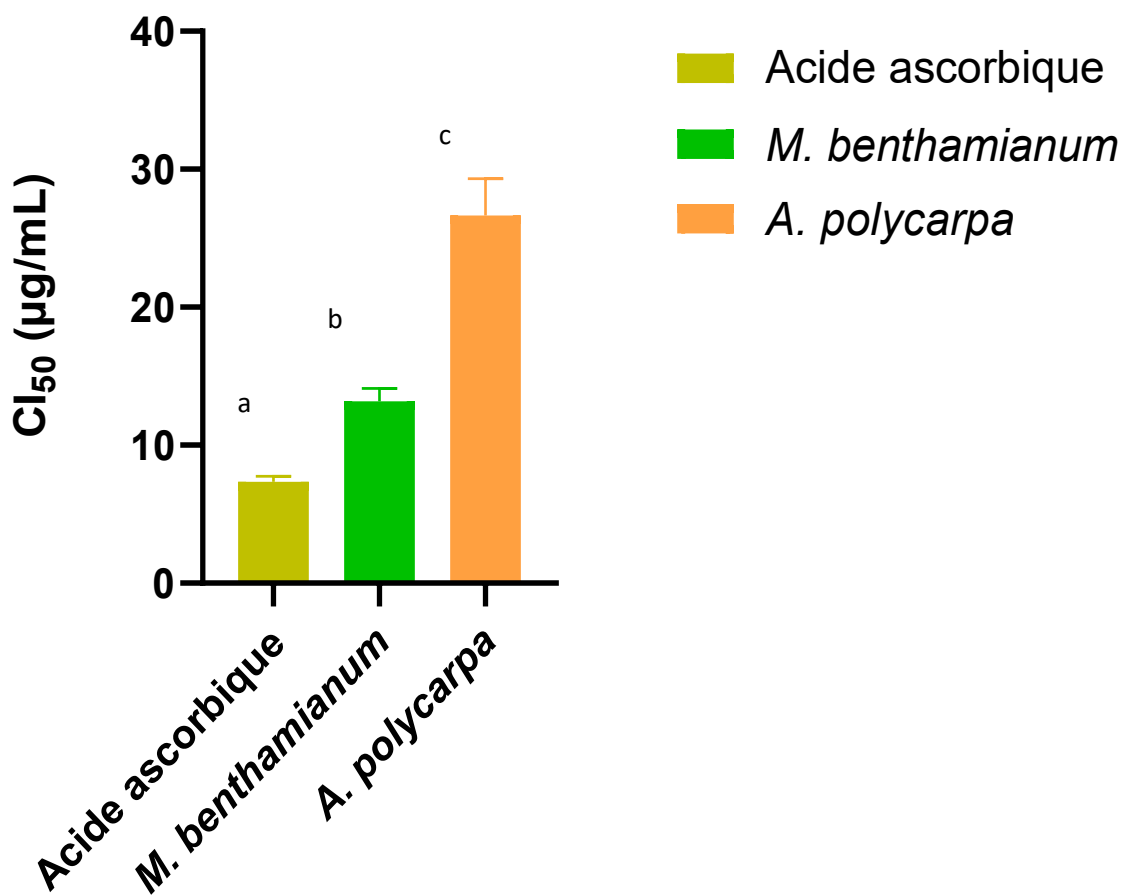


Figure 43 : Histogramme des concentrations inhibitrices 50 % (CI_{50}) de l'acide ascorbique et des extraits

Les lettres a, b et c montrent qu'il y a une différence significative entre les extraits et l'acide ascorbique puis entre les deux extraits avec $P < 0,005$ ($P=0,000$). Parmi les extraits, la plus faible valeur de CI_{50} a été observée avec l'extrait d'acétate d'éthyle de *Mezoneuron benthamianum*.

1.4.2. Potentiel antiradicalaire par le test de l'ABTS

La figure 44 présente l'évolution des pourcentages d'inhibition du radical ABTS par l'acide gallique et les extraits testés à des concentrations comprises entre 200 µg/mL et 12,5 µg/mL. Une inhibition maximale d'environ 96 % a été obtenue avec l'acide gallique à 200 µg/mL. Alors que l'inhibition maximale a été obtenue avec les extraits était 68 % et 62 % respectivement pour *Mezoneuron benthamianum* et *Annickia polycarpa* à 200 µg/mL.

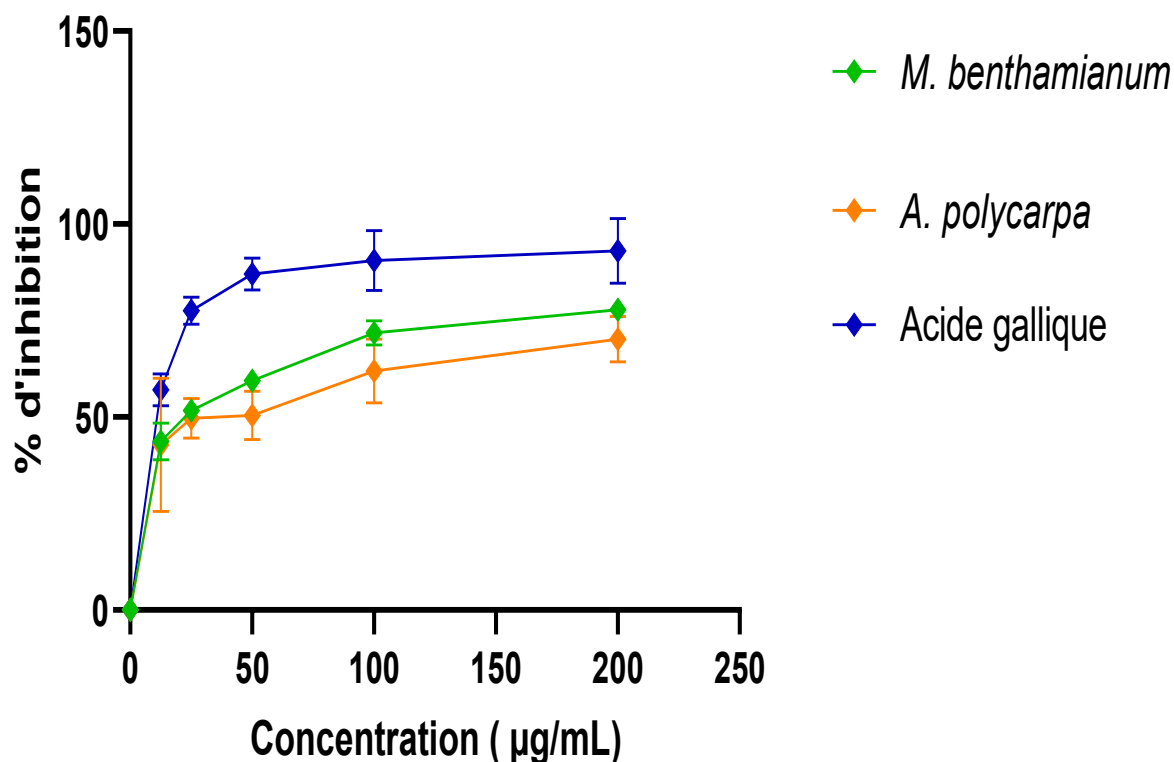


Figure 44 : Evolution des pourcentages d'inhibition du radical ABTS par l'acide gallique et les extraits

Les courbes ont toutes une allure croissante. Les pourcentages d'inhibition avec l'acide gallique, *M. benthamianum* et *A. polycarpa* à 200 µg/mL sont d'environ 96 %, 68 % et 62 % respectivement. A cette concentration, la plus importante inhibition de l'ABTS par les extraits a été obtenue avec l'extrait d'acétate d'éthyle de *M. benthamianum*.

Les CI_{50} ont été également calculées à partir des équations des droites de régression linéaire suivantes :

Pour **Acide gallique**, $Y = 0,3247X + 43,029$

Pour l'extrait de *M. benthamianum*, $Y = 0,2285X + 34,743$

Pour l'extrait de *A. polycarpa*, $Y = 0,2007X + 30,894$

La figure 45 montre les valeurs des CI_{50} de l'acide gallique et des extraits testés qui sont respectivement $21,47 \pm 0,4 \mu\text{g/mL}$; $66,77 \pm 0,9 \mu\text{g/mL}$ et $95,19 \pm 1,54 \mu\text{g/mL}$ respectivement pour l'acide gallique, *M. benthamianum* et *A. polycarpa*.

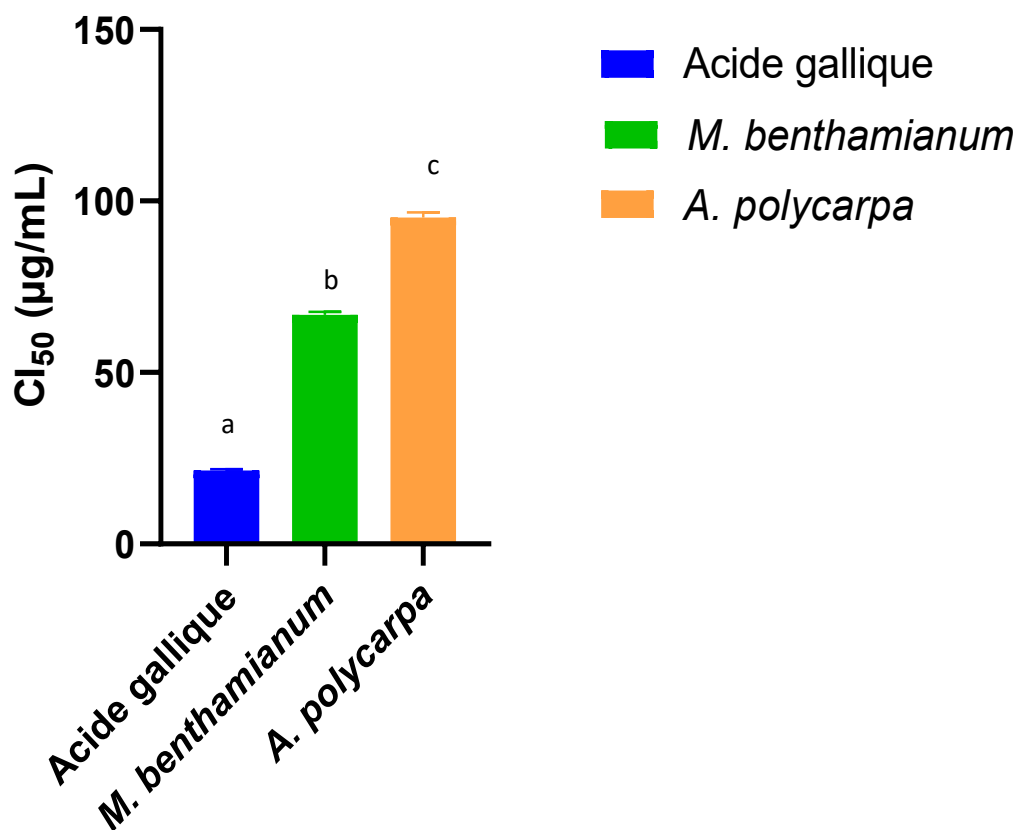


Figure 45 : Histogrammes des concentrations inhibitrices 50 % (CI_{50}) de l'acide gallique et des extraits

Les lettres a, b et c montrent qu'il y a une différence significative entre les extraits et l'acide ascorbique puis entre les deux extraits avec $P < 0,005$ ($P=0,000$). Parmi les extraits, la plus faible valeur de CI_{50} a été observée avec l'extrait d'acétate d'éthyle de *Mezoneuron benthamianum*.

1.5. Composés chimiques des extraits bioactifs

Dans le but d'identifier les molécules de deux extraits d'acétate d'éthyle par HPLC-PDA-ESI-MS/MS, un traitement automatisé des données brutes a été fait à l'aide de la base de données LOTUS. Celui-ci fait ressortir les chromatogrammes, et génère une liste de formules brutes de données correspondant aux composés présents dans l'extrait brut.

1.5.1. Constituants chimiques de l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de *M. benthamianum*

L'identification putative du chromatogramme ressorti en fonction du temps de rétention a été réalisée par comparaison de la formule chimique de composés isolés de *Caesalpinia* spp existant dans la base de données LOTUS. Cette plateforme analytique a pu détecter quinze (15) pics parmi lesquels quatre (4) pics ont pu être identifiés y compris des isomères. La figure 46 présente le chromatogramme des composés de l'extrait d'acétate d'éthyle de *M. benthamianum*.

Les composés identifiés sont principalement des norcassanes et des cassanes furono diterpènes. On peut citer : furano-lactone-cassane isomer, cassane isomer, Trimethoxy-hydroxy-homoisoflavonoid et Furano cassane isomer. Le tableau V présente les molécules identifiées dans l'extrait d'acétate d'éthyle de *M. benthamianum*.

La figure 47 présente le chromatogramme et structures des composés trouvés dans l'extrait d'acétate d'éthyle de *M. benthamianum*.

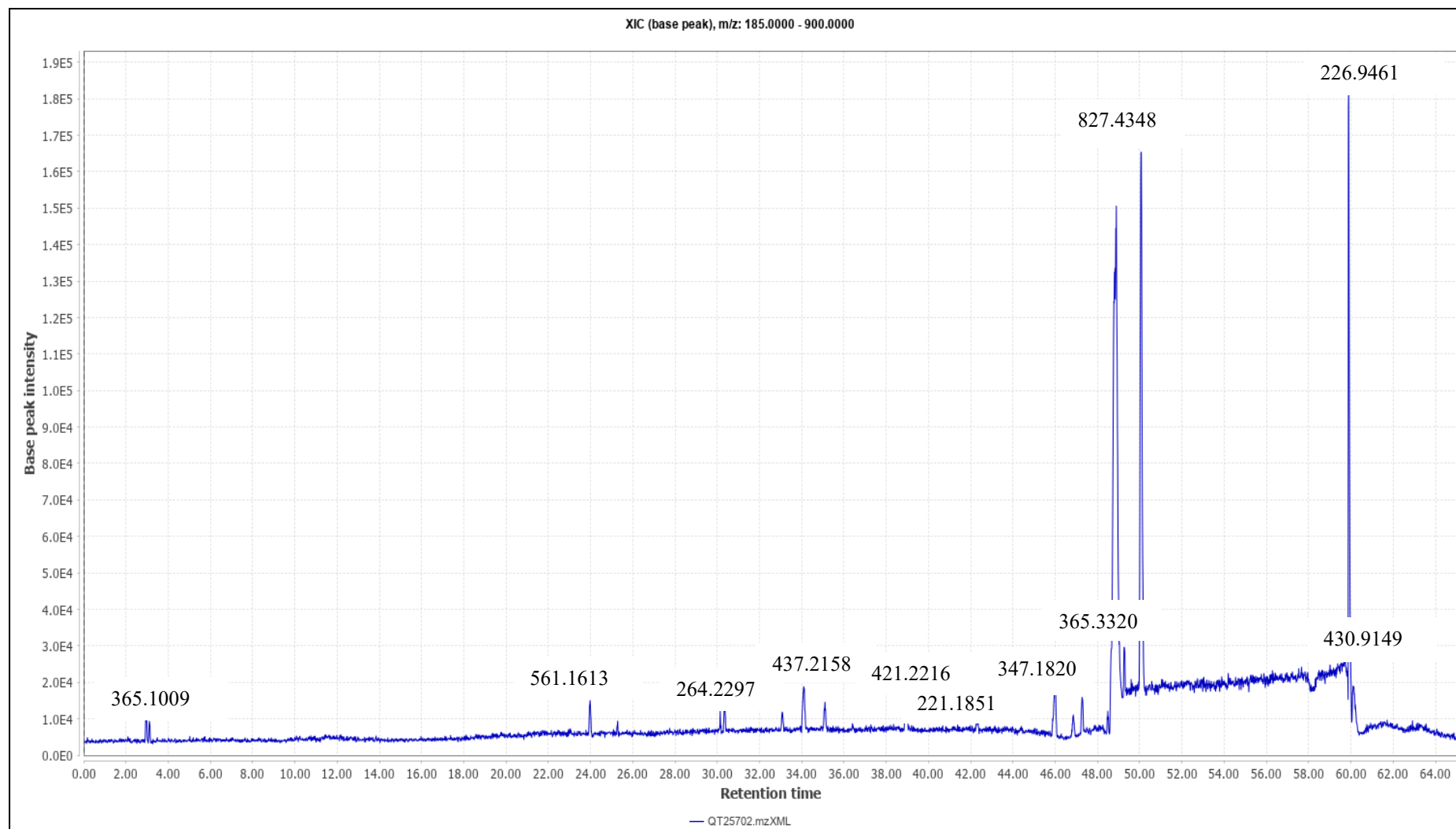


Figure 46 : Chromatogramme de quelques composés de l'extrait d'acétate d'éthyle de *Mezoneuron benthamianum*

Tableau V : Molécules identifiées dans l'extrait d'acétate d'éthyle de *Mezoneuron benthamianum* (1 à 9)

Code	Temps de Réétention (min)	Spectroscopie de masse	Addition	Formule Chimique	MS/MS Fragmentation	Identification Putative
1	2.96	365.1009	M+H	C ₂₁ H ₁₆ O ₆	n.f.	n.d.
2	23.98	561.1613	M+H	C ₂₇ H ₂₈ O ₁₃	321.0670, 269.0740	n.d.
3	30.35	264.2297	M+H	C ₁₇ H ₂₉ NO	219.1709, 203.1447	n.d.
4	33.07	395.2006	M+H	C ₂₁ H ₃₀ O ₇	109.1002, 281.1474, 253.1396, 219.1285	n.d.
		417.1878	M+Na			
		437.2158	M+H			
5	34.09	459.197	M+Na	C ₂₇ H ₃₂ O ₅	159.1136, 253.1487, 281.1474	furano lactone cassane isomer
6	35.1	407.1995	M+H	C ₂₂ H ₃₀ O ₇	159.1135, 167.0781, 256.1280, 283.1772	furano cassane isomer
		429.1812	M+Na			
7	36.4	379.2094	M+H	C ₂₁ H ₃₀ O ₆	161.0555, 133.0629, 187.0917	n.d.
		401.1891	M+Na			
8	38.93	421.2216	M+H	C ₂₃ H ₃₂ O ₇	161.0558, 133.0565, 255.1668	furano cassane isomer
		443.1998	M+Na			
9	46.00	347.182	M+H	C ₂₀ H ₂₆ O ₅	147.0415	cassane isomer
		369.1612	M+Na			

Position et isomère non déterminé; n.f.: non fragmenté et n.d.: non déterminé

Molécules identifiées dans l'extrait d'acétate d'éthyle de *Mezoneuron benthamianum* (suite de 10 à 15)

Code	Temps de Rétention (min)	Spectroscopie de masse	Addition	Formule chimique	MS/MS Fragmentation	Identification Putative
10	46.86	337.097	M+H	C ₂₀ H ₃₂ O ₄	n.f	cassane isomer
11	47.27	277.2141	M+H	C ₁₄ H ₂₈ O ₅	93.0703, 117.0652, 135.1055	n.d.
12	48.49	365.1329	M+H	C ₂₀ H ₂₈ O ₆	193.132	n.d.
13	48.89	343.1489	M+H	C ₁₉ H ₁₈ O ₆	301.1979	Trimethoxy- hydroxy- homoisoflavonoid
		365.1333	M+Na			
		707.2702	2M+Na			
14	49.27	383.2011	M+H	C ₂₀ H ₃₀ O ₇	181.077	n.d.
15	50.08	403.2333	M+H	C ₂₂ H ₂₆ O ₇	365.1885	furano cassane isomer
		425.2154	M+Na			
		827.4348	2M+Na			

Position et isomère non déterminé ; n.f : non fragmenté et n.d. : non déterminé

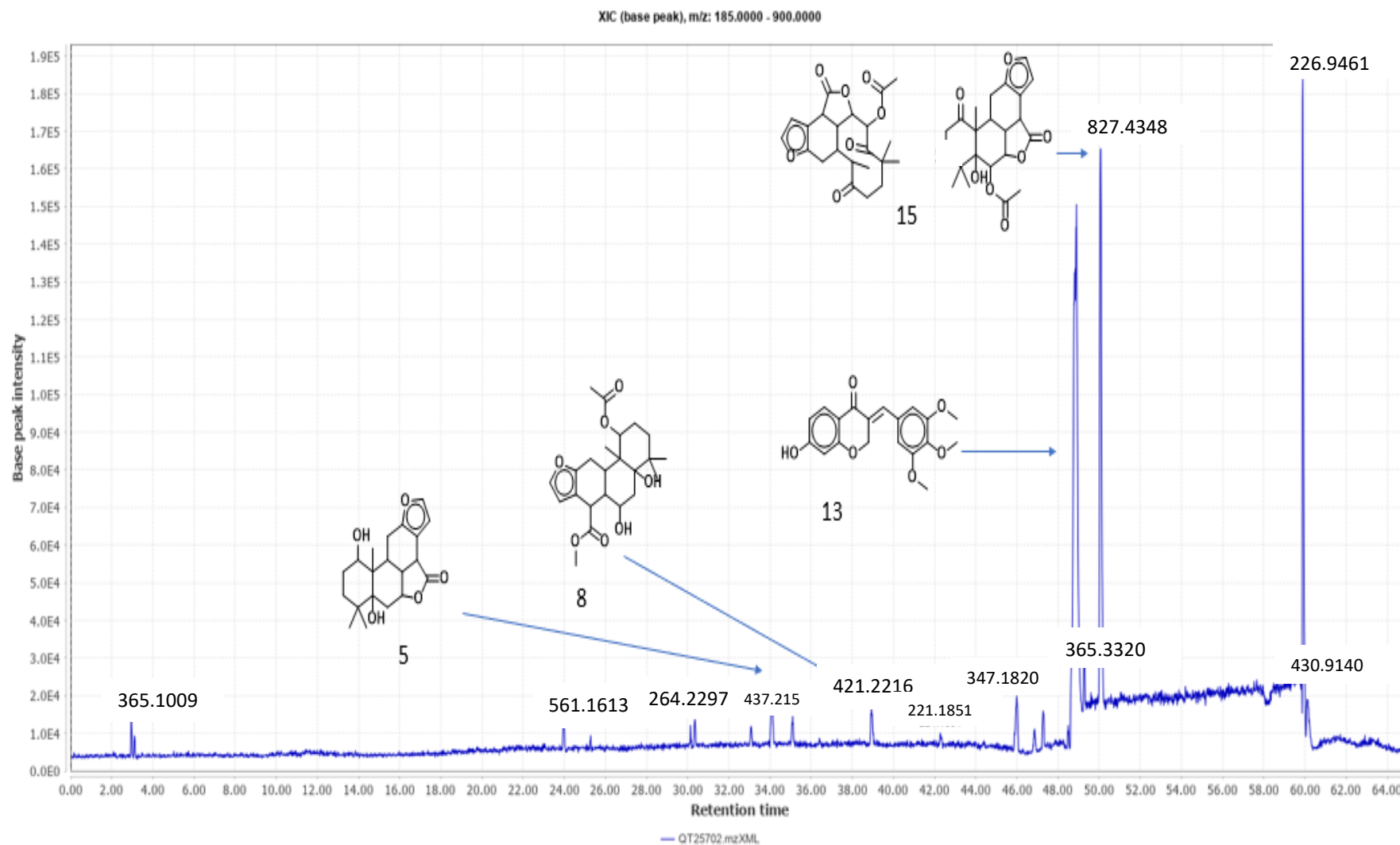


Figure 47: Chromatogramme et structures de quelques composés de l'extrait d'acétate d'éthyle de *Mezoneuron benthamianum*

- **Structure du composé 5**

Il s'agit du furano-lactone cassane isomère de formule chimique ($C_{27}H_{32}O_5$), le composé 5 est constitué de 27 atomes de carbones, 32 atomes d'hydrogène et 5 atomes d'oxygène, et un poids moléculaire de 436 g/mol. Il a été obtenu à la 34,09 ième minutes. Ce composé est constitué d'un anneau furanique (aromatique) et lactone (ester cyclique). Sa structure est illustrée dans la figure 48.

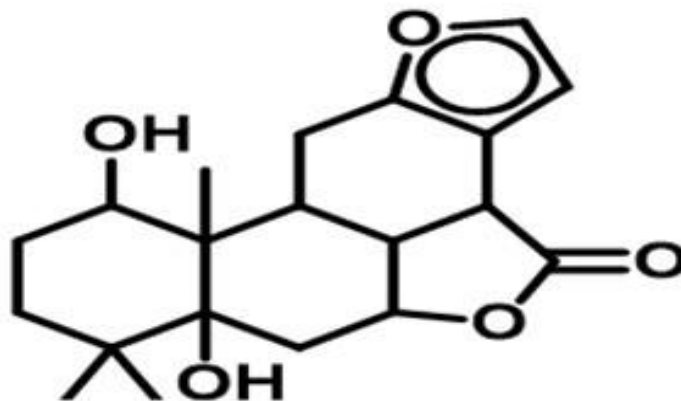


Figure 48 : Structure du furano-lactone cassane isomère

$C_{27}H_{32}O_5$ Masse exacte : 436 g/mol (5)

*La furano-lactone cassane isomère est une molécule appartenant à la famille des diterpènes cassanes, fréquemment rencontrée dans les espèces du genre *Caesalpinia*. Elle se caractérise par une structure tricyclique typique des cassanes, à laquelle est fusionné un système furano-lactone. Ce dernier comprend un cycle furane et un cycle lactone à cinq chaînons (γ -lactone), formant un ensemble bicyclique oxygéné. Sa structure comporte généralement des doubles liaisons conjuguées et des groupes fonctionnels oxygénés tels que des hydroxyles, des cétones ou des esters*

- **Structure composés 8**

Il s'agit du furano-cassane avec pour formule chimique ($C_{23}H_{32}O_7$), le composé est constitué de 23 atomes de carbone, 32 atomes d'hydrogène et de 7 atomes d'oxygène et un poids moléculaire de 420 g/mol. Il a été obtenu à la 38,93 ièmes minutes. Il est constitué d'un anneau furanique (aromatique). La figure 49 présente la structure du composé 8.

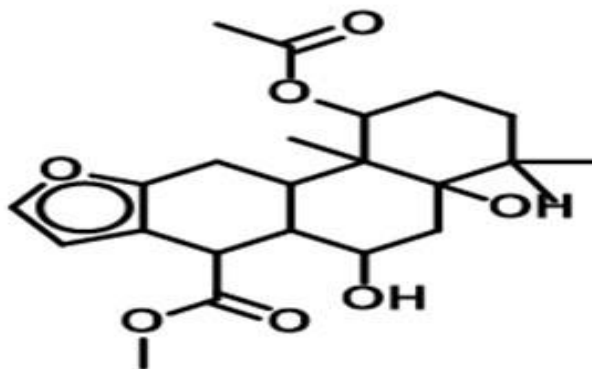


Figure 49 : Structure du furano-cassane

$C_{23}H_{32}O_7$ Masse exacte : 420 g/mol (8)

La structure du furano-cassane, un type de diterpène tricyclique, se caractérise par un squelette cassane auquel est fusionné un cycle furane. Le noyau cassane est constitué de trois cycles fusionnés (généralement de type trans), formant une structure compacte à 20 carbones typique des diterpènes de la famille des cassane. A cette ossature, s'ajoute un cycle furane (cinq atomes, dont un oxygène), généralement condensé en position C-13 et C-14 du squelette diterpénique. Cette fusion confère à la molécule une certaine rigidité et planéité, influençant ses propriétés physico-chimiques et son activité biologique. Les substituants (groupes hydroxyles, méthyles ou autres chaînes latérales) varient selon les dérivés, mais le furane condensé reste la signature structurale commune aux furano-cassanes. Ces composés sont majoritairement isolés de plantes du genre *Caesalpinia*.

- **Structure du composé 13**

Il s'agit du trimethoxy-hydroxy-homoisoflavonoïde de formule chimique $C_{19}H_{18}O_6$ dont 19 atomes de carbone, 18 atomes d'hydrogène et 6 atomes d'oxygène, et de masse molaire 342 g/mol. Il été obtenu à la 48,89 ièmes minutes et est constitué de deux anneaux aromatiques, d'un anneau hétérocyclique, trois groupes méthoxy attaché à l'un des anneaux aromatiques et d'un groupe hydroxyle attaché à l'autre anneau aromatique. La figure 50 présente la structure du composé 13.

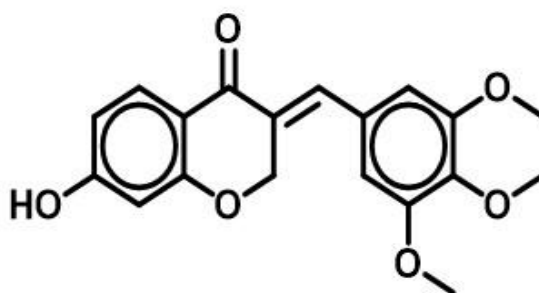


Figure 50 : Structure du trimethoxy-hydroxy-homoisoflavonoïde

$C_{19}H_{18}O_6$, masse exacte 342 g/mol (13)

Il est caractérisé par la présence d'un carbone supplémentaire dans la chaîne reliant les cycles A et B, formant ainsi un noyau chromanone à 16 carbones (au lieu de 15 pour les flavonoïdes classiques). Cette molécule est constituée de trois cycles aromatiques : le cycle A (de type benzénique), le cycle C (hétérocyclique de type chromanone, incluant un oxygène et une cétone en position 4), et le cycle B (phényl ou substitué, attaché en position 3 du cycle C).

- **Structure du composé 15**

Il s'agit du furano-cassane isomère dont la structure est présentée en figure 51, possède la formule chimique $C_{22}H_{26}O_7$, indiquant la présence de 22 atomes de carbone, 26 atomes d'hydrogène et 7 atomes d'oxygène. Sa masse molaire calculée est de 402 g/mol. Ce composé a été isolé à une rétention de 50,08 minutes lors de l'analyse chromatographique, ce qui permet de le différencier des autres molécules présentes dans l'échantillon. La structure moléculaire se caractérise par la présence d'un anneau furanique aromatique, un cycle à cinq atomes dont un atome d'oxygène contribue à la stabilité et aux propriétés chimiques spécifiques du composé. Ce type d'anneau est souvent impliqué dans l'activité biologique des molécules naturelles. La figure 51 illustre la configuration spatiale et les groupements fonctionnels du composé, facilitant ainsi son identification et sa caractérisation chimique. Ces données sont essentielles pour comprendre son rôle pharmacologique potentiel et orienter les études ultérieures sur ses propriétés bioactives.

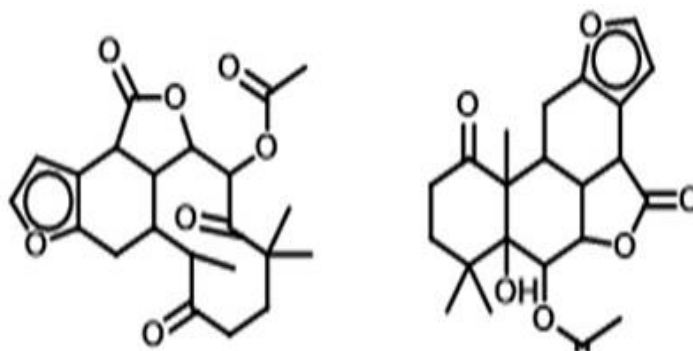


Figure 51 : Structure du furano cassane isomère

$C_{22}H_{26}O_7$, masse exacte 402 g/mol (15)

*La structure du furano-cassane, un type de diterpène tricyclique, se caractérise par un squelette cassane auquel est fusionné un cycle furane. Le noyau cassane est constitué de trois cycles fusionnés (généralement de type trans), formant une structure compacte à 20 carbones typique des diterpènes de la famille des cassane. À cette ossature, s'ajoute un cycle furane (cinq atomes, dont un oxygène), généralement condensé en position C-13 et C-14 du squelette diterpénique. Cette fusion confère à la molécule une certaine rigidité et planéité, influençant ses propriétés physico-chimiques et son activité biologique. Les substituants (groupes hydroxyles, méthyles ou autres chaînes latérales) varient selon les dérivés, mais le furane condensé reste la signature structurale commune aux furano-cassanes. Ces composés sont majoritairement isolés de plantes du genre *Caesalpinia**

1.5.2. Constituants chimiques de l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de *A.****polycarpa***

L'identification putative du chromatogramme ressorti en fonction du temps de rétention a été réalisée par comparaison de la formule chimique de composés isolés de *Annona* spp existant dans la base de données LOTUS. Cette plateforme analytique a pu détecter trente-deux (32) pics et huit (8) pics ont pu être identifiés y compris des isomères (Figure 52). Les composés retrouvés sont principalement des acétogénines (présentes spécifiquement dans *Annona* spp.). Les spectres de masse ont révélé en plus des ions fragments, la présence d'un adduct [M+Na] caractéristique du groupe terminal 5-méthyl- γ -lactone des acétogénines confirmant la structure de ce motif fonctionnel. Dans cet extrait, deux acétogénines ont été identifiées. Ce sont l'annonacine et l'annoglaxine (Tableau VI). La figure 53 présente le chromatogramme et structure des composés trouvés dans l'extrait d'acétate d'éthyle de *A. polycarpa*.

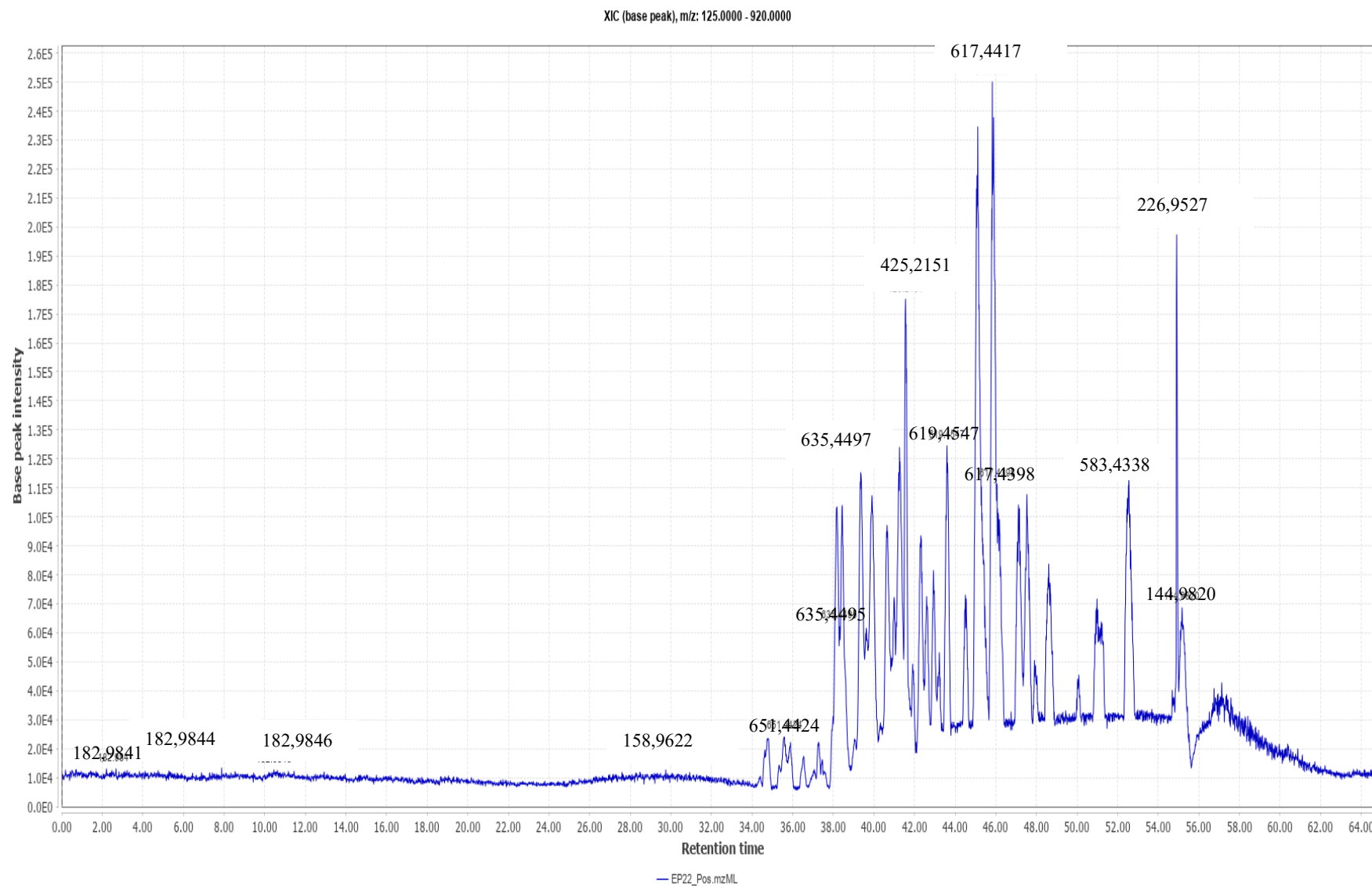


Figure 52 : Chromatogramme de quelques composés de l'extrait d'acétate d'éthyle de *Annickia polycarpa*

Tableau VI : Molécules trouvées dans l'extrait d'acétate d'éthyle de *Annickia polycarpa* (1 à 10)

Code	Temps de rétention (min)	Spectroscopie de masse	Addiction	Formule chimique	MS/MS Fragmentation	Identification Putative
1	34.76	651.4424	M+Na	C ₃₅ H ₆₄ O ₉	394.1769, 540.3675	C35-Acetogenin- γ -lactone derivative I
		629.4604	M+H			(idée: Murihexocin isomer I)
2	35.35	651.443	M+Na	C ₃₅ H ₆₄ O ₉	539.3768	C35-Acetogenin- γ -lactone derivative II
		629.4603	M+H			(idée: Murihexocin isomer I)
3	35.56	651.4438	M+Na	C ₃₅ H ₆₄ O ₉	539.3889	C35-Acetogenin- γ -lactone derivative III
		629.4611	M+H			(idée: Murihexocin isomer I)
4	35.89	651.4441	M+Na	C ₃₅ H ₆₄ O ₉	539.385	C35-Acetogenin- γ -lactone derivative IV
		629.4602	M+H			(idée: Murihexocin isomer I)
5	36.53	651.4424	M+Na	C ₃₅ H ₆₄ O ₉	438.3126, 541.4047	C35-Acetogenin- γ -lactone derivative V
		629.4604	M+H			(idée: Murihexocin isomer I)
6	37.27	635.4484	M+Na	C ₃₅ H ₆₄ O ₈	523.4106	C35-Acetogenin- γ -lactone derivative VI
		613.4681	M+H			
		365.1367	M+Na			n-f
7	38.18	343.154	M+H	C ₂₀ H ₂₂ O ₅		
		707.2818	2M+Na			
		365.136	M+Na			n-f
8	38.44	343.154	M+H	C ₂₀ H ₂₂ O ₅		
		707.2817	2M+Na			
		388.2106	+46?			
10	39.35	635.4501	M+Na	C ₃₅ H ₆₄ O ₈	523.3823, 297.2454	C35-Acetogenin- γ -lactone derivative VII

Molécules identifiées dans l'extrait d'acétate d'éthyle de *A. polycarpa* (suite de 11 à 19)

		613.4677	M+H			(Idée: Annomuricin isomer I)
		635.4493	M+Na		523.3823, 297.2454	C35-Acetogenin- γ -lactone derivative VII
11	39.63	613.4656	M+H	C ₃₅ H ₆₄ O ₈		(Idée: Annomuricin isomer II)
		647.4133	+35?			
		635.4492	M+Na		523.4022	C35-Acetogenin- γ -lactone derivative IX
12	39.91	613.4656	M+H	C ₃₅ H ₆₄ O ₈		
		647.4133	+35?			
		635.4488	M+Na		523.4022	C35-Acetogenin- γ -lactone derivative X
13	40.65	613.4661	M+H	C ₃₅ H ₆₄ O ₈		
		647.4123	+35?			
		635.4433	M+Na		235.0919, 421.3301, 521.3857	C35-Acetogenin- γ -lactone derivative XI
14	41	613.4662	M+H	C ₃₅ H ₆₄ O ₈		
		635.4495	M+Na		401.2821, 523.3932	C35-Acetogenin- γ -lactone derivative XII
15	41.26	613.4666	M+H	C ₃₅ H ₆₄ O ₈		
		425.215	M+Na		n-f	n-d
		403.2324	M+H			
16	41.56	827.4406	2M+Na	C ₂₀ H ₃₄ O ₈		
		448.2899	+46?			
		591.4229	M+Na		479.359	C33-Acetogenin- γ -lactone derivative I
17	41.91	569.4401	M+H	C ₃₃ H ₆₀ O ₇		
		633.4338	M+Na		235.0917, 421.3271, 521.3807	Annoglaxin isomer I
18	42.31	633.4338	M+Na	C ₃₅ H ₆₂ O ₈		
		633.4335	M+Na		235.0859, 421.3264, 521.3500	Annoglaxin isomer II
19	42.62	633.4335	M+Na	C ₃₅ H ₆₂ O ₈		

Molécules identifiées dans l'extrait d'acétate d'éthyle de <i>A. polycarpa</i> (suite de 20 à 32)						
20	42.94	633.4329	M+Na	C ₃₅ H ₆₂ O ₈	521.3755	C35-Acetogenin- γ -lactone derivative XIII
21	43.23	633.4327 617.4362	M+Na -16	C ₃₅ H ₆₂ O ₈	420.3152, 521.3881	Annoglaxin isomer III
22	43.62	619.4547 597.4725	M+Na M+H	C ₃₅ H ₆₄ O ₇	507.404	C35-Acetogenin- γ -lactone derivative XVI (Idée : Annonacin isomer I)
23	44.54	617.4385	M+Na	C ₃₅ H ₆₂ O ₇	442.3253, 505.3696	C35-Acetogenin- γ -lactone derivative XV
24	45.12	619.4551 597.4727	M+Na M+H	C ₃₅ H ₆₄ O ₇	507.4036	C35-Acetogenin- γ -lactone derivative XVI (Idée : Annonacin isomer II)
25	45.83	617.4397	M+Na	C ₃₅ H ₆₂ O ₇	421.3190, 505.3893	C35-Acetogenin- γ -lactone derivative XVII
26	47.12	619.4547 597.4716	M+Na M+H	C ₃₅ H ₆₄ O ₇	507.3877	C35-Acetogenin- γ -lactone derivative XVI (Idée : Annonacin isomer III)
27	47.53	619.4547 597.4721	M+Na M+H	C ₃₅ H ₆₄ O ₇	507.3882	C35-Acetogenin- γ -lactone derivative XVI (Idée : Annonacin isomer IV)
28	47.91	617.4384 595.4578	M+Na M+H	C ₃₅ H ₆₂ O ₇	505.3873	C35-Acetogenin- γ -lactone derivative XX
29	48.61	619.4543 597.4738	M+Na M+H	C ₃₅ H ₆₄ O ₇	507.3967	C35-Acetogenin- γ -lactone derivative XVI (Idée : Annonacin isomer V)
30	50.1	617.4396	M+Na	C ₃₅ H ₆₂ O ₇	505.3837	C35-Acetogenin- γ -lactone derivative XXI
31	50.99	601.4429	M+H?	C ₃₇ H ₆₀ O ₆	n-f	n-d
32	52.56	583.4337	M+H?	C ₃₇ H ₅₈ O ₅	n-f	n-d

Position et conformation isomères pas déterminée. n.f.: non fragmenté. n.d.: non déterminé

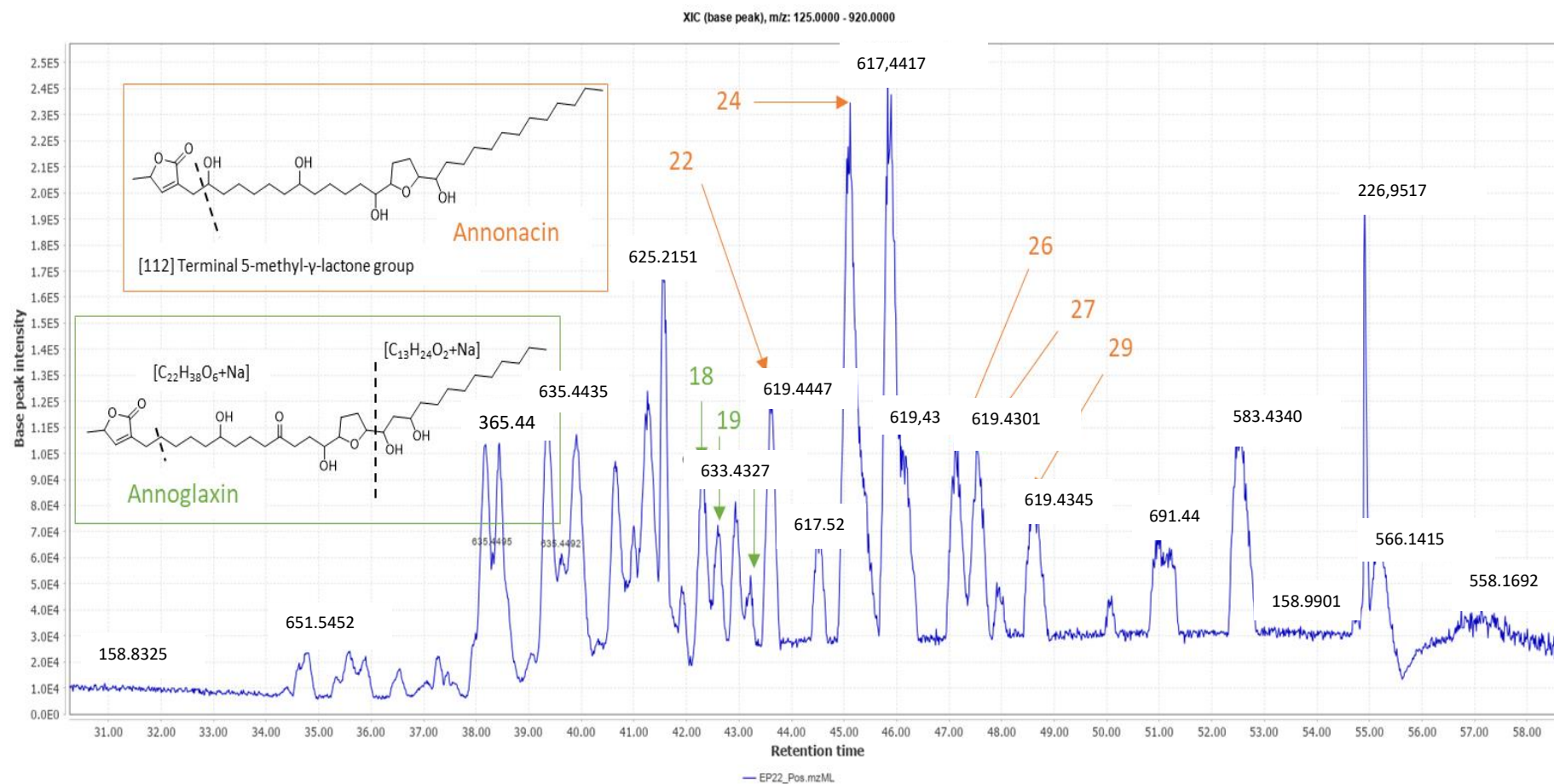


Figure 53 : Chromatogrammes et structures de deux composés de l'extrait acétate d'éthyle de *Annickia polycarpa*

• **Composés 18, 19 et 21**

Trois composés présentant la formule chimique $C_{35}H_{62}O_8 + Na^+$ ont été détectés respectivement aux 42,31, 42,62 et 43,23 minutes lors de l'analyse chromatographique. Ces composés, nommés annoglaxine isomères I, II et III, sont des isomères structuraux ou stéréoisomères partageant la même composition élémentaire, soit 35 atomes de carbone, 62 atomes d'hydrogène et 8 atomes d'oxygène, auxquels s'ajoute un ion sodium (Na^+). Leurs masses molaires sont respectivement de 633,4338 g/mol, 633,4335 g/mol et 633,4327 g/mol incluant le sodium, tandis que la masse moléculaire réelle des composés neutres (sans le Na^+) est de 610,846 g/mol. La présence de ces trois isomères, révélée par leurs temps de rétention légèrement différents, suggère des variations dans la configuration spatiale ou dans la position des groupements fonctionnels au sein de la molécule. La figure 54 illustre les structures correspondantes des composés numérotés 18, 19 et 21, identifiés comme les différentes formes isomériques de l'annoglaxine. Ces données soulignent la complexité structurale des métabolites présents dans l'extrait analysé.

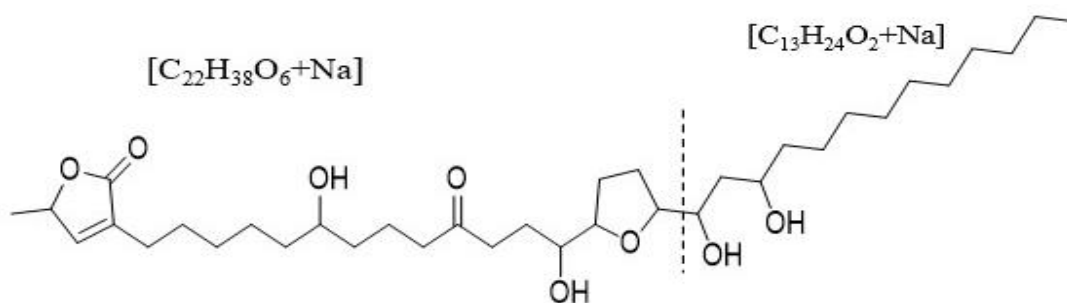


Figure 54 : Structure de annoglaxine isomère

$C_{35}H_{62}O_8 + Na$ de masse molaire 633,4327 g/mol

L'annoglaxine isomère est un alcaloïde aporphinoïde, appartenant à la grande famille des alcaloïdes isoquinoléiques, fréquemment retrouvés dans les plantes de la famille des Annonaceae. Sa structure de base est construite autour du noyau aporphine, un système tétracyclique plat dérivé du benzylisoquinoléine, comportant quatre cycles fusionnés (deux cycles benzéniques, un cycle dihydropyridine et un cycle tétrahydroisoquinoléine). Dans le cas de l'annoglaxine isomère, cette ossature est substituée par des groupes méthoxy ($-OCH_3$) en positions caractéristiques (souvent en C-1, C-2, C-9 ou C-10), ainsi qu'un groupe hydroxyle ($-OH$), conférant à la molécule une certaine polarisabilité et la capacité de former des liaisons hydrogène. L'isométrie structurale de l'annoglaxine affecte sa réactivité chimique et son interaction avec les cibles biologiques.

• **Composés 22, 24, 26, 27 et 29**

Des composés de formule chimique $C_{35}H_{64}O_7$ ont été obtenus respectivement à la 43,62 ; 45,12 ; 47,12 ; 47,53 et 48,61 ièmes minutes. Ce sont des isomères (Annonacin isomeres I, II, III, IV, V) constitués de 35 carbones, 64 hydrogènes, 7 oxygènes et d'un ion sodium supplémentaire avec des masses molaires respectives de 619,4547 g/mol (y compris le Na) et

une masse de 596,4547 g/mol (sans le Na). La figure 55 présente la structure du composé 22, 24, 26, 27 et 29.

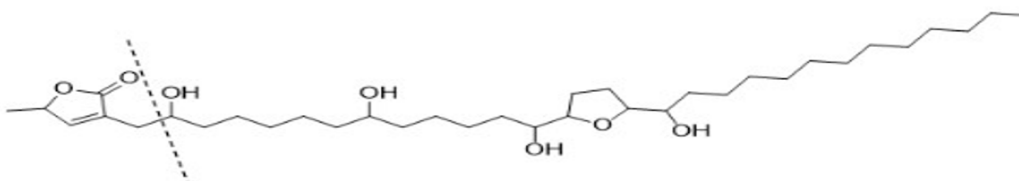


Figure 55 : Structure de l'Annonacine

($C_{35}H_{64}O_7 + Na$ de masse molaire 619,4547 g/mol).

L'annonacine est une molécule appartenant à la famille des acétogénines, des composés naturels majoritairement isolés des espèces du genre *Annona* (famille des *Annonaceae*). De formule brute $C_{35}H_{64}O_7$, avec un adduit sodium $[M + Na]^+$ de masse molaire 619,4547 g/mol, l'annonacine est une acétogénine mono-tétrahydrofurane (THF) longue chaîne. Sa structure est constituée d'une chaîne aliphatique linéaire à 35 atomes de carbone, comportant plusieurs groupes hydroxyles et un noyau tétrahydrofurane inséré au sein de la chaîne, souvent entre les carbones C-13 et C-17. Elle possède également une fonction γ -lactone en position terminale, essentielle pour son activité biologique. Cette configuration unique confère à l'annonacine une forte lipophilie, lui permettant de traverser les membranes cellulaires. Elle agit principalement comme inhibiteur du complexe I de la chaîne respiratoire mitochondriale, ce qui perturbe la production d'ATP et induit la mort cellulaire, notamment par apoptose.

2. DISCUSSION

Cette étude vise à évaluer le potentiel cytotoxique de trois plantes ivoirienne *Mezoneuron benthamianum*, *Annickia polycarpa* et *Morinda morindoides* traditionnellement utilisées en Côte d'Ivoire dans le traitement des tumeurs.

Il convient de noter que deux espèces étudiées ont été antérieurement désignées sous les noms de *Enantia polycarpa* et *Caesalpinia benthamiana*, aujourd'hui accepté sous les appellations *Annickia polycarpa* et *Mezoneuron benthamianum*

L'extrait à l'acétate d'éthyle des feuilles de *Mezoneuron benthamianum*, *Annickia polycarpa* et *Morinda morindoides* a donné des rendements respectifs de 5,26 %, 5,24 % et 3,91 %. En comparaison, Mouas *et al* en (2021) ont rapporté un rendement nettement plus faible, soit 0,40 %, pour l'extrait à l'acétate d'éthyle de *Cinnamomum zeylanicum*. Ces résultats indiquent que les espèces étudiées présentent une meilleure capacité d'extraction avec l'acétate d'éthyle que *Cinnamomum zeylanicum*. Cette différence peut être attribuée à la nature chimique des métabolites secondaires présents dans chaque plante, ainsi qu'à leur teneur en composés extractibles, qui varie d'une espèce à l'autre.

Les tests de cytotoxicité ont été effectués en comparaison avec la doxorubicine, une molécule anticancéreuse de référence dont la valeur de CI_{50} sur diverses lignées est établie à 1 μ M soit à 0,543 μ g/mL (Lovitt *et al.*, 2018). Les courbes d'activité des extraits sur les différentes lignées cellulaires ont démontré que les extraits agissaient selon une relation dose-réponse dépendante. Cela indique que plus la concentration des extraits augmente, plus la proportion de cellules mortes augmente. Par conséquent, les extraits testés possèderaient des composés actifs responsables d'une toxicité cellulaire mesurable, dont l'effet devient plus marqué avec la dose. Il est intéressant de noter que l'espèce *Mezoneuron benthamianum* autrefois désigné sous le nom *Caesalpinia benthamiana* a déjà fait l'objet de recherches rapportant une activité similaire. Des travaux menés par Houghton *et al.* (2010), Nelson *et al.* (2020), et Tayo *et al.* (2022) ont également montré que les extraits de *Eclipta alba*, *Cajanus cajan* et *Caesalpinia benthamiana* exercent une activité cytotoxique dépendante de la dose respectivement sur les lignées cellulaires HCT 116, MCF-7 et PC-3.

Par ailleurs, l'analyse des valeurs de CI_{50} des extraits acétatiques issus des plantes étudiées révèle une variabilité de la toxicité selon la lignée cellulaire ciblée. Selon les critères établis par l'Institut National du Cancer (INC) des États-Unis, la cytotoxicité des extraits bruts est évaluée à partir d'une échelle précise : une CI_{50} inférieure à 20 μ g/mL indique une forte toxicité, une CI_{50} comprise entre 20 et 100 μ g/mL traduit une toxicité modérée, une CI_{50} entre

100 et 500 µg/mL correspond à une toxicité faible, tandis qu'une CI_{50} supérieure à 500 µg/mL est considérée comme indiquant une absence de toxicité significative (Suffness & Pezzuto, 1990 ; Kuete *et al.*, 2011 ; Atanasov *et al.*, 2021). Cette classification permet ainsi d'apprécier la variabilité des effets cytotoxiques observés selon les extraits et les types cellulaires étudiés.

Par conséquent sur la lignée cellulaire HCT 116, les extraits acétatiques de *A. polycarpa* ($CI_{50} = 1,61 \pm 0,08$ µg/mL) et celui de *M. morindoides* ($CI_{50} = 16,58$ µg/mL) auraient une forte toxicité cellulaire tandis que l'extrait de *M. benthamianum* aurait une toxicité modérée. Sur la lignée PC-3, l'extrait de *M. benthamianum* s'est distingué par une forte toxicité, alors que les deux autres extraits ont présenté une toxicité modérée. Sur la lignée THP-1, les trois extraits ont révélé une faible toxicité. Enfin, sur les lignées MDA-MB-231 et MCF-7, les extraits de *A. polycarpa* et *M. benthamianum* ont également montré une toxicité modérée, tandis que l'extrait de *M. morindoides* a présenté une toxicité faible. Il ressort que les extraits de *M. benthamianum* et *A. polycarpa* présentent les profils de cytotoxicité les plus intéressants car ils ont des valeurs de CI_{50} inférieures à 100 µg/mL sur la majorité des lignées cellulaires ciblées.

En comparaison avec les résultats obtenus par Li *et al.* (2020), l'extrait d'acétate d'éthyle de *Selaginella doederleinii* avec une CI_{50} de $20,13 \pm 3,11$ µg/mL a présenté une toxicité modérée sur les cellules HCT 116. Cette plante serait moins cytotoxique que *A. polycarpa* et *M. morindoides* ; mais plus cytotoxique que *M. benthamianum* sur la lignée HCT 116. Aussi, lors des recherches menées par Ruhban *et al.* (2025), l'extrait d'acétate d'éthyle de *Alcea rosea* avec une CI_{50} de 74,71 µg/mL a montré une toxicité modérée sur cette lignée. On pourrait en déduire que cette plante posséderait des composés cytotoxiques en quantité et en qualité moindre que les extraits testés.

Une étude menée au Nigeria par Tayo *et al.* (2022) a révélé que l'extrait aqueux de *Caesalpinia benthamiana* désigné actuellement par *M. benthamianum* présentait une forte activité cytotoxique contre les cellules PC-3, avec une CI_{50} de $16,60 \pm 0,04$ µg/mL. Ce résultat vient corroborer les données obtenues dans la présente étude réalisée en Côte d'Ivoire, confirmant ainsi le potentiel cytotoxique de cette plante. Ces résultats suggèrent que *M. benthamianum* renferme des composés capables d'inhiber la prolifération des cellules PC3, ce qui met en évidence ses propriétés thérapeutiques prometteuses, notamment pour la santé de la prostate et des organes masculins.

Cette activité cytotoxique est d'autant plus remarquable lorsqu'on la compare à celle d'autres plantes traditionnellement utilisées pour le traitement des tumeurs. Par exemple, *Cuscuta chinensis* et *Cordia dichotoma* ont montré dans des études similaires une activité cytotoxique contre les cellules PC-3, bien que leurs CI_{50} (400 µg/mL et 74,5 µg/mL respectives)

soient généralement plus élevées, ce qui suggère une efficacité moins marquée (Rahman *et al.*, 2016 ; Dermani *et al.*, 2021).

Ainsi, en comparaison avec ces autres espèces, *M. benthamianum* semble posséder un potentiel cytotoxique plus ciblé et plus puissant, en particulier contre le cancer de la prostate. Ces résultats renforcent l'idée que cette plante pourrait constituer une ressource thérapeutique précieuse, notamment en médecine traditionnelle pour le traitement du cancer de la prostate.

Les effets modérés observés avec les extraits de *A. polycarpa* et *M. benthamianum* sur les cellules MDA-MB-231 (cancer du sein non hormono-dépendant), MCF-7 (cancer du sein hormono-dépendant) et PC-3 suggèrent que ces plantes pourraient exercer une action sur les mécanismes tumoraux aussi bien hormonaux que non hormonaux. En effet, elles pourraient inhiber ou moduler l'action des hormones responsables de la prolifération des cellules cancéreuses, comme c'est le cas pour les cellules MCF-7 et PC-3 (Chekkat, 2014). Ces résultats (CI_{50} de $44,48 \pm 3,4 \mu\text{g/mL}$ et $85,34 \pm 0,04 \mu\text{g/mL}$ respectivement pour *M. benthamianum* et *A. polycarpa*) sont d'autant plus intéressants lorsqu'on les compare à ceux obtenus par Tayo *et al.* (2022), qui ont rapporté une CI_{50} de $72 \mu\text{g/mL}$ pour l'extrait hexanique de *M. benthamianum* contre les cellules MCF-7. Cette différence de toxicité pourrait être attribuée à la nature du solvant utilisé. En effet, les extraits hexaniques sont généralement moins concentrés en certaines molécules bioactives par rapport aux extraits acétatiques utilisés dans cette étude.

De plus, les résultats obtenus ici seraient plus prometteurs que ceux de Nasr *et al.* (2018), qui ont observé une faible toxicité de l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de *Cakile arabica* ($CI_{50} = 467 \mu\text{g/mL}$) sur la lignée MDA-MB-231. En comparaison, *M. benthamianum* et *A. polycarpa* semblent posséder des composés cytotoxiques plus puissants et plus ciblés, confirmant leur potentiel dans le traitement de différents types de cancers.

Cependant, la faible toxicité des extraits étudiés sur les cellules THP-1 (cancer du sang) suggère l'absence de composés dans ces extraits capables d'inhiber efficacement la prolifération de cette lignée cellulaire spécifique. Cela pourrait indiquer que ces plantes exercent leur activité cytotoxique principalement sur des types de cellules tumorales solides, mais moins sur les cellules leucémiques ou d'autres cancers du sang.

L'activité cytotoxique forte, modérée et faible d'un même extrait sur différentes lignées pourrait être attribuée à une combinaison de facteurs biologiques et chimiques spécifiques à chaque type cellulaire, influençant ainsi la toxicité de l'extrait. Ainsi, un même extrait peut se révéler particulièrement actif sur une lignée, tout en étant nettement moins efficace sur une autre. Cette différence de sensibilité peut notamment être liée à la présence ou non de récepteurs spécifiques, à l'expression de mécanismes de résistance, ainsi qu'à des caractéristiques

biologiques intrinsèques des cellules ciblées (Guengerich, 2000). Par ailleurs, le microenvironnement cellulaire incluant des paramètres tels que le pH, le niveau d'oxygénation, ou encore les interactions avec des organites clés comme les mitochondries, les lysosomes ou le matériel génétique peut également moduler la réponse cellulaire à l'action cytotoxique de l'extrait (Emeraux, 2019). Cela permet de comprendre aisément la variabilité de sensibilité des lignées pour un même extrait au cours de cette étude.

Sur la base des valeurs de CI_{50} obtenues, les tests de cytotoxicité ont révélé que les extraits acétatiques les plus actifs provenaient des espèces végétales *M. benthamianum* et *A. polycarpa*. Parmi les lignées cellulaires testées, HCT 116 (cellules de carcinome colorectal humain) s'est révélée être la plus sensible à l'action des extraits, indiquant une vulnérabilité particulière de cette lignée à certaines molécules bioactives présentes dans les extraits végétaux tel que l'ont montré Hong *et al.* (2007) avec les extraits végétaux de *Garcinia indica*.

Par conséquent, pour approfondir l'exploration du mécanisme d'induction de la mort cellulaire, les extraits issus de *M. benthamianum* et *A. polycarpa* ont été sélectionnés pour une analyse par cytométrie en flux fluorescent. Cette approche a été réalisée sur la lignée HCT 116, en utilisant les marqueurs spécifiques de mort cellulaire annexin V-FITC (détection de l'apoptose précoce) et iodure de propidium (IP) (identification de la perte d'intégrité membranaire) conformément aux protocoles classiques de détection de l'apoptose et de la nécrose tels que décrits par Vermes *et al.* (1995) et Darzynkiewicz *et al.* (2011).

Avant traitement, les cellules HCT 116 utilisées présentaient une homogénéité morphologique, avec une taille uniforme, caractéristiques d'une population cellulaire majoritairement viable et exempte de mort cellulaire spontanée tel que recommandé par Cossarizza *et al.* (2019) à travers les lignes directrices sur l'utilisation de la cytométrie en flux. Ces observations garantissent que les modifications qui seraient observées par la suite résulteraient principalement de l'effet des extraits testés.

À l'issue du traitement des cellules HCT 116 avec les deux extraits aux concentrations de 10 $\mu\text{g/mL}$ et 40 $\mu\text{g/mL}$, ainsi qu'à 100 $\mu\text{g/mL}$ spécifiquement pour l'extrait de *M. benthamianum*, il a été observé que les deux premières concentrations (10 $\mu\text{g/mL}$ et 40 $\mu\text{g/mL}$) n'ont pas significativement induit de mort cellulaire spécifique. En effet, l'analyse par marquage annexin V-FITC/PI a révélé que la majorité des cellules restaient viables, avec une faible proportion de cellules apoptotiques ou nécrotiques détectées. Les cellules traitées à ces doses présentaient un profil majoritairement annexin V-/PI-, indiquant une viabilité élevée et l'absence d'apoptose ou de nécrose marquée. Ces résultats suggèrent qu'à faibles doses, les extraits n'altèrent pas substantiellement l'intégrité cellulaire. Ces observations pourraient

s'expliquer par plusieurs éléments. En effet, à faibles concentrations, les molécules bioactives présentes dans les extraits sont probablement en quantité insuffisante pour perturber significativement les fonctions cellulaires essentielles, telles que le métabolisme, l'intégrité membranaire ou encore la signalisation impliquée dans les processus de mort cellulaire (Li-Weber, 2009). Selon Cragg & Newman (2013), de nombreux composés naturels, notamment les alcaloïdes, les flavonoïdes et les terpénoïdes, induisent des effets cytotoxiques de manière dose-dépendante. Cependant, ces composés à de faibles concentrations pourraient même exercer des activités protectrices, antioxydantes ou immunomodulatrices, au lieu de déclencher directement la mort cellulaire. Ce phénomène, connu sous le nom d'hormèse et décrit par Calabrese *et al.* (2017), correspond à une réponse biologique biphasique face à une substance ou à un stress : à faibles doses, la substance induit un effet bénéfique ou protecteur, tandis qu'à fortes doses, elle devient délétère ou toxique. Il convient également de noter que toutes les molécules présentes dans un extrait brut ne sont pas nécessairement biodisponibles ni capables de traverser efficacement la membrane cellulaire à de faibles doses (Zhou *et al.*, 2012). Certaines molécules nécessitent d'atteindre un seuil de concentration critique pour interagir efficacement avec des cibles intracellulaires clés et déclencher des réponses biologiques notables. Par ailleurs, bien que la lignée HCT 116 puisse être sensible à l'action de fortes doses de substances cytotoxiques, elle conserve une capacité de résistance face à des niveaux faibles d'agression chimique. Cette résistance repose sur plusieurs mécanismes de défense, incluant la réparation de l'ADN, l'activation d'enzymes antioxydantes et la mobilisation de systèmes de détoxification cellulaire (Vousden & Prives, 2009 ; Hanahan & Weinberg, 2011).

Enfin, en réponse à un stress de faible intensité tel que les faibles doses de *A. polycarpa* et *M. benthamianum* appliquées à la lignée HCT 116, les cellules de cette lignée peuvent activer des voies de tolérance adaptative, telles que l'augmentation de l'expression de protéines anti-apoptotiques comme Bcl-2, afin de maintenir leur survie face à un environnement délétère modéré (Cory & Adams, 2002).

À la concentration maximale de 100 µg/mL de l'extrait acétatique de *A. polycarpa* sur la lignée HCT 116, les types de mort cellulaire par apoptose tardive et par nécrose se sont révélés prédominants, tandis que la mort par apoptose précoce est restée peu représentée. Cela pourrait s'expliquer par le fait qu'à fortes doses, l'accumulation massive de molécules bioactives cytotoxiques (comme certains alcaloïdes ou flavonoïdes) peut entraîner une déstabilisation sévère des membranes cellulaires, un stress oxydatif intense, ainsi qu'une perturbation des fonctions mitochondriales, favorisant ainsi l'activation tardive de l'apoptose suivie, pour certaines cellules, par une évolution vers une nécrose secondaire (Kroemer *et al.*,

2009 ; Galluzzi *et al.*, 2018). Lorsque les dommages cellulaires sont trop importants ou rapides, notamment sur les mitochondries et la membrane plasmique, les mécanismes programmés de mort cellulaire (apoptose) peuvent être dépassés, menant directement à une nécrose, qui est généralement caractérisée par une perte incontrôlée de l'intégrité membranaire et une libération du contenu intracellulaire (Berghe *et al.*, 2014). De plus, certains extraits végétaux riches en composés oxydants peuvent induire une production excessive d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) à forte concentration, conduisant à une perte rapide du potentiel mitochondrial et à l'activation de caspases tardives ou de voies de mort cellulaire non programmée. Enfin, la faible proportion d'apoptose précoce pourrait s'expliquer par le fait que, à cette dose élevée, les cellules ne disposent pas du temps ou des ressources énergétiques nécessaires pour engager correctement les premières phases du processus apoptotique classique (Elmore, 2007).

En définitive, l'exploration des mécanismes d'action des extraits acétatiques les plus actifs (*A. polycarpa* et *M. benthamianum*) n'a pas permis d'identifier avec une précision absolue le type de mort cellulaire impliqué dans leur cytotoxicité sur la lignée HCT116.

Dans la lutte contre le cancer, plusieurs facteurs entrent en jeu, dont l'importance de la prévention. Parmi les éléments qui jouent un rôle essentiel, les antioxydants se démarquent par leur capacité à protéger les cellules contre les dommages causés par les radicaux libres. Dans le cadre de cette étude, l'activité antiradicalaire des deux extraits les plus actifs a été évaluée en utilisant les tests de DPPH et de l'ABTS.

Dans cette étude, la CI_{50} de l'extrait de *M. benthamianum* (13,97 $\mu\text{g/mL}$) est environ deux fois plus faible que celle de *A. polycarpa* (26,11 $\mu\text{g/mL}$), mais pratiquement deux fois plus élevée que celle de l'acide ascorbique (7,09 $\mu\text{g/mL}$), un antioxydant de référence connu pour son puissant pouvoir réducteur. L'activité antioxydante plus élevée de *M. benthamianum* par rapport à *A. polycarpa* pourrait s'expliquer par une concentration plus importante, ou par la présence de types de composés phénoliques et flavonoïdes plus efficaces. Ces molécules, reconnues pour leur capacité à donner des électrons ou des atomes d'hydrogène afin de neutraliser les radicaux libres, jouent un rôle central dans l'activité antioxydante (Rice-Evans *et al.*, 1996). De plus, dans *M. benthamianum*, des interactions synergiques entre différentes classes de métabolites secondaires, tels que les flavonoïdes, les tanins et les polyphénols, pourraient renforcer l'efficacité globale de l'extrait (Wang *et al.*, 2011).

La configuration chimique des composés présents dans *M. benthamianum* pourrait également favoriser une meilleure interaction avec le radical DPPH \cdot , ce qui expliquerait sa plus grande capacité de piégeage par rapport à *A. polycarpa* (Brand-Williams *et al.*, 1995).

La comparaison des résultats de cette étude avec ceux rapportés par d'autres auteurs montre que les feuilles de *M. benthamianum* présentent une activité antiradicalaire plus élevée que les racines. En effet, Osamudiamen *et al.* (2020) ont obtenu, avec un extrait à l'acétate d'éthyle des racines de *M. benthamianum*, une CI_{50} de 23,70 $\mu\text{g/mL}$, valeur supérieure à celle obtenue dans cette étude avec les feuilles ($CI_{50} = 13,97 \mu\text{g/mL}$). Cette différence pourrait être attribuée aux variations de la teneur en composés antioxydants (polyphénols, flavonoïdes...) entre les différentes parties de la plante. En particulier, les organes exposés directement à la lumière solaire, tels que les feuilles, tendent à accumuler davantage de composés antioxydants pour se protéger contre le stress oxydatif induit par les rayonnements UV (Enneb *et al.*, 2015 ; Akré *et al.*, 2023).

En prolongement de ces observations, la comparaison des résultats de cette étude avec ceux de Hayat *et al.* (2020) et Monyn *et al.* (2021) confirme la forte activité antiradicalaire des extraits étudiés. En effet, les extraits à l'acétate d'éthyle des feuilles de *Hydrocotyle bonariensis* et de *Marrubium vulgare* ont présenté des CI_{50} nettement plus élevées, respectivement de $58,80 \pm 0,3 \mu\text{g/mL}$ et $324,5 \pm 0,66 \mu\text{g/mL}$, pour le même test au DPPH. Ces données indiquent que *M. benthamianum* et *A. polycarpa* possèdent, notamment dans leurs extraits acétate d'éthyle, des composés antioxydants plus efficaces.

Dans un test antiradicalaire complémentaire basé sur le radical $ABTS^{++}$, l'extrait de *M. benthamianum* ($CI_{50} = 66,77 \mu\text{g/mL}$) a montré une meilleure activité antiradicalaire que celui de *A. polycarpa* ($CI_{50} = 95,19 \mu\text{g/mL}$). Toutefois, l'activité de *M. benthamianum* reste nettement inférieure à celle de l'acide gallique, un antioxydant de référence, dont la CI_{50} a été mesuré à $21,47 \pm 0,4 \mu\text{g/mL}$. Ces résultats confirment ceux obtenus lors du test DPPH, où *M. benthamianum* montrait déjà une activité supérieure à *A. polycarpa*, mais inférieure à celle d'un antioxydant standard (acide ascorbique). Cette cohérence entre les deux méthodes de mesure (DPPH et ABTS) suggère que *M. benthamianum* possède effectivement une capacité antiradicalaire significative, attribuable à sa richesse en composés phénoliques et flavonoïdiques. Ces composés sont reconnus pour leur efficacité dans la neutralisation de divers types de radicaux libres, par transfert d'électrons ou d'atomes d'hydrogène (Rice-Evans *et al.*, 1997 ; Apak *et al.*, 2016).

La différence de sensibilité observée entre les deux tests peut néanmoins s'expliquer par la nature chimique des radicaux utilisés. Le radical DPPH \cdot est principalement sensible aux antioxydants lipophiles, tandis que le radical $ABTS^{++}$ est plus réactif avec des antioxydants hydrophiles et amphiphiles (Re *et al.*, 1999 ; Prior *et al.*, 2005). Il est donc possible que certains

composés majoritaires dans *M. benthamianum* soient plus efficaces contre le DPPH^{*} que contre l'ABTS⁺⁺, ce qui expliquerait la différence relative d'efficacité observée selon le test utilisé.

Les activités biologiques remarquables observées avec les extraits acétatiques de *M. benthamianum* et *A. polycarpa* semblent étroitement liées à leur composition chimique. Dans cette perspective, une caractérisation chimique approfondie des extraits a été réalisée. L'analyse de l'extrait de *M. benthamianum* a révélé la présence majoritaire de composés appartenant aux familles des cassanes, des norcassanes diterpéniques, ainsi que des homo-isoflavonoïdes. En ce qui concerne *Annickia polycarpa*, l'analyse a permis d'identifier principalement des acétogénines annonaceae, notamment l'annonacine et l'annoglaxine.

Les cassanes et norcassanes diterpénoïdes constituent un groupe de composés naturels caractérisés par une structure tricyclique avec un cycle furanique ou buténolide fusionné (Zheng *et al.*, 2017). Ces composés ont déjà été isolés de *Caesalpinia pulcherrima*, *Caesalpinia bonduc*, *Caesalpinia crista*, *Caesalpinia minax*. Ils possèdent des propriétés biologiques telles que des effets anti-inflammatoires, antimicrobiens, antipaludiques, antiviraux, antioxydants, antiulcéreux, antidiabétiques, antirhumatismaux et anticancéreux (Ranjani *et al.*, 2011 ; Mario *et al.*, 2013 ; Zheng *et al.*, 2017), ce qui justifierait l'activité cytotoxique de cet extrait sur les cellules cancéreuses et son activité antiradicalaire dans cette étude. Les composés identifiés dans l'extrait d'acétate d'éthyle de *M. benthamianum* présentent une différence par rapport à ceux obtenus par d'autres auteurs. En effet, en 2022, les travaux effectués par Tayo *et al* sur l'extrait dichlorométhane de cette plante au Nigeria ont permis d'identifier des composés tels que le benthamianoate, la benthamiacone, la benthamianine, le benthamianol, ainsi que deux autres composés connus : le gallate de méthyle et l'acide 2-méthoxyacrylique. Cette différence entre les composés chimiques retrouvés dans cette plante pourrait être due à la nature des solvants utilisés.

Les homo-isoflavonoïdes de l'extrait de *M. benthamianum* sont une sous-classe de flavonoïdes présents dans certaines plantes de la famille des Fabaceae (Lin *et al.*, 2014). Ils possèdent des propriétés remarquables et ont fait l'objet de nombreuses études mettant en lumière leur rôle essentiel dans l'activité antioxydante des plantes médicinales (Abbas *et al.*, 2017). Ils sont de puissants antioxydants et ont la capacité d'inhiber la prolifération cellulaire, d'induire l'apoptose dans les cellules tumorales, contribuant ainsi à la réduction de la taille des tumeurs (Nishida *et al.*, 2013 ; Moldovan, 2014 ; Castelli & Lopez, 2017). En outre, ils peuvent inhiber la production de cytokines pro-inflammatoires et d'autres médiateurs de l'inflammation (Kao *et al.*, 2007 ; Jiang *et al.*, 2007 ; Moldovan, 2014). Ils jouent un rôle dans la réduction des risques cardiovasculaires, notamment par l'amélioration du profil lipidique, la limitation de

l'oxydation des lipides et la diminution de l'inflammation des vaisseaux sanguins (Le-Ma *et al.*, 2020). Ces composés présentent également des propriétés antidiabétiques, neuroprotectrices, anti-mutagènes et anti-angiogéniques (El-Elimat *et al.*, 2018).

En 2022, El-Elimat *et al.* ont montré que les homo-isoflavonoïdes isolés des bulbes de *Bellevalia longipes* présentaient une activité cytotoxique contre plusieurs lignées cellulaires cancéreuses, notamment les cellules du cancer du sein MDA-MB-231 (CI₅₀ = 5,36 µM), les cellules du mélanome MDA-MB-435 (CI₅₀ = 0,62 µM) et les cellules du cancer ovarien OVCAR3 (CI₅₀ = 2,52 µM). Aussi, les homo-isoflavonoïdes extraits des bulbes de *Bellevalia eigii* ont également montré une cytotoxicité contre les cellules du cancer du côlon HT-29 (CI₅₀ = 1,1 µM), les cellules du mélanome MDA-MB-435 (CI₅₀ = 1,0 µM) (Feras *et al.*, 2015). L'activité antiradicalaire et cytotoxique de cet extrait pourrait être attribuée à la présence de ces composés retrouvés.

Les composés identifiés dans l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de *Annickia polycarpa* seraient des acétogénines annonaceae, en l'occurrence l'annonacine et l'annoglaxine. Ils ont également déjà été isolés de *Annona squamosa* et *Annona muricata* (Yap *et al.*, 2017).

Les acétogénines annonaceae sont des dérivés du métabolisme de l'acétyl-coenzyme. Ce sont de puissants inhibiteurs de la production du complexe I mitochondrial, d'adénosine triphosphate (ATP) et des nucléotides apparentés (Sabrina, 2004 ; Bermejo *et al.*, 2005 ; Jerry, 2008). Ils constituent un groupe essentiel de composés présents dans les Annonaceae (Shi *et al.*, 2020), qui sont des plantes régulièrement employées en médecine traditionnelle dans le traitement du cancer et de diverses autres maladies (Herrera *et al.*, 2019). Leurs diverses propriétés antitumorales, cytotoxiques, antipaludiques, vermifuges, pesticides, antivirales et antimicrobiennes leur confèrent une myriade d'applications potentiellement utiles (Alkofahi *et al.*, 1988 ; Li *et al.*, 2008 ; Jerry, 2008).

L'annonacine déjà isolée chez d'autres espèces est connue pour être un inhibiteur du complexe I mitochondrial (NADH-déshydrogénase) (Potts *et al.*, 2012). De nombreuses études ont démontré que l'annonacine possède des activités anti-inflammatoires, antiulcéreuses, cicatrisantes, hypoglycémiantes, antitumorales, cytotoxiques et antioxydantes (Zine, 2018 ; Roduan *et al.*, 2019). De plus, des études préliminaires ont montré que ce composé extrait des graines de *Annona muricata* avait des effets antiprolifératifs sur les lignées cellulaires EC (adénocarcinome endométrial) avec une CI₅₀ de 4,62 µg/mL et induisait la mort de ces cellules par apoptose (Yap *et al.*, 2017). Les résultats des travaux de Sun *et al.* (2019) ont démontré que l'annonacine isolée de l'extrait éthanolique des feuilles, de la tige, de l'écorce et des graines de

Annona muricata réduisait 96,9 % des cellules PC-3 après un traitement à 20 µg/mL.

L'annoglaxine, quant à elle, est une molécule possédant également une activité cytotoxique (Xiang *et al.*, 2010). Dans l'étude effectuée par Liu *et al.* (1999), cette molécule avait été isolée de l'extrait éthanolique des feuilles de *Annona glabra* (Annonaceae). L'identification de ce composé, tant dans l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de *A. polycarpa* que dans celui de l'extrait éthanolique des feuilles de *Annona glabra*, pourrait se justifier par le fait que ces deux plantes appartiennent à la même famille botanique. Par la suite, le test effectué par Liu *et al* a permis de montrer que l'annoglaxine présente une bonne activité cytotoxique sur la lignée cellulaire du carcinome mammaire humain (MCF-7). Ce qui justifierait la toxicité de *A. polycarpa* sur cette lignée.

Les propriétés antioxydante et cytotoxique des extraits de plantes de cette étude pourraient être attribuées à la variabilité de leur composition chimique (Sawadogo *et al.*, 2020). Ces plantes pourraient être mises à profit pour traiter certaines affections de l'organisme tels que les cancers.

CONCLUSION

Ce travail avait pour objectif de valoriser le potentiel cytotoxique de *Mezoneuron benthamianum*, *Annickia polycarpa* et *Morinda morindoides*, trois plantes de la flore ivoirienne utilisées dans la médecine traditionnelle pour le traitement des tumeurs. L'étude a porté sur l'évaluation de la cytotoxicité de leurs extraits sur cinq lignées cellulaires cancéreuses, leur mécanisme d'action, leur potentiel antioxydant, et la caractérisation de leur composition chimique, afin d'identifier les extraits les plus bioactifs.

Les résultats de l'évaluation de la cytotoxicité ont révélé une toxicité marquée des extraits sur les lignées cancéreuses, avec des effets plus prononcés sur certaines lignées spécifiques. L'extrait de *A. polycarpa* a montré une activité cytotoxique très forte contre la lignée HCT 116 ($CI_{50} = 1,61 \pm 0,08 \mu\text{g/mL}$), tandis que l'extrait de *M. benthamianum* a montré une forte toxicité contre les cellules PC-3 ($CI_{50} = 17,79 \pm 0,09 \mu\text{g/mL}$). Les extraits des trois plantes ont également présenté une toxicité modérée contre les lignées MDA-MB-231 et MCF-7, ainsi qu'une faible toxicité contre les cellules THP-1. Ces résultats suggèrent que ces plantes peuvent avoir une action ciblée sur des types de cancers variés, mais que leur efficacité diffère en fonction des lignées cellulaires.

L'analyse du type de mort cellulaire n'a pas permis de conclure avec certitude sur les mécanismes impliqués, bien que des indices suggèrent que l'extrait de *A. polycarpa* pourrait induire une mort cellulaire par apoptose dans les cellules HCT 116, avec 32,42 % de cellules mortes par apoptose à 100 $\mu\text{g/mL}$. Ce phénomène pourrait expliquer en partie les effets cytotoxiques observés pour cette plante.

L'évaluation de l'activité antioxydante par les tests DPPH et ABTS a révélé des valeurs de CI_{50} respectives de $13,97 \pm 0,9 \mu\text{g/mL}$ pour *M. benthamianum* et de $26,11 \pm 2,6 \mu\text{g/mL}$ pour *A. polycarpa* (test DPPH), ainsi que de $66,77 \pm 0,9 \mu\text{g/mL}$ et de $95,19 \pm 1,54 \mu\text{g/mL}$ respectivement pour *M. benthamianum* et *A. polycarpa* (test ABTS). Ces données confirment le fort potentiel antioxydant des extraits, soutenant leur utilisation potentielle en prévention et en thérapie anticancéreuse, compte tenu du rôle clé du stress oxydatif dans la carcinogenèse.

L'analyse chimique a permis d'identifier les composés actifs présents dans les extraits étudiés. L'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de *M. benthamianum* contient principalement des cassanes, norcassanes diterpénoïdes et des homo-isoflavonoïdes, tandis que celui de *A. polycarpa* renferme des acétogénines, telles que l'annonacine et l'annoglaxine, connues pour leurs effets cytotoxiques. Ces composés bioactifs pourraient être responsables des propriétés anticancéreuses et antioxydantes des extraits.

Les résultats obtenus dans cette étude confirment en partie l'usage traditionnel de ces plantes en Côte d'Ivoire pour la prise en charge des tumeurs. L'efficacité cytotoxique et

antioxydante observée, ainsi que la présence de composés bioactifs, justifient l'intérêt de ces plantes comme sources potentielles de nouvelles molécules thérapeutiques, notamment pour certains types de cancer.

PERSPECTIVES

A l'issue de cette étude, les résultats prometteurs obtenus avec les extraits les plus bioactifs ouvrent ainsi la voie à de futures recherches visant à mieux comprendre leurs mécanismes d'action et à évaluer leur potentiel préclinique. Il s'agira :

- Au niveau des tests biologiques, d'améliorer l'activité des extraits par fractionnement bioguidé, d'étudier l'activité cytotoxique sélective des extraits contre des cellules saines, d'explorer le mécanisme d'action des extraits purifiés, et de réaliser des tests d'efficacité *in vivo* sur des modèles expérimentaux de cancer.
- Au niveau chimique, d'isoler et de caractériser à partir des fractions bioactives purifiées la structure chimique des composés impliqués dans l'activité cytotoxique
- Au plan de la valorisation des savoirs traditionnels locaux, de développer un médicament traditionnel amélioré de qualité pharmaceutique pouvant être utilisé dans la prise en charge des cancers du côlon et de la prostate avec les extraits d'acétate d'éthyle de *Annickia polycarpa* et *Mezoneuron benthamianum*.

REFERENCES

- Abbas M., Saeed F., Anjum F.M., Afzaal M., Tufail T., Bashir M.S. Ishtiaq A., Hussain S. & Suleria H.A.R. (2017). Polyphénols naturels : un aperçu. *International journal and Food Properties*, 20 : 1689 - 1699.
- Adjanohoun E. & Ake-Assi L. (1979). Contribution au recensement des plantes médicinales de Côte d'Ivoire, Centre National de Floristique Abidjan, 358 p.
- Ajali U. (2020). Antibacterial activity of *Enantia polycarpa* bark. *Fitotherapy*, 71(3) : 315-316.
- Aké-Assi L. (1984). Flore de la Côte-d'Ivoire : étude descriptive et biogéographique, avec quelques notes ethnobotaniques, Tome 1, II, III. Thèse de Doctorat de Sciences Naturelles, Université Nationale, FA.ST, Côte-d'Ivoire, 1205 p.
- Akré D.S.T., Kouamé K.B., Okou O.C., Diakité D., Ackah J.A.B. A. & Djaman J. A. (2023). Tri phytochimique et activité antibactérienne des extraits hydroacétoniques de *Baphia nitida* (Fabaceae) sur *Shigella spp* et *E. coli*, deux entérobactéries impliquées dans les diarrhées infantiles à Daloa, Côte d'Ivoire. *European Scientific Journal*, 19 (12) : 48-68.
- Alam J., Mujahid M., Badruddeen J.Y., Bagga P. & Rahman M.A. (2017). Hepatoprotective potential of ethanolic extract of *Aquilaria agallocha* leaves against paracetamol induced hepatotoxicity in SD rats. *Journal of Traditional Complementary Medicine*, 7(1) : 9 -13.
- ALIAM. (2017). Les cancers en Afrique francophone. Paris, France, 136 p.
- Ali-Azouaou S. (2016). Evaluation of the anticancer effects of pharmacological compounds on cancer stem cells and their descendants : characterization of molecular mechanisms. Thèse de Doctorat de Pharmacologie, École doctorale des Sciences de la vie et de la santé, Université de Strasbourg, France, 158 p.
- Alkofahi A., Rupprecht J.K., Smith D.L., Chang C.J. & McLaughlin J.L. (1988). Goniotalamicin and annonacin: bioactive acetogenins from *Goniothalamus giganteus* (Annonaceae). *Experientia*, 44 : 83-85.
- Al-Oqail M. (2021). Efficacité anticancéreuse des extraits de *Krameria lappacea* contre la lignée cellulaire du cancer du sein humain (MCF-7) : rôle du stress oxydatif et de la génération de ROS. *Journal pharmaceutique saoudien*, 29(3) : 244 -25.
- Ambe S.A.A., Camara D., Ouattara D., Yapo Y.C., Soumahoro A., Zihiri N.G. & Kouakou E.N. (2016). Etude ethnobotanique, évaluation *in vitro* de l'activité antifongique

- et cytotoxique des extraits de *Enantia polycarpa* (DC) Eng. et Diels (Annonaceae). *International Journal Chemical Science*, 10(1) : 23-34.
- Anosa G.N., Udegbumam R.I., Okoro J.O. & Okoraopour N.O. (2014). In vivo antimalarial activities of *Enantia polycarpa* stem bark against Plasmodium berghei berghei in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 153(2) : 531-534.
- Apak R., Mustafa Ö., Kubilay G. & Esra Ç. (2016). Antioxidant Activity/Capacity Measurement. 1. Classification, Physicochemical Principles, Mechanisms, and Electron Transfer (ET)-Based Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(5) : 997-1027.
- Arbonnier M. (2009). Arbres, arbustes et lianes des zones sèches d'Afrique de l'Ouest, Editions Quae, 574 p.
- Atanasov A.G., Zotchev S.B., Dirsch V.M. & Supuran C.T. (2021). Natural products in drug discovery : Advances and opportunities. *Natural Reviews Drug Discovery*, 20 : 200-216.
- ATCC. (2024). Description des lignées cellulaires. <https://www.atcc.org/>. Consulté en janvier 2025.
- Aubert E. (2023). Identification de nouvelles associations antibactériennes issues de la pharmacopée médiévale arabe. Thèse de doctorat de Pharmacognosie, Ecole doctorale des sciences chimiques (ED 222), Laboratoire d'innovation thérapeutique UMR 7200 CNRS Université de Strasbourg, France, 278 p.
- Azi M. (2024). Contribution à la valorisation de la flore d'Algérie : Etude phytochimique et biologique des espèces *Origanum floribundum* Munby et *Daucus virgatus* (Poir.) Maire. Thèse de Doctorat de Génie des Procédés Pharmaceutiques, Université Ferhat Abbas, Algérie, 186 p.
- Bagré I., Bahi C., Ouattara K. & Zirihi G. (2011). Etude botanique et exploration de l'activité antifongique de *Morinda morindoides* (Baker) Milne-Redh. Sur la croissance *in vitro* de *Cryptococcus neoformans*. *Journal of phytotherapy*, 9 (2) : 136-141.
- Bana E. (2013). Inhibition des phosphatases CDC25 dans le cadre d'une thérapie anticancéreuse : Etude mécanistique de nouveaux inhibiteurs. Thèse de doctorat en Médecine humaine et pathologie, Université de Lorraine, Nancy, France, 133 p.

- Bandopadhyaya S., Mani R., Ramesh P.T. & Yogisha S. (2015). *In-Vitro* Evaluation of plant extracts against colorectal cancer using HCT116 Cell Line. *International Journal of Plant Science and Ecology* 1(3) : 107-112.
- Bartrop J.A. Terence C.O., Ann H.C. & Joseph G.C. (1991). 5-(3-carboxymethoxyphenyl) -2-(4,5-dimethylthiazoly) -3-(4-sulfophenyl) tetrazolium, inner salt (MTS) and related analogs of 3-(4,5-dimethylthiazolyl) -2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) reducing to purple water-soluble formazan as cell-viability indicators. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 1(11) : 611-614.
- Basim M. A., Abdalla A.A. & Doa'a M.F. (2014). Inhibition *in vitro* des cellules leucémiques humaines THP-1 par des extraits de *Origanum syriacum* L. et de *Thymus vulgaris* L. *Journal de recherche endocrinologique*, 7(612) : 1-6.
- Beaulieu E. (2023). Introduction à la biologie cellulaire et moléculaire, Université d'Ottawa, 376 P.
- Békro A.Y., Janat A., Mamyrbekova B.J., Boua B.B., TRA BI. F. & Ehouan E.E. (2007). Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. Et Zarucchi (Caesalpiniaceae). *Sciences & Nature*, 4(2) : 217-225.
- Belabed Z. & Bouamama A. (2015). Cancer de la prostate (étude épidémiologique). Mémoire de Master en Sciences Biologiques, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université des Frères Mentouri Constantine, Algerie, 71 p.
- Bendimerad S. & Tachema A. (2018). Enquête sur l'usage des plantes médicinales par les patientes atteintes de cancer du sein au niveau du service d'oncologie, CHU-Tlemcen. Mémoire de fin d'études, Faculté de médecine, Université Abou Bekr Belkaïd, Algerie, 109 p.
- Berghe V.T., Andreas L., Sandrine J.L. & Peter V. (2014). Regulated necrosis : The expanding network of non-apoptotic cell death pathways. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 15(2) : 135 - 147.
- Bermejo A., Figadere B., Zafra-Polo M.C., Barrachina I, Estornell E. & Cortes D. (2005). Acetogenins from Annonaceae : Recent progress in isolation, synthesis and mechanisms of action. *Natural Product Reports*, 22(2) : 269 - 303.
- Besnard J. (2017). Activités anti-inflammatoire et antioxydante d'extraits d'épices et de légumes. Mémoire de fin d'étude de Master en Horticulture, Institut Supérieur des Sciences agronomiques, agroalimentaires, horticoles et du paysage, Rennes, France, 33 p.

- Bonneau N. (2015). Acétogénines d'Annonaceae et parkinsonismes atypiques : de la biodisponibilité de l'annonacine à l'exposition alimentaire. Thèse de Doctorat de Chimie des substances naturelles, Ecole Doctorale n° 569, Université Paris-Saclay, France, 256 p.
- Boutebia W., Lamea E., Reham S. & Salem N. (2015). Contribution à l'étude de la distribution des leucémies « cancer du sang » dans la région d'EL Oued. Mémoire de fin d'étude master, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Echahid Hamma Lakhdar d'El-oued, Algérie, 57 p.
- Brand-Williams W., Cuvelier M.E. & Berset C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*, 28(1) : 25-30.
- Bruneton J. (2009). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.), TEC & DOC, France, 1268 p.
- Calabrese E.J., Edward J. & Mattson P.M. (2017). How does hormesis impact biology, toxicology and medicine ? *Aging and Mechanisms of Disease*, 3(13) :1-8.
- Carmaux S. (2008). Caractérisation de la mort des cellules animales cultivées en bioréacteur. Thèse de diplôme d'Etat en Pharmacie, Université Henri Poincare Nancy I, France, 106 p.
- Carmeliet P. & Jain R.K. (2000). Angiogenesis in cancer and other diseases. *Nature*, 407 : 249-257.
- Castelli M. & López S. (2017) Homoisoflavonoïdes : Occurrence, biosynthèse, et activité biologique. *Studies in Natural Products Chemistry*, 54 : 315-354.
- Chanput W., Peters V. & Wichers H. (2015). THP-1 and U937 Cells. The Impact of Food Bioactives on Health : *in vitro* and *ex vivo* models. *L'impact des bioactifs alimentaires sur la santé*, 14 : 147-159.
- Chekkat N. (2014). Etude de stratégie innovante pour augmenter l'efficacité antitumorale de ligands synthétiques de TRAIL-R2 et CD40. Thèse de doctorat en immunologie, Ecole doctorale des sciences de la vie et santé, Université de Strasbourg, France, 300 p.
- Chouya B. & Boudina N. (2019). Plantes médicinales et traitement anticancer dans la région steppique du Hodna (M'sila), Mémoire de master, Faculté des sciences département SNV, Université Mohamed Boudiaf - m'sila, Algérie, 32 p.
- Cornu J. N. & Cussenot O. (2011). Biologie moléculaire de la prostate normale et pathologie, 10 p.

- Cory S. & Adams J. (2002). The Bcl2 family : regulators of the cellular life-or-death switch. *Nature Reviews Cancer*, 2(9) : 647 - 56.
- Cossarizza A, Hyun-D.C., Andreas R., Andreas A. & Dieter A. (2019). Guidelines for the use of flow cytometry and cell sorting in immunological studies (second edition). *European Journal of Immunology*, 49(10) : 1457-1973.
- Cragg M.G. & Newman J.D. (2013). Natural products : A continuing source of novel drug leads. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1830(6) : 3670 - 3695.
- Cui H., Wenqiang Z., Li Z., Yang Q., Zhengxing X., Zhixin T., Pékin Y., Mingshuang T., Chao Y., Yutong W., Lin C., Chenghan X., Yanqiu Z., Yunjie L., Ling Z., Yanfang Y., Yuqin Y., Jiayuan L., Zhenmi L., Chunxia Y., Xia J. & Ben Z. (2024). "Risk Factors for Prostate Cancer : A General Review of Prospective Observational Studies and Mendelian Randomization Analyses. *plosmedicine*, 21(3) : 1-3.
- Darzynkiewicz Z., Piotr P., Brian W.L. & Gary L.J. (2011). Fluorochrome-labeled caspase inhibitors: practical in vitro and in vivo markers of apoptotic cells for cytometric analysis. *Methods in molecular biology*, 682 : 103 - 114.
- Dahmani D.I. (2022). Cours cytotoxicité. Université des Frère Mentouri Constantine Faculté des sciences de la nature et de la vie Département de Biologie Animale, Algérie, 27 p.
- De-Martel C., Georges D., Bray F., Ferlay J. & Clifford G.M. (2020). Global burden of cancer attributable to infections in 2018: a worldwide incidence analysis. *The Lancet Global Health*, 8(2) : 180-190.
- Decaux I. (2002). Phytothérapie : Mode d'emploi. Ed : le bien public. 6 p.
- Dermani F. K., Massoud S., Rezvan N., Shirin M. K., Zahra M., Negar B., Samane M., Noushin S., Ramazan K. & Fatemeh Z. (2021). Cytotoxic effects of hydroalcoholic extract of *Cuscuta chinensis* on PC3 and MCF7 cancer cell lines. *Avicenna Journal Phytomedicine*, 11(3) : 258-268.
- Desai A.G., Ghulam N.Q., Ramesh K.G., Mahmoud E.T., Jaswant S., Ajit K.S., Yashbir S.B., Subhash C.T. & Hari K.B. (2008). Medicinal Plants and Cancer Chemoprevention. *Current Drug Metabolism*, 9(7) : 581-591.
- Desmier T. (2016). Les antioxydants de nos jours : Définition et applications. Thèse pour le diplôme d'Etat de Docteur en pharmacie, Université de Limoges, France, 87 p.
- Dibala C.I. (2017). Composés phénoliques et propriétés biologiques de deux plantes de la pharmacopée traditionnelle utilisées contre les toxi-infections alimentaires au

- Burkina Faso. Thèse de Doctorat en Biochimie /Substances naturelles, Ecole doctorale sciences et technologies, Université Ouaga 1 Pr Joseph KI-ZERBO, Burkina Faso,192 p.
- Dickson A. & Peter J.H. (2007). Diterpénoïdes de cassane antibactériens et antioxydants issus de *Caesalpinia benthamiana*. *Phytochimie* ,68(10) : 1436-1441.
- Dickson R.A., Annan K. & Komlaga G. (2006). Pharmacognostic Standardization of the Leaves and Root Bark of *Caesalpinia benthamiana*. *Journal of Pharmacognosy*, 3(24) : 31-34.
- Dickson R.A., Fleischer T.C. & Houghton P.J. (2011). Cassane-type diterpenoids from the genus *Caesalpinia*. *Pharmacognosy Communications*, 1(1) :63-77.
- Dinicola S., Cucina A., Pasqualato A., Proietti S., D'Anselmi F. & Pasqua G. (2010). Facteur d'induction de l'apoptose et voies apoptotiques dépendantes de la caspase déclenchée par différents extraits de pépins de raisin sur la lignée cellulaire de cancer du côlon humain Caco-2. *British Journal of Nutrition*, 104(6) : 824 - 832.
- El-Elimat T., Rivera C. J., Burdette J. E., Czarnecki A., Alhawarri M., Al-Gharaibeh M., Alali F. & Oberlies N.H. (2018). Cytotoxic homoisoflavonoids from the bulbs of *Bellevalia flexuosa*. *Fitoterapia*, 127 : 201-206.
- El-Elimat T., Reema A.Q., Joanna E.B., Ahmed H.A .& Nicolas H.O. (2022). Homoisoflavonoids from the bulbs of *Bellevalia longipes* and evaluation of their potential cytotoxic activity. *phytochemistry*, 203 : 113-343.
- Elmore S. (2007). Apoptosis: A review of programmed cell death. *Toxicology Pathology*, 35(4) : 495-516.
- Emeraux E. (2019). Propriétés biologiques des flavonoïdes : Etude bibliographique et évaluation de l'activité antioxydante. Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie, Faculté de pharmacie, Université de Lorraine, France, 85 p.
- Enneb H., Belkadhi A., Cheour F. & Ferchichi A. (2015). Comparison of phenolic compounds and antioxidant power of the henna plant (*Lawsonia inermis* L.). *Journal of a new sciences*, 20(2) : 2286-5314.
- Favier A. (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales pharmaceutiques françaises*, 64(6) : 390-396.
- Feras A., El-Elimat T. , Hanan A., Qosay A.B., Mohammed A.G , Joseph O. F., Wei-Lun C., Steven M S. & Nicolas H.O. (2015). Cytotoxic homoisoflavones from the bulbs of *Bellevalia eigii*. *Journal Natural Product*, 78(7) : 1708-1715.

- Fondation ARC. (2022). La recherche sur le cancer mélanome. Médecine humaine et pathologie. Université Paris Sud - Paris XI, 2011, 201 p.
- Fournel S. (2024). How flow cytometry could cell proliferation be useful to and death ? Université de Strasbourg, faculté de science de la vie, 58 p.
- Fuchs C. (2018). Impact de SRP72 sur le facteur de transcription ETV6 dans la leucémie aiguë lymphoblastique. Master en Biochimie, Faculté de médecine, Université de Montréal, Canada, 87 p.
- Galluzzi L., Ilić V., Stuart A.A. (2018). Molecular mechanisms of cell death: Recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018e. *Cell Death & Differentiation*, 25(3) : 486-541.
- Garait B. (2006). Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la glisodin. Thèse de Doctorat en Biologie cellulaire, sciences-technologie-sante, Université Joseph Fourier-grenoble 1, France, 159 p.
- Garlan F. (2019). Nouvelles méthodes de détection de l'ADN tumoral circulant par PCR digitale en gouttelettes : Application au suivi des patients. Thèse de Doctorat, Faculté des Sciences Fondamentales et Biomédicales UMRS1147 - MEPPOT Ecole doctorale : Frontières du Vivant de l'Université Paris Descartes, France, 294 p.
- Giles K., Wildgoose J. L., Langridge D. J. & Campuzano I. (2010). A method for direct measurement of ion mobilities using a travelling wave ion guide. *Journal International Journal of Mass Spectrometry*, 298(1-3) : 10-16.
- Globocan. (2022). Statistics at a glance, 2022 : Côte d'Ivoire, 2 p.
<https://gco.iarc.who.int/today>.
- Guengerich P. F. (2000). Metabolism of chemical carcinogen. *Carcinogenesis*, 21(3) : 345-351.
- Gutierrez C. D., Bauer A. M., Aguielera A., Austriaco A. & Belenki P. (2018). Guidelines and recommendations on the nomenclature of yeast cell death. *Cellule microbienne*, 5(1) : 4-31.
- Habibou H. H., Idrissa M, Ikhiri K. (2019). Antioxidant activity of methanolic extracts from different organs of *Detarium microcarpum* Guill. & Perr. *European Scientific Journal*, 15(12) : 159- 171.
- Hadisaputri Y., Oummi H., Fajar F.A., Eli H., Mutakin M., Megantara S., Rizky A. & Ajeng D. (2021). Antiproliferation activity and apoptotic mechanism of soursop

- (*Annona muricata* L.) Leaves Extract and fractions on MCF7 breast cancer cells. *Dove Medical Press*, 13 :447- 457.
- Haleng J., Pincemail J., Defraigne J.O., Arlier. & Aelle J.P. (2007). Le stress oxydant. 11 p
https://www.chu.ulg.ac.be/upload/docs/application/pdf/2010-01/stress_oxydant_rmlg_2007.pdf. Consulté en janvier 2025.
- Han L., Boakye Y.M., Liu E., Zhang Y., Li W., Song X., Fu F. & Gao X. (2012). Structural characterisation and identification of phenylethanoid glycosides from *Cistanches deserticola* YC by HPLC/ESI-QTOF-MS/MS. *Phytochemical analysis*, 23 : 668-676.
- Hanahan D.& Weinberg R. (2011). Hallmarks of cancer : the next generation. *Cell*, 144(5) : 646-674.
- Hayat J., Mustapha A., Abdelmajid M., Ali S., Dit E. & Saadia B. (2020). Phytochemical screening, polyphenols, flavonoids and tannin content, antioxidant activities and FTIR characterization of *Marrubium vulgare* L. from 2 different localities of Northeast of Morocco. *Héliyon*, 6(11) : 854-877.
- Herrera N.J., Carlos P.P., Víctor A.C.T., Mariano M.V., Alma R.G.E. & Alejandro Z.D. (2019). Selective Acetogenins and their potential as anticancer agent. *Frontiers Pharmacology*, 18(10) :783.
- Ho B.H., Sabina S., Kyung H.B. & Somi K.C. (2015). Evaluation of antioxidant potential of ethyl acetate fraction of *Rosmarinus officinalis* L. and its major components. *Journal of Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 58 :715-722.
- Holou R.A.Y., Teka O.S., Kindomihou V. & Sinsin A.B. (2011). Germination et utilisation de *Caesalpinia benthiana* (Baillon) P. (Leguminosae-Caesalpinaceae) dans l'aménagement anti-érosif des retenues d'hydraulique pastorale au Bénin. *International. Journal. Biology Chemical Science*, 5(2) : 533-545.
- Hong J., Seok J.K., Shengmin S., Jihyeung J., Jian-nian Z., Chi-Tang H., Mou-Tuan H. & Chung S.Y. (2007). Effects of garcinol and its derivatives on intestinal cell growth: Inhibitory effects and autoxidation-dependent growth-stimulatory. *Free Radical Biology and Medicine*, 42(8) : 1211-1221.
- Hotchkiss R.S. & Strasser A. (2009). "Cell death." *N Engl. Journal Medecine*, 361(16) :1570-1583.
- Houghton P.J., Ashidia, J.S., Hylandsa P.J. & Efferth T. (2010). Ethnobotanical survey and cytotoxicity testing of plants of South-western Nigeria used to treat cancer, with

- isolation of cytotoxic constituents from *Cajanus cajan* Millsp leaves. *Journal of Ethnopharmacology* 128 : 501-512.
- INCa. (2023). Les derniers chiffres sur le cancer de la prostate. <http://m.cerhom.fr>.
Consulté en février 2025.
- INCa. (2008). Tumeur maligne, affection maligne du tissu lymphatique ou hématopoïétique
Cancer colorectal, 33 p.
- Jemal A., Siegel R., Ward E., Murray T., Xu J. & Thun M.J. (2007). Cancer statistics 2007. *Cancer Journal for Clinicians*, 57(1): 43-66.
- Jerry L.M. (2008). Papaya and cancer : Annonaceous acetogenins, from discovery to commercial products. *Tropical Journal of Natural Product*, 71(7) : 1311-1321.
- Jiang H. B., Jing H., Ming J.G., Ping Z. & Xiang Q.T. (2007). Progrès récents dans l'étude des homoisoflavonoïdes naturels. *YaoXue XueBao*, 42(2) : 118-126.
- Jianwei D., Cai L., Ding Z. (2015). Re-evaluation of ABTS⁺ assay for total antioxidant Capacity of Natural Products. *Cancer and oncology research*, 10(12) : 2169-2172.
- Jongmin A., Hee-Sung C., Young-Won C. & Jinwoong K. (2017). Dereplication-Guided Isolation of New Phenylpropanoid-Substituted Diglycosides from *Cistanche salsa* and their inhibitory activity on NO Production in Macrophage. *Journal of Molecular Biology*, 22(7) : 1131-1138.
- Jössang A., Leboeuf M.A., Cave M. D. & Riche C.R.A. (1977). Annonaceous alkaloids XVII : Alkaloids from *Enantia polycarpa* Engl. & Diels. *Planta Medicine*, 32(7) : 249-257.
- Kabran G.R., Ambeu N.C., Mamyrbéko B.J. A. & Békro Y.A. (2011). CCM d'extraits sélectifs de 10 Plantes utilisées dans le traitement traditionnel du cancer du sein en Côte d'Ivoire. *European Journal of Scientific Research*, 63(4) : 592-603.
- Kamanzi A.K., Schmid C., Brun R., Koné M.W. & Traore D. (2004). Antitrypanosomal and antiplasmodial activity of medicinal plants from Cote d'Ivoire. *Journal ethnopharmacology*, 90(2-3) : 221-227.
- Kao T.H., Wu W.M., Hung C., Wu W.B. & Chen B.H. (2007). Anti-inflammatory effects of isoflavone powder produced from soybean cake click to copy article link. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(26) : 11068-11079.
- Kaur G. & Dufour M. J. (2012). Lignées cellulaires. *Spermatogenèse*, 2(1) : 1-5.
- Kipré G.R., Offoumou M.R., Silue K.D., Bouabre G., Zirihi G.N. & Djaman A.J. (2017). Enquête ethnopharmacologique des plantes antipaludiques dans le département

- d'Agboville, Sud-Est de la Côte d'Ivoire. *Journal of Applied Biosciences* 109 : 10618-10629.
- Koffi A. E. (2013). Study of the antibacterial activity of extracts of *Morinda morindoides* (Baker) Milne-Redhead (Rubiaceae), on the *in vitro* growth of clinical strains and environmental strains of *Vibrio cholerae* O : 1. Thèse de Doctorat en Biochimie, Félix Houphouët-Boigny University, Abidjan, Cote d'Ivoire, 124 p.
- Konda K. M., Kabakura M., Mbembe B., Itufa Y., Kavun M., Mafuta M., Mpoyi K., Ndemankeni I., Kadima K., Kelela B., Ngiuvu V., Bongombola M. & Dumu. L. (2012). Plantes médicinales de traditions Province de l'Equateur-R. D Congo, 419 p.
- Koni J.M. & Bostoën K. (2008). Noms et usages des plantes utiles chez les Nsong. *Göteborg Africana Informa*, 6 :1404-8523, 66 p.
- Kouadio K.B. (2022). Chemical and biological study of the leaves of *Turraea heterophylla* (Meliaceae), a medicinal plant from the Côte d'Ivoire. Thèse de Doctorat en chimie Organique, UFR environnement, Jean Lorougnon Guédé Université de Daloa, Côte d'Ivoire, 189 p.
- Koutsilieris M., Reyes-Moreno C., Je C., Doillon C. & Pavlidis N. (1999). The cytotoxicity of chemotherapy of human breast cancer cells MCF-7 and MDA-MB 231 is altered by growth factors derived from osteoblasts. *Journal of Molecular Medicine*, 5(2) : 86-97.
- Kpemissi A.E. (2007). Les Anacardiaceae du Togo : Etudes botaniques, écologiques et propriétés antifongiques. Thèse de Doctorat en pharmacie, sciences pharmaceutiques et biologie végétale, Université de Lomé, Togo, 80 p.
- Kporou K.E., Ouattara S., Cendrine S., Sylvie F. & Benoit F. (2018). Etude de quelques propriétés biologiques de *Ocimum gratissimum* L., une Lamiaceae Recoltée à Daloa (Côte d'Ivoire). *European Scientific Journal* 14(3) : 1857 -7881.
- Kroemer G., Galluzzi L.,Vandenabeele P., Abrams J., Alnemri E. S., Baehrecke E.H., Blagosklonny M.V., El-Deiry W.S., Golstein P., Green D R, Hengartner M., Knight R. A., Kumar S., Lipton S. A., Malorni W., Nuñez G, Peter M.E., Tschopp J., Yuan J., Piacentini M., Zhivotovsky B. & Melino G. (2009). Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2009. *Cell Death & Differentiation*, 16 : 3-11.

- Kuete V., Benjamin K., Mahmoud Y., Igor V., Aimé G.F., Simplicite T., Stephen L. & Thomas E. (2011). Cytotoxicity of some Cameroonian spices and selected medicinal plant extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 134 : 803-812.
- Kumatia K. E., Annan K., Rita A. D., Abraham Y. M., Isaac K.A., Nguyen H.T., Augustin O. & Salomon H. (2016). Activités anti-inflammatoires et analgésiques de Annickiune tige de *Polycarpa* en arrière et ses constituants. *Der Pharmacia Lettre*, 2016, 8(13) : 42-52.
- LA LIGUE. (2022). Mener une lutte internationale. <https://www.ligue-cancer.net/articles/mener-une-lutte-inter>. Consulté en septembre 2025.
- Lingrand M. (2019). Implication de la stéaroyl-coenzyme a désaturase-1 dans la migration des cellules de cancer du sein métastatique. Mémoire en Biologie Université du Québec à Montréal, Canada, 123 p.
- Le-Ma., Gang L., Ming D., Geng Z., Frank B., Walter C.W., Rimm S. C. D., Joann E.M. & Qi S. (2020). Isoflavone intake and the risk of coronary heart disease in US men and women: results from three prospective cohort studies. *Circulation*, 141(14) : 1127-1137.
- Lemaire J., Romain L., Michael P., Christelle C. & Nicolas P. (2020). Aspects fondamentaux du développement tumoral. *Bulletin du Cancer*, 107(11) : 1148 - 1160.
- Li N., Zhihao S., Yuping T., Jianwei C. & Xiang L. (2008). Recent advances in the total synthesis of acetogenins from Annonaceae. *Journal of Organic. Chemistry*, 5(4) : 1-48.
- Li S., Xuewen W., Wang N., Shilan L., Dafen X., Bing C., Ailin L., Liying H., Xinhua L. & Hong Y. (2020). Ethyl acetate extract of *Selaginella doederleinii* Hieron induces autophagic cell death and apoptosis via PI3K-Akt-mTOR and AMPK α signaling. *Frontiers. Pharmacology*, 11(565090) : 1-17
- Lin L.G., Qian Y. L. & Yang Y. (2014). Naturally occurring homoisoflavonoids and their pharmacological activities. *Plante Médica*, 80(13) : 1053-1066.
- Li-Weber M. (2009). New therapeutic aspects of flavones : the anticancer properties of *Scutellaria* and its main active constituents Wogonin, Baicalein and Baicalin. *Cancer treatment reviews*, 35(1) : 57-68.
- Liu XX., Pilarinou E. & McLaughlin J. L. (1999). Two novel acetogenins, annoglaxin and 27-hydroxybullatacin, from *Annona glabra*. *Journal of Natural Product*, 62(6) :848-852.

- Lorinet C. (2014). Cancer du sein. 50 p.
<https://chrysalides1215.wordpress.com/wp-content/uploads/2014/12/u-e-2-9-2014-11-27-mme-lorinet-cancers-du-sein-v2.pdf>.
Consulté en février 2025.
- Loua J., Traore M., Aissata C., Mamadou A. B., Louis M., Luc P. & Aliou M. B. (2017). Biological and Phytochemical Investigations on *Caesalpinia benthamiana*, a Plant traditionally used as antimalarial in guinea. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2017 (9438607) : 1-7.
- Lovitt C.J., Shelper, T.B. & Avery V.M. (2018). Doxorubicin resistance in breast cancer cells is mediated by extracellular matrix proteins. *BMC cancer*, 18(1) : 41-52.
- Mankele R., Ouamba J.M., Abena A.A. & Yalaf. (2006). Étude des effets de *Morinda morindoides* (Back) sur le système immunitaire de l'homme. *Phytothérapie*, 4(2) : 68-73.
- Marc F., André D., Laurence D., Carine F., Michel B. & Pierre F. (2004). Études de plusieurs méthodes analytiques pour l'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *Medecine Science*, 20(4) : 458-463.
- Mario A.G.H., Fany E.Á.E., Gabriela R.G., Mauro M.M.P., Rosa M.E.M., Teresa P.B., José L. S.H., Hugo A.G.G., Carlos M.C.G.R., Pedro J.N. & Rosa E.D.R. (2013). Cassane diterpenes from *Caesalpinia platyloba*. *Phytochemistry*, 96 : 397-403.
- Marra G., Paolo G., Paolo A., Claudia F., Marco O., Fernando M., Estefania L., Rafael S.S., Ben C., Prokar D., Sanchia G., Popert R., Declan C., David G., Raj P., Juan P., Steven J., Thierry P., Alessandro M., Sharma V., Morgan R., De La Taille A., Simone A., Giorgio G., Alexander M., Shreyas J., Gabriel F., André B., Monish A., Henk Van Der P., Derya T., Nathan L., Declan G. M., Gordon L., John D. & Robert J. K. (2019). Salvage radical prostatectomy for recurrent prostate cancer : Morbidity and functional outcomes from a large multicenter series of open and robotic approaches. *Journal of Urology*, 202(4) : 725-731.
- Matillon X., Crouzet S., Murat F.J., Cherasse A. & Martin X. (2012). Cryothérapie de rattrapage pour récurrence de cancer de prostate après radiothérapie externe. *Progrès en Urologie*, 22(13) : 741-860.
- Mayola E. (2012). Etudes des mécanismes de mort cellulaire et résistance des cellules cancéreuses pour le développement de nouvelles approches

- thérapeutiques : Modèle du mélanome. Thèse de Doctorat de Cancérologie- Biochimie, Biologie cellulaire et moléculaire, Université Paris Sud - Paris XI, France, 201 p.
- Mbagwu H.O.C. & Adeyemi O.O. (2008). Anti-diarrhoeal activity of the aqueous extract of *Mezoneuron benthamianum* Baill (Caesalpiniaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 116(2008) : 16-20.
- Mbagwu H.O.C., Anène R.A. & Olufunmilayo O.A. (2007). Analgesic, antipyretic and anti-inflammatory properties of *Mezoneuron benthamianum* Baill (Caesalpiniaceae). *Planta Medica*, 72(1) : 35-41.
- Mellali S. (2022). Cours de culture cellulaire master, polycopié. Université Ahmed Zabana, Relizane, Faculté des Sciences et Technologies, Département des Sciences Biologiques, Algerie, 72 p.
- Merghem R. (2019). Chapitre 3 : les terpènes et leurs dérivés. Cours de licence biochimie, faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Constantine 1, Algérie, 10 p.
- Menet M.C. (2011). Principes de la spectrométrie de masse. *Revue francophone de laboratoire*, 2011(437) : 41-53.
- Moldovan P.L. (2014). Impact anti-inflammatoire de la lutéoline sur l'expression de la cyclooxygenase-2 induite par l'interleukine dans les glioblastomes. Mémoire de master, Université du Québec à Montréal, Canada, 76 p.
- Monyn E.D., Yeo S.O., Kouame B.A. & Kone M.W. (2021). Antioxidant activity and chemical composition of extracts from the leaves of *Hydrocotyle bonariensis* comm. *The Journal of Phytopharmacology* ,10(6) : 443-449.
- Mouas N.T., Zahia K., Meriem B., & Yamina B. (2021). Biological assessment of *Cinnamomum zeylanicum* percolate. Powerpoint, 16 p.
- Muniz N.M. (2007). Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (+) -anatoxine-a et la (±) -camptothécine. Thèse de Doctorat en chimie, Université Joseph Fourier-Grenoble 1, France, 195 p.
- Nasr A. F., Nael A., Mohammad Al-Z., Muhammad F. & Mohammad A W. (2018). Anticancer potential of plant extracts from riyadh (Saudi Arabia) on mdamb-231 breast cancer cells. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 15(4) : 46-53.
- Nedjma C. (2022). Physiologie Cellulaire (Programme de cours 1ère année Docteurs

- Vétérinaires), Université des frères Mentouri Constantine, Algérie, 120 p.
- Nelson K.V., Nalini K.S., Madhusmita S., Hari H., Sudhan C., Pullaiah P. & Kanuri S. M. (2020). *In vitro* anticancer activity of *Eclipta alba* whole plant extract on colon cancer cell HCT116. *Complementary Medicine and Therapies*, 20(1) : 355-358.
- Nicod L. (2012). Introduction à la biologie cellulaire. UFR sciences médicales et pharmaceutiques, Université de Franche-Comté, France, 23 p.
- Nishida Y., Kensuke W., Daiki T., Toshiharu T., Ono M. & Shin Y. (2013). Les homosoflavones comme antioxydants issus des bulbes de *Scilla scilloides*. *Natural Product Research*, 27(24) : 2360-2362.
- Okiemy A.M.G., Ongoka P.R., Gatouillat G.A., Lavaud C., & Madoulet C. (2010). Cytotoxic effect induced by *Morinda morindoides* leaf extracts in human and murine leukemia cells. *African Journal of Biotechnology*, 9(39) : 6560-6565.
- Oludare O.A., Bawa I S., Onyinyechukwu O.G., Joseph A.O., Wahedi A.J. & Joshua O.O. (2022). Prostate Cancer : Causes and medicinal plants used in Africa for Twenty Years (2001-2021). *Pharmacognosy Journal*, 14(6) : 822-828.
- OMS. (2020). Assessing national capacity for the prevention and control of non-communicable diseases: Report of the 2019 global survey. Consulté en juillet 2024
- OMS. (2023). Journée mondiale contre le cancer 2023. <https://www.afro.who.int/fr/regional-director/speechesmessages/journee-mondiale-contre-le-cancer-2023>. Consulté en Août 2024.
- OMS. (2024a). Cancer : une charge toujours plus lourde dans le monde et des besoins en services croissants. Communiqué de presse Lyon (France) et Genève (Suisse). <https://www.who.int/fr/news/item/01-02-2024-global-cancer-burden-growing--amidst-mounting-need-for-services>. Consulté en Août 2024.
- OMS. (2024b). Cancer : une charge toujours plus lourde dans le monde et des besoins en services croissants. <https://www.who.int/fr/news/item/01-02-2024-global-cancer-burden-growing--amidst-mounting-need-for-services>. Consulté en Août 2024.

- OMS. (2024c). Journée mondiale contre le cancer 2024 en région Africaine, Message de la Directrice régionale de l'OMS pour l'Afrique, Dre Matshidiso Moeti. <https://www.afro.who.int/fr/regional-director/speeches-messages/journee-mondiale-contre-le-cancer-2024>. Consulté en Août 2024.
- OMS. (2024d). Initiative WICS : la femme au centre de la lutte contre les cancers du sein et du col de l'utérus : Côte d'Ivoire. <https://www.afro.who.int/fr/countries/cote-divoire/news/initiative-wics-la-femme-au-centre-de-la-lutte-contre-les-cancers-du-sein-et-du-col-de-luterus>. Consulté en Août 2024.
- Onur U., Tugba S., Murat S., Sibel G. & Ayla E.S. (2018). Culture cellulaire et tissulaire : la base de la biotechnologie. *Technologies omiques et bio-ingénierie*, 17 : 391-429.
- Osamudiamen P.M., Bolaji B., Oluremi O.F.T. & Olapeju O. (2020). Inhibitory effects of *Mezoneuron benthamianum* root extracts on oral cariogenic microorganisms and on the scavenging of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical. *phytoscience Clinique*, 6(49): 1-7.
- Osho A. (2014). Ethnopharmacological Properties of *Ceasalpinia benthamiana*. *British Microbiology Research Journal*, 4(2) : 206-213.
- Pantel K. & Alix-Panabières C. (2010). Circulating tumour cells in cancers patients : challenges and perspectives. *Trends in Molecular Medicine*, 16(9) : 398-406.
- Parzych K.R. & Klionsky D.J. (2014). An overview of autophagy : Morphology, mechanism, and regulation. *In Antioxidants and Redox Signaling*, 20(3) : 460-473.
- Pezet M. (2015). Plateforme de cytométrie en flux atelier pratique : cytométrie en flux et recherche sur le cancer. Université Joseph Fourier, Grenoble, France, 7 p.
- Pincemail J., Meurisse M., Limet R. & Defraigne J. O. (1999). Activated oxygen species, antioxidants and cancer. *Vessels, Heart, Lungs*, 4 : 1-7.
- Pistritto G., Daniela T., Claudia C., Alessia G. & Gabriella D. (2016). Apoptosis as anticancer mechanism: function and dysfunction of its modulators and targeted therapeutic strategies. *Aging*, 8(4) : 603-619.
- PNLCA. (2022). Profil épidémiologique du cancer en Côte d'Ivoire. Programme national de lutte contre le cancer. <https://www.pnlca.org/copy-of-cancer-en-cote-d-ivoire>. Consulté en Août 2024.

- Potts L.F., Luzzio F.A., Smith S.C., Hetman M.C.P. & Litvan I. (2012). « Annonacin in *Asimina triloba* fruit : implications for neurotoxicity ». *NeuroToxicology*, 33(1) : 53-58.
- Powers S.K. & Jackson M.J. (2008). Exercise-induced oxidative stress : cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiological Reviews*, 88(4) :1243-1276.
- Prasad S.K, Pradeep S., Shimavallu C., Kollur S.P, Syed A., Marraiki N., Egbuna C., Gaman M.-A., Kosakowska O. & Cho W.C. (2021). Evaluation of *A. Muricata* acetogenins as potential anti-SARS-CoV-2 agents using computational approaches. *Frontiers in chemistry*, 8 : 624-716.
- Prasad S., Gupta C., Amit K. & Tyagi A. K. (2017). Reactive oxygen species (ROS) and cancer : The role of antioxidant nutraceuticals. *Lettres sur le cancer*, 387 : 95 -105.
- Prior L.R, Xianli W. & Karen S. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10) : 4290-4302.
- PSN (2022). Plan Stratégique National de lutte contre le cancer 2022-2025. Ministère de la santé de Côte d'Ivoire, 119 p.
- Pujalté I. (2011). Étude *in vitro* de la toxicité de nanoparticules métalliques (TiO₂, ZnO, CdS) sur la cible rénale. Thèse de Doctorat en Sciences, Technologie, Santé de l'Université Bordeaux 2, France, 219 p.
- Quirantes P.R., Lozano S.J., Herrero M., Ibanez E., Segura C.A. & Fernández G.A. (2013). HPLC-ESI-QTOF-MS as a powerful analytical tool for characterizing phenolic compounds in olive leaf extracts. *Phytochemical analysis*, 24 : 213-223.
- Rahman A.M., Sahabjada J. & Juber A. (2016). Evaluation of anticancer activity of *Cordia dichotoma* leaves against a human prostate carcinoma cell line, PC3. *Journal-of-traditional-and-complementary-medicine*, 7(3) : 315 - 321.
- Ranjani M., Makthala R., Snehlata S. & Prem P.Y. (2011). A review on cassane and norcassane diterpenes and their pharmacological studies, *Fitoterapia*, 83(2) : 272-280.
- Rauci A., Palumbo R. & Bianchi R.E. (2007). "HMGB1 : a signal of necrosis." Autoimmunity, *Autoimmunity*, 40(4) : 285-289.
- Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M. & Rice-Evans.C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10) : 1231-1237.

- Reymond C. (2022). La spectrométrie de masse en couplage avec la chromatographie en phase liquide et supercritique : vers une description plus détaillée des mélanges complexes oxygénés et hydrocarbonés. Thèse de Doctorat en Chimie Analytique, Ecole Doctorale N° 206 Ecole Doctorale de Chimie de Lyon, de l'Université de Lyon, France, 273 p.
- Rice-Evans C.A., Miller N.J. & Paganga G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20(7) : 933-956.
- Robert T., Green L. M. P. H., Taylor M., Sherry B. & Phyllis A.W. (2000). Cancer Statistics, 2000. *Cancer Journal Clinician*, 50 :7-33.
- Robert J. (2010). Signalisation cellulaire et cancer/Cell signalling and cancer. *Bulletin du cancer*, 97(11) : 1215 -1222.
- Roduan R.M., Roslida A.H., Yoke K.C. & Norhafizah M. (2019). Cytotoxicity, Antitumor, and Antioxidant Activities of *Annona muricata in vitro*. *Journal of herbal medicine*, 15 : 100-119.
- Rosa H., Pamela C., Caroline F.O., Naira F.Z.S., Flavio H.R., Cláudia M.O.S. & Izabella T.S. (2020). Cytotoxic effects of a triterpene-enriched fraction of *Cecropia pachystachya* on the human hormone-refractory prostate cancer PC3 cell line. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 130 : 110 -551.
- Rosidi B., Priyatno D., Putra T.P. & Yusuf I. (2023). La metformine induit une apoptose non liée à la caspase 3 dans les lignées cellulaires du cancer colorectal humain HCT116 et SW620. *International medical case reports journal*, 2023(15) : 475- 485.
- Roukia H., Dehak K., Mahfoud H.M. & Mohammed D.O. (2015). Composition chimique et activité antioxydante des huiles essentielles de *Deverra scoparia* coss. & dur. (Apiacées). *Lebanese Science Journal*, 16(2) : 27-36.
- Ruhban A.P., Irfan A.M., Basharat A.B., Mahboob U.H., Suhail A., Gaffar S.Z., Nasreena B., Sharad V. & Showkat A. G. (2025). Exploring the cytotoxic effects of bioactive compounds from *Alcea rosea* against stem cell driven colon carcinogenesis. *Scientific Reports*, 15 : 58-92.
- Sabrina K. (2004). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal : surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes

- consommées. Thèse de Doctorat écologie et chimie des substances naturelles, Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, France, 348 p.
- Sawadogo W.R, Luo Y., Elkington B., He T.C, Wang C.Z. & Yuan C.S. (2020). Cytotoxicity and Preliminary Analysis of the Pro-apoptotic and Cell Cycle Arrest Effects of *Lantana ukambensis* Against Colorectal Cancer Cells. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, 11(3) : 170-187.
- Selma L. & Dalia D. (2021). Etude théorique et statistique sur la leucémie : comparaison entre trois continents et connaître les facteurs responsables de sa propagation. Master en Biochimie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université des Frères Mentouri Constantine, Algérie, 76 p.
- Seyer A. (2011). Imagerie par spectrométrie de masse : Développements méthodologiques et applications biologiques. Thèse de Doctorat, Ecole doctorale des génomes aux organismes, Université d'Evry-val d'Essonne, France, 300 p.
- Shi J.F., Ping W., Xiao-Li C., Xiao-Yi W. & Zi-Hua J. (2020). Synthesis and Cytotoxic Property of Annonaceous Acetogenin Glycoconjugates. *Drug Design, Development and Therapy*, 14 : 4993-5004.
- Shui G. & Leong L.P. (2002). Une étude sur la capacité antioxydante des fruits sur les marchés de Singapour. *Chimie alimentaire*, 76(1) : 69-75.
- Souala A.F., Merani A. & Sedraia S. (2021). Evaluation de l'effet génotoxique par le test d'*Allium cepa* des éventuels perturbateurs endocriniens présents dans les eaux usées de la STEP de Guelma. Mémoire de Master en Biologie Moléculaire et Cellulaire, Faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers, Université 8 mai 1945 Guelma, Algérie, 61 p.
- Suffness M. & Pezzuto J. M. (1990). Assays related to cancer drug discovery. *Methods in Plant Biochemistry*, 6 : 71- 133.
- Sun S., Jingchun L., Xiuxiu S., Wenjun Z., Fei Y., Lisa F. Q., Ping D. & Kequan Z. (2017). Novel Annonaceous acetogenins from *Graviola (Annona muricata)* fruits with strong anti-proliferative activity. *Tetrahedron Letters*, 58(19) : 1895-1899.
- Tachour S.H. (2005). Mécanismes moléculaires de la carcinogénèse. Cours d'anatomie pathologique, 3ème année médecine, Université de Sorbonne, Grenoble, France, 6 p.

- Tai S., Soleil Y., Jill M. S., Hong Z., William K. Oh C.Z.L. & Jiaoti H. (2011). PC3 is a cell line characteristic of prostatic small cell carcinoma. *Prostate* 71(15) : 1668-1679.
- Tayo I., Famojuro T.O., Elufioye O.A., Olajide M.D. & Adeboye A. (2022). New cytotoxic compounds from the leaves of *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. & Zarucchi (Fabaceae). *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 11(1) : 54-67.
- Tepe B., Dimitra D., Atalay S, Munevver S. & Moschos P. (2005). Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 90(3) : 333-340.
- Thierry R. A. & Tanos R. (2018). Biopsie liquide : Une approche possible pour le dépistage du cancer. *Sciences médicales (Paris)*, 34(10) : 824-832.
- Thieury C. (2017). Les anticancéreux dans la biodiversité végétale mondiale et en Nouvelle-Calédonie. Thèse pour le diplôme d'Etat de Docteur en pharmacie, Université de Caen Normandie, France, 132 p.
- Thirion A. (2018). Prise en charge des effets indésirables chez les patients atteints de cancer et traités par radiothérapie. Thèse d'Etat en pharmacie, Université de Lorraine, France, 138 p.
- Toktam M., Toktam H., Kamali A., Mohammadi M., Ghorbani A., Shakeri D.A. & Spandidos A.M.T. (2015). Evaluation of the cytotoxic effects of *Cyperus longus* extract, fractions and its essential oil on the PC-3 and MCF7 cancer cell lines. *Oncology Letters*, 11(2) : 1792-1074.
- Traber M. G. & Stevens J.F. (2011). Vitamins C and E beneficial effects from a mechanistic perspective. *Free Radical Biology and Medicine*, 51(5) : 1000-1013.
- Traoré M.S., Balde M.A. & Diallo M.S.T. (2013). Ethnobotanical survey on medicinal plants used by Guinean traditional healers in the treatment of malaria. *Journal of Ethnopharmacology*, 150(3) : 1145-1153.
- Uğur D., Hatice G., Fatma G. & Ramazan M. (2017). Cytotoxic activities of certain medicinal plants on different cancer cell lines. *Turkish Journal Pharmaceutical Sciences*, 14(3) : 222-230.
- Vermes I., Clemens H., Helga S.N. & Chris R. (1995). A novel assay for apoptosis Flow cytometric detection of phosphatidylserine early apoptotic cells using

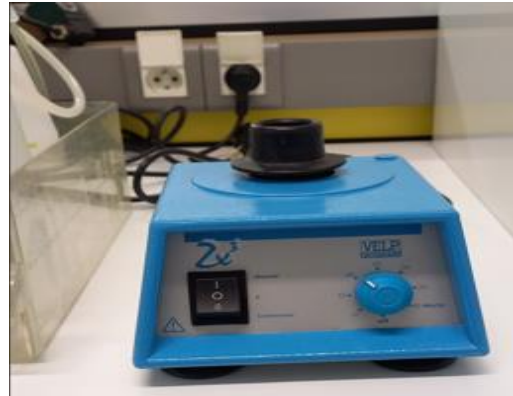
- fluorescein labelled expression on Annexin V. *Journal of Immunological Methods*, 184(1) : 39-51.
- Voirin-Mathieu N. (2018). Evaluation des performances analytiques d'un nouvel automate de cytométrie le XF-1600 Sysmex : Corrélation avec les Navios de Beckman Coulter. Thèse pour le diplôme d'État de Docteur en Pharmacie, Université de Limoges, France, 220 p.
- Vousden K.H. & Prives C. (2009). Blinded by the Light : The Growing Complexity of p53. *Cell*, 137(3) : 413 - 431.
- Wang Y., Steven C. & Oliver Y. (2011). Metabolic engineering of flavonoids in plants and microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 91(4) : 949-956.
- WCRF. (2018). Diet, nutrition, physical activity, and prostate cancer, 53 p.
- Xiang L., Yang H., Zhang N., Yaijung Y., Qiping Y. & Shihuai K. (2010). HPLC method for the simultaneous determination of ten announced acetogenins after supercritical fluid extraction with CO₂. *International Journal of Biomedical Sciences*, 6(3) : 202-207.
- Yap V.C., Kavita S., Subramaniam., Sik W.K. & Ivy C. (2017). Annonacin exerts antitumor activity through induction of apoptosis and extracellular signal-regulated kinase inhibition. *Pharmacognosy Research*, 9(4) : 378-383
- Zamblé A., Françoise M.N., Sevser S., Thierry H., Bart S., Regis B., Patrick D., Claude B. & François B. (2007). Vasoactivity, antioxidant and aphrodisiac properties of *Caesalpinia benthiana* roots. *Journal of Ethnopharmacology* 116(1) : 112-
- Zine S. (2018). Le corossol (*Annona muricata* L.) et ses propriétés thérapeutiques : Etat des lieux. Thèse de Docteur en Pharmacie, Université de Grenoble Alpes, Faculté de Pharmacie, Grenoble, France, 100 p.
- Zheng F.W., Han B., Fa Y.Z., Jing X.L., Fan C.M., Lu F., Jin J.L, Qing W.Z., Yang Y. & Gen-L.L. (2017). Cytotoxic cassan diterpenoids from *Caesalpinia sappan* seeds. *Chinese Chemical Letters*, 28(8) : 1711-1715.
- Zhou T., Geller M.A. & Lin W. (2012) : An observational study on the latitudes where wave forcing drives Brewer-Dobson upwelling. *Journal of the Atmospheric Sciences*, 69 : 1916-1935.

ANNEXE

Annexe 1 : Quelques matériels techniques utilisés au cours de méthodes



Bain-marie



Vortex



PSM



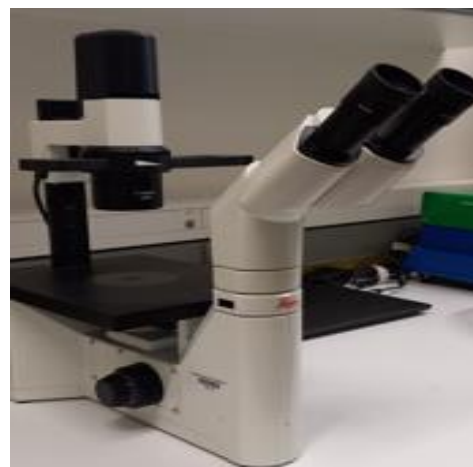
Countex



Microscope



Centrifugeuse



Microscope



Rotavapor

PUBLICATIONS

RESUME

Mezoneuron benthamianum, *Annickia polycarpa* et *Morinda morindoides*, trois plantes largement employées en médecine traditionnelle ivoirienne en raison de leurs vertus pharmacologiques. Cette étude, portant spécifiquement sur les feuilles de ces espèces, vise à valoriser les plantes médicinales de la flore ivoirienne. A cet effet, une extraction avec l'acétate d'éthyle a été réalisée à partir de 20 g d'extrait brut, suivie de l'évaluation de la cytotoxicité selon la méthode MTS sur plusieurs lignées cancéreuses. La cytométrie en flux a ensuite permis d'analyser le mécanisme de mort cellulaire, tandis que l'activité antioxydante a été mesurée par les tests de DPPH et ABTS. Enfin, l'identification des composés chimiques présents dans chaque extrait a été effectuée grâce au couplage HPLC-PDA-ESI-HRMS/MS. L'extrait de *A. polycarpa* a montré une cytotoxicité élevée contre les cellules HCT116 avec une CI_{50} de $1,61 \pm 0,08 \mu\text{g/mL}$, tandis que l'extrait de *M. benthamianum* a présenté une forte cytotoxicité contre les cellules PC3 avec une CI_{50} de $17,79 \pm 0,09 \mu\text{g/mL}$. Bien que cette étude préliminaire ne permette pas de déterminer précisément le mécanisme de mort cellulaire (apoptose ou nécrose), les résultats suggèrent que la majorité des cellules meurent par apoptose, en particulier avec *A. polycarpa*, qui entraîne 32,42 % de cellules mortes. Par ailleurs, les tests antiradicalaires ont révélé les propriétés antiradicalaires de ces extraits, notamment une activité marquée pour *M. benthamianum* ($CI_{50} = 13,97 \pm 0,9 \mu\text{g/mL}$). Les composés identifiés par couplage HPLC-PDA-ESI-HRMS/MS, étaient des diterpénoïdes, flavonoïdes, ainsi que l'annonacine et l'annoglaxine. Les résultats obtenus, notamment en termes de cytotoxicité et d'activité antioxydante, renforcent l'intérêt pour ces espèces dans la recherche de nouveaux agents bioactifs.

Mots clés : Acétate d'éthyle, cytotoxicité, antioxydant, HPLC-PDA-ESI-HRMS/MS, apoptose, nécrose

ABSTRACT

Mezoneuron benthamianum, *Annickia polycarpa*, and *Morinda morindoides* are three plants widely used in traditional Ivorian medicine due to their pharmacological properties. This study, specifically focused on the leaves of these species, aims to promote the medicinal plants of the Ivorian flora. An extraction with ethyl acetate was performed using 20 g of crude extract, followed by an evaluation of cytotoxicity using the MTS method on several cancer cell lines. Flow cytometry was then used to analyze the mechanism of cell death, while antioxidant activity was measured through DPPH and ABTS assays. Finally, the identification of chemical compounds present in each extract was carried out using HPLC-PDA-ESI-HRMS/MS coupling. The extract of *A. polycarpa* exhibited high cytotoxicity against HCT116 cells, with a CI_{50} of $1.61 \pm 0.08 \mu\text{g/mL}$, while the extract of *M. benthamianum* showed strong cytotoxicity against PC3 cells, with a CI_{50} of $17.79 \pm 0.09 \mu\text{g/mL}$. Although this preliminary study does not precisely determine the mechanism of cell death (apoptosis or necrosis), the results suggest that most cells die by apoptosis, particularly with *A. polycarpa*, which induces 32.42 % cell death. Moreover, antioxidant tests revealed the antiradical properties of these extracts, with a notably strong activity for *M. benthamianum* ($CI_{50} = 13.97 \pm 0.9 \mu\text{g/mL}$). The compounds identified through HPLC-PDA-ESI-HRMS/MS analysis included diterpenoids, flavonoids, as well as annonacin and annoglaxin. The results obtained, especially in terms of cytotoxicity and antioxidant activity, reinforce the interest in these species for the search for new bioactive agents.

Mots clés : Ethyl acetate, Cytotoxicity, Antioxidants, HPLC-PDA-ESI-HRMS/MS, Apoptosis, necrosis.

