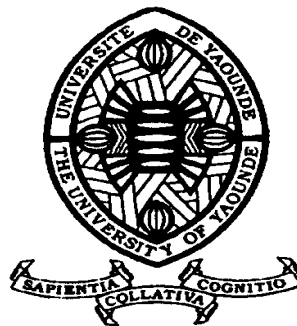


REPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix – Travail – Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE

LABORATOIRE DE MICROBIOLOGIE



REPUBLIC OF CAMEROUN

Peace – Work – Fatherland

UNIVERSITY OF YAOUNDE I
FACULTY OF SCIENCE
DEPARTMENT OF
BIOCHEMISTRY

LABORATORY OF
MICROBIOLOGY

Etude des propriétés préventives du stress oxydant, de l'inflammation et évaluation de l'activité anti-proliférative des extraits aqueux de *Ochna schweinfurthiana* et *Anthocleista schweinfurthii* sur les cellules métastatiques du sein

THESE'


« Présentée et soutenue en vue de l'obtention partielle du Doctorat/Ph.D en Biochimie »

Par : **DJOVA Steve Valdi**
Master en Biochimie

Sous la direction de
Pr NYEGUE Maximilienne Ascension
Maître de Conférences
Pr ETOA François-Xavier
Professeur

Année Académique : 2019



UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I Faculté des Sciences Division de la Programmation et du Suivi des Activités Académiques		THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I Faculty of Science Division of Programming and Follow-up of Academic Affairs
LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS		LIST OF PERMANENT TEACHING STAFF

ANNÉE ACADEMIQUE 2018/2019

(Par Département et par Grade)

DATE D'ACTUALISATION 19 Février 2019

ADMINISTRATION

DOYEN : TCHOUANKEU Jean- Claude, *Maître de Conférences*

VICE-DOYEN / DPSAA : DONGO Etienne, *Professeur*

VICE-DOYEN / DSSE : AJEAGAH Gideon AGHAINDUM, *Maître de Conférences*

VICE-DOYEN / DRC : ABOSSOLO Monique, *Maître de Conférences*

Chef Division Administrative et Financière : NDOYE FOE Marie C. F., *Maître de Conférences*

Chef Division des Affaires Académiques, de la Scolarité et de la Recherche DAASR :
 MBAZE MEVA'A Luc Léonard, *Professeur*

1- DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (37)

N°	NOMS ET PRÉNOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
2	MBACHAM FON Wilfried	Professeur	En poste
3	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	Chef de Département
4	NINTCHOM PENLAP V. épouse BENG	Professeur	En poste
5	OBEN Julius ENYONG	Professeur	En poste

6	ACHU Merci BIH	Maître de Conférences	En poste
7	ATOGHO Barbara Mma	Maître de Conférences	En poste
8	BELINGA née NDOYE FOE M. C. F.	Maître de Conférences	Chef DAF/FS
9	BIGOGA DIAGA Jude	Maître de Conférences	En poste

10	BOUDJEKO Thaddée	Maître de Conférences	En poste
11	EFFA NNOMO Pierre	Maître de Conférences	En poste
12	FOKOU Elie	Maître de Conférences	En poste
13	KANSCI Germain	Maître de Conférences	En poste
14	NANA Louise épouse WAKAM	Maître de Conférences	En poste
15	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
16	NGUEFACK Julienne	Maître de Conférences	En poste
17	NJAYOU Frédéric Nico	Maître de Conférences	En poste

18	AKINDEH MBUH NJI	Chargée de Cours	En poste
19	BEBOY EDZENGUELE Sara Nathalie	Chargée de Cours	En poste
20	DAKOLE DABOY Charles	Chargée de Cours	En poste
21	DJOKAM TAMO Rosine	Chargée de Cours	En poste
22	DJUIDJE NGOUNOUE Marcelline	Chargée de Cours	En poste
24	DJUIKWO NKONGA Ruth Viviane	Chargée de Cours	En poste
25	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Chargé de Cours	En poste
26	EWANE Cécile Anne	Chargée de Cours	En poste
27	FONKOUA Martin	Chargé de Cours	En poste
28	BEBEE Fadimatou	Chargée de Cours	En poste
29	KOTUE KAPTUE Charles	Chargé de Cours	En poste
30	LUNGA Paul KEILAH	Chargé de Cours	En poste
31	MANANGA Marlyse Joséphine	Chargée de Cours	En poste
32	MBONG ANGIE M. Mary Anne	Chargée de Cours	En poste
33	MOFOR née TEUGWA Clotilde	Chargée de Cours	Inspecteur de Service MINESUP
34	PACHANGOU NSANGOU Sylvain	Chargé de Cours	En poste
35	Palmer MASUMBE NETONGO	Chargé de Cours	En poste
36	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Chargée de Cours	En poste

37	MBOUCHE FANMOE Marceline Joëlle	Assistante	En poste
----	---------------------------------	------------	----------

2- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (BPA) (44)

1	BILONG BILONG Charles-Félix	Professeur	Chef de Département
2	DIMO Théophile	Professeur	En Poste
3	DJIETO LORDON Champlain	Professeur	En Poste
4	ESSOMBA née NTSAMA MBALA	Professeur	VDoyen/FMSB/UIYI

5	FOMENA Abraham	Professeur	En Poste
6	KAMGANG René	Professeur	<i>C.S. MINRESI</i>
7	KAMTCHOUING Pierre	Professeur	En poste
8	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste
9	NJIOKOU Flobert	Professeur	En Poste
10	NOLA Moïse	Professeur	En poste
11	TAN Paul VERNYUY	Professeur	En poste
12	TCHUEM TCHUENTE Louis Albert	Professeur	<i>Inspecteur de service Coord.Progr./MINSANTE</i>

13	AJEAGAH Gideon AGHAINDUM	Maître de Conférences	<i>VICE-DOYEN / DSSE</i>
14	DZEUFJET DJOMENI Paul Désiré	Maître de Conférences	En poste
15	FOTO MENBOHAN Samuel	Maître de Conférences	En poste
20	JATSA BOUKENG Hermine épouse MEGAPTCHÉ	Maître de Conférences	En Poste
16	KEKEUNOU Sévior	Maître de Conférences	En poste
17	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
18	MONY Ruth épouse NTONE	Maître de Conférences	En Poste
19	NGUEGUIM TSOFAK Florence	Maître de Conférences	En poste
21	TOMBI Jeannette	Maître de Conférences	En poste
22	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Maître de Conférences	En poste

23	ALENE Désirée Chantal	Chargée de Cours	En poste
24	ATSAMO Albert Donatien	Chargé de Cours	En poste
25	BELLET EDIMO Oscar Roger	Chargé de Cours	En poste
26	BILANDA Danielle Claude	Chargée de Cours	En poste
27	DJIOGUE Séfirin	Chargée de Cours	En poste
28	DONFACK Mireille	Chargée de Cours	En poste
29	GOUNOUE KAMKUMO Raceline	Chargée de Cours	En poste
30	KANDEDA KAVAYE Antoine	Chargé de Cours	En poste
31	LEKEUFACK FOLEFACK Guy B.	Chargé de Cours	En poste
32	MAHOB Raymond Joseph	Chargé de Cours	En poste
33	MBENOUN MASSE Paul Serge	Chargé de Cours	En poste
34	MOUNGANG LucianeMarlyse	Chargée de Cours	En poste
35	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Chargé de Cours	En poste
36	NGOUATEU KENFACK Omer Bébé	Chargé de Cours	En poste
37	NGUEMBOK	Chargé de Cours	En poste
38	NJUA Clarisse Yafi	Chargée de Cours	Chef Div. UBA

39	NOAH EWOTI Olive Vivien	Chargée de Cours	En poste
40	TADU Zephyrin	Chargé de Cours	En poste
41	YEDE	Chargé de Cours	En poste

43	ETEME ENAMA Serge	Assistant	En poste
44	KOGA MANG DOBARA	Assistant	En poste

3- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VÉGÉTALES (BPV) (27)

1	AMBANG Zachée	Professeur	Chef Division/UYII
2	BELL Joseph Martin	Professeur	En poste
3	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
4	YOUMBI Emmanuel	Professeur	Chef de Département
5	ZAPFACK Louis	Professeur	En poste

6	ANGONI Hyacinthe	Maître de Conférences	En poste
7	BIYE Elvire Hortense	Maître de Conférences	En poste
8	DJOCGOUE Pierre François	Maître de Conférences	En poste
9	KENGNE NOUMSI Ives Magloire	Maître de Conférences	En poste
10	MALA Armand William	Maître de Conférences	En poste
11	MBARGA BINDZI Marie Alain	Maître de Conférences	CT/Uds
12	MBOLO Marie	Maître de Conférences	En poste
13	NDONGO BEKOLO	Maître de Conférences	CE / MINRESI
14	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy L.	Maître de Conférences	En poste
15	TSOATA Esaïe	Maître de Conférences	En poste

16	GOMANDJE Christelle	Chargée de Cours	En poste
17	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Chargé de Cours	En poste
18	MAHBOU SOMO TOUKAM. Gabriel	Chargé de Cours	En poste
19	NGALLE Hermine BILLE	Chargée de Cours	En poste
20	NGOOU Lucas Vincent	Chargé de Cours	En poste
22	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Chargé de Cours	En poste
23	ONANA JEAN MICHEL	Chargé de Cours	En poste
24	NSOM ZAMO Annie Claude épouse PIAL	Chargée de Cours	Expert national/UNESCO

25	TONFACK Libert Brice	Chargé de Cours	En poste
----	----------------------	-----------------	----------

26	DJEUANI Astride Carole	Assistante	En poste
27	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Assistante	En poste

4- DÉPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (CI) (32)

1	AGWARA ONDOH Moïse	Professeur	<i>Vice Recteur Univ. Bamenda</i>
2	ELIMBI Antoine	Professeur	En poste
3	Florence UFI CHINJE épouse MELO	Professeur	<i>Recteur Univ. Ngaoundere</i>
4	GHO GOMU Paul MINGO	Professeur	<i>Ministre Chargé de Miss. PR</i>
5	NANSEU Njiki Charles Péguy	Professeur	En poste
6	NDIFON Peter TEKE	Professeur	<i>CT MINRESI/Chef de Département</i>
7	NDIKONTAR Maurice KOR	Professeur	<i>Vice-Doyen Univ. Bamenda</i>
8	NENWA Justin	Professeur	En poste
9	NGAMENI Emmanuel	Professeur	<i>DOYEN FS Uds</i>

10	BABALE née DJAM DOUDOU	Maître de Conférences	<i>Chargée Mission P.R.</i>
11	DJOUFAC WOUMFO Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
12	KAMGANG YOUNBI Georges	Maître de Conférences	En poste
13	KEMMEGNE MBOUGUEM Jean C.	Maître de Conférences	En poste
14	KONG SAKEO	Maître de Conférences	<i>En poste</i>
16	NGOMO Horace MANGA	Maître de Conférences	<i>Vice Chancellor/UB</i>
17	NJIOMOU C. épouse DJANGANG	Maître de Conférences	En poste
18	NJOYA Dayirou	Maître de Conférences	En poste
19	YOUNANG Elie	Maître de Conférences	En poste

20	ACAYANKA Elie	Chargé de Cours	En poste
21	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Chargé de Cours	CS/ ENS Bertoua
22	CHEUMANI YONA Arnaud M.	Chargé de Cours	En poste
23	EMADACK Alphonse	Chargé de Cours	En poste
24	KENNE DEDZO GUSTAVE	Chargé de Cours	En poste

24	KOUOTOU DAOUDA	Chargé de Cours	En poste
25	MAKON Thomas Beauregard	Chargé de Cours	En poste
26	MBEY Jean Aime	Chargé de Cours	En poste
27	NCHIMI NONO KATIA	Chargé de Cours	En poste
28	NDI NSAMI Julius	Chargé de Cours	En poste
29	NEBA nee NDOSIRI Bridget NDOYE	Chargée de Cours	Inspecteur de Service MINFEM
30	NYAMEN Linda Dyorisse	Chargée de Cours	En poste
31	PABOUDAM GBAMBIE A.	Chargée de Cours	En poste
32	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Chargé de Cours	En poste

5- DÉPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (CO) (32)

1	DONGO Etienne	Professeur	Vice-Doyen / PSAA
2	GHOGOMU TIH Robert Ralph	Professeur	Dir. IBAF/UDS
3	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	En poste
4	NKENGFAK Augustin Ephreïm	Professeur	Chef de Département
5	NYASSE Barthélemy	Professeur	<i>Directeur/UN</i>
6	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	<i>Directeur/ MINESUP</i>
7	WANDJI Jean	Professeur	En poste

8	Alex de Théodore ATCHADE	Maître de Conférences	<i>DEPE/ Rectorat/UYY</i>
9	EYONG Kenneth OBEN	Maître de Conférences	<i>Chef Service DPER</i>
10	FOLEFOC Gabriel NGOSONG	Maître de Conférences	<i>En poste</i>
11	KEUMEDJIO Félix	Maître de Conférences	En poste
12	KEUMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En poste
13	KOUAM Jacques	Maître de Conférences	En poste
14	MBAZOA née DJAMA Céline	Maître de Conférences	En poste
15	MKOUNGA Pierre	Maître de Conférences	En poste
16	NGO MBING Joséphine	Maître de Conférences	Sous/Direct. MINERESI
17	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
18	TABOPDA KUATE Turibio	Maître de Conférences	En poste
19	TCHOUANKEU Jean-Claude	Maître de Conférences	<i>Doyen /FS/ UYY</i>
20	TIH née NGO BILONG E. Anastasie	Maître de Conférences	En poste
21	YANKEP Emmanuel	Maître de Conférences	En poste

22	AMBASSA Pantaléon	Chargé de Cours	En poste
23	FOTSO WABO Ghislain	Chargé de Cours	En poste
24	KAMTO Eutrophe Le Doux	Chargé de Cours	En poste
25	MVOT AKAK CARINE	Chargé de Cours	En poste
26	NGOMO Orléans	Chargée de Cours	En poste
27	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Chargé de Cours	En poste
28	NOTE LOUGBOT Olivier Placide	Chargé de Cours	Chef Service/MINESUP
29	OUAHOUE WACHE Blandine M.	Chargée de Cours	En poste
30	TAGATSING FOTSING Maurice	Chargé de Cours	En poste
31	ZONDENDEGOUMBA Ernestine	Chargée de Cours	En poste

32	NGNINTEDO Dominique	Assistant	En poste
----	---------------------	-----------	----------

6- DÉPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (25)

1	ATSA ETOUNDI Roger	Professeur	<i>Chef Div.MINESUP</i>
2	FOUDA NDJODO Marcel Laurent	Professeur	<i>Chef Dpt ENS/Chef IGA.MINESUP</i>

3	NDOUNDAM René	Maître de Conférences	En poste
---	---------------	-----------------------	----------

4	AMINOUE Halidou	Chargé de Cours	En poste
5	DJAM Xaviera YOUHEP KIMBI	Chargé de Cours	En Poste
6	KOUOKAM KOUOKAM E. A.	Chargé de Cours	En poste
7	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
8	MOTO MPONG Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
9	TAPAMO Hyppolite	Chargé de Cours	En poste
10	ABESSOLO ALO'O Gislain	Chargé de Cours	En poste
11	KAMGUEU Patrick Olivier	Chargé de Cours	En poste
12	MONTHÉ DJIADEU Valéry M.	Chargé de Cours	En poste
13	OLLE OLLE Daniel Claude Delort	Chargé de Cours	C/D Enset. Ebolawa
14	TINDO Gilbert	Chargé de Cours	En poste
15	TSOPZE Norbert	Chargé de Cours	En poste
16	WAKU KOUAMOU Jules	Chargé de Cours	En poste

17	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
18	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Assistant	En poste
19	EBELE Serge	Assistant	En poste
20	HAMZA Adamou	Assistant	En poste
21	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Assistant	En poste
22	KAMDEM KENGNE Christiane	Assistante	En poste

23	MAKEMBE. S. Oswald	Assistant	En poste
24	MEYEMDOU Nadège Sylvianne	Assistante	En poste
25	NKONDOCK. MI. BAHANACK.N.	Assistant	En poste

7- DÉPARTEMENT DE MATHÉMATIQUES (MA) (28)

1	BITJONG NDOMBOL	Professeur	<i>En poste</i>
2	DOSSA COSSY Marcel	Professeur	En poste

3	AYISSI Raoult Domingo	Maître de Conférences	Chef de Département
4	EMVUDU WONO Yves S.	Maître de Conférences	<i>CD Info/ Chef division MINESUP</i>
5	NKUIMI JUGNIA Célestin	Maître de Conférences	En poste
6	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	En poste
7	TCHAPNDA NJABO Sophonie B.	Maître de Conférences	Directeur/AIMS Rwanda

8	AGHOUKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	Chef Cellule MINPLAMAT
9	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
10	DJIADEU NGAHA Michel	Chargé de Cours	En poste
11	DOUANLA YONTA Herman	Chargé de Cours	En poste
12	FOMEKONG Christophe	Chargé de Cours	En poste
13	KIANPI Maurice	Chargé de Cours	En poste
14	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
15	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
16	MBANG Joseph	Chargé de Cours	En poste
17	MBEHOU Mohamed	Chargé de Cours	En poste
18	MBELE BIDIMA Martin Ledoux	Chargé de Cours	En poste
19	MENGUE MENGUE David Joe	Chargé de Cours	En poste
20	NGUEFACK Bernard	Chargé de Cours	En poste
21	NIMPA PEFOUNKEU Romain	Chargée de Cours	En poste
22	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
23	TAKAM SOH Patrice	Chargé de Cours	En poste
24	TCHANGANG Roger Duclos	Chargé de Cours	En poste
25	TCHOUNDJA Edgar Landry	Chargé de Cours	En poste
26	TETSADJIO TCHILEPECK M. E.	Chargée de Cours	En poste
27	TIAYA TSAGUE N. Anne-Marie	Chargée de Cours	En poste
28	MBIAKOP Hilaire George	Assistant	En poste

8- DÉPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MIB) (12)

1	ESSIA NGANG Jean Justin	Professeur	DRV/IMPM
2	ETOA François Xavier	Professeur	Chef de Département/FS/UYI Recteur Université de Douala

3	BOYOMO ONANA	Maître de Conférences	En poste
4	NWAGA Dieudonné M.	Maître de Conférences	En poste
5	NYEGUE Maximilienne Ascension	Maître de Conférences	En poste
6	RIWOM Sara Honorine	Maître de Conférences	En poste
7	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Maître de Conférences	En poste

8	ASSAM ASSAM Jean Paul	Chargé de Cours	En poste
9	BODA Maurice	Chargé de Cours	En poste
10	BOUGNOM Blaise Pascal	Chargé de Cours	En poste
11	ESSONO OBOUGOU Germain G.	Chargé de Cours	En poste
12	NJIKI BIKOÏ Jacky	Chargée de Cours	En poste
13	TCHIKOUA Roger	Chargé de Cours	En poste

9. DEPARTEMENT DE PYSIQUE(PHY) (40)

1	BEN- BOLIE Germain Hubert	Professeur	En poste
2	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
3	KOFANE Timoléon Crépin	Professeur	En poste
4	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	Chef de Département
5	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Professeur	<i>Sous Directeur/ MINRESI</i>
6	NJOMO Donatien	Professeur	En poste
7	PEMHA Elkana	Professeur	En poste
8	TABOD Charles TABOD	Professeur	Doyen Univ/Bda
9	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste
10	WOAFO Paul	Professeur	En poste

	BIYA MOTTO Frédéric	Maître de Conférences	DG/HYDRO Mekin
14	BODO Bertrand	Maître de	En poste

		Conférences	
12	DJUIDJE KENMOE épouse ALOYEM	Maître de Conférences	En poste
15	EKOBENA FOU DA Henri Paul	Maître de Conférences	<i>Chef Division. UN</i>
16	EYEBE FOU DA Jean sire	Maître de Conférences	En poste
17	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste
18	HONA Jacques	Maître de Conférences	En poste
19	MBANE BIOUELE César	Maître de Conférences	En poste
20	NANA ENGO Serge Guy	Maître de Conférences	Director/Students/Affairs. UB
21	NANA NBENDJO Blaise	Maître de Conférences	En poste
22	NOUAYOU Robert	Maître de Conférences	En poste
23	SAIDOU	Maître de Conférences	Sous Directeur/Minresi
24	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste
25	SIMO Elie	Maître de Conférences	En poste
26	VONDOU Derbetini Appolinaire	Maître de Conférences	En poste
27	WAKATA née BEYA Annie	Maître de Conférences	<i>Sous Directeur/ MINESUP</i>
28	ZEKENG Serge Sylvain	Maître de Conférences	En poste

29	ABDOURAHIMI	Chargé de Cours	En poste
30	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste
31	ENYEGUE A NYAM épse BELINGA	Chargée de Cours	En poste
32	FOUEDJIO David	Chargé de Cours	Chef Cell. MINADER
33	MBINACK Clément	Chargé de Cours	En poste
34	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Chargé de Cours	En poste
35	MEL'I Joelle Larissa	Chargée de Cours	<i>En poste</i>
36	MVOGO ALAIN	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
37	NDOP Joseph	Chargé de Cours	En poste
38	OBOUNOU Marcel	Chargé de Cours	DA/Univ Inter Etat/Sangmalima
39	WOULACHE Rosalie Laure	Chargée de Cours	En poste

40	CHAMANI Roméo	Assistant	En poste
----	---------------	-----------	----------

10- DÉPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (ST) (43)

1	BITOM Dieudonné	Professeur	<i>Doyen / FASA / UDs</i>
2	FOUATEU Rose épouse YONGUE	Professeur	En poste
3	KAMGANG Pierre	Professeur	En poste
4	MEDJO EKO Robert	Professeur	<i>Conseiller Technique/UYII</i>
5	NDJIGUI Paul Désiré	Professeur	Chef de Département
6	NKOUMBOU Charles	Professeur	En poste
7	NZENTI Jean-Paul	Professeur	En poste

8	ABOSSOLO née ANGUE Monique	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen / DRC</i>
9	GHOGOMU Richard TANWI	Maître de Conférences	CD/UMa
10	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	<i>CT/ MINIMDT</i>
11	NDAM NGOUPAYOU Jules-Remy	Maître de Conférences	En poste
12	NGOS III Simon	Maître de Conférences	DAAC/Uma
13	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
14	ONANA Vincent Laurent	Maître de Conférences	En poste
15	BISSO Dieudonné	Maître de Conférences	<i>Directeur/Projet Barrage Memve'ele</i>
16	EKOMANE Emile	Maître de Conférences	<i>En poste</i>
17	GANNO Sylvestre	Maître de Conférences	En poste
18	NYECK Bruno	Maître de Conférences	En poste
19	TCHOUANKOUE Jean-Pierre	Maître de Conférences	En poste
20	TEMDJIM Robert	Maître de Conférences	En poste
21	YENE ATANGANA Joseph Q.	Maître de Conférences	<i>Chef Div. /MINTP</i>
22	ZO'O ZAME Philémon	Maître de Conférences	<i>DG/ART</i>

23	ANABA ONANA Achille Basile	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
24	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
25	ELISE SABABA	Chargé de Cours	En poste

26	ESSONO Jean	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
27	EYONG JOHN TAKEM	Chargé de Cours	En poste
28	FUH Calistus Gentry	Chargé de Cours	<i>Sec. D'Etat/MINMIDT</i>
29	LAMILEN BILLA Daniel	Chargé de Cours	En poste
30	MBESSE CECILE OLIVE	Chargée de Cours	En poste
31	MBIDA YEM	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
32	METANG Victor	Chargé de Cours	En poste
33	MINYEM Dieudonné-Lucien	Chargé de Cours	<i>CD/Uma</i>
34	MOUAFO Lucas	Chargé de Cours	En poste
35	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargée de Cours	En poste
37	NGO BIDJECK Louise Marie	Chargée de Cours	En poste
38	NGUEUTCHOUA Gabriel	Chargé de Cours	CEA/MINRESI
39	NOMO NEGUE Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
36	NTSAMA ATANGANA Jacqueline	Chargé de Cours	En poste
40	TCHAKOUNTE J. épouse NOUMBEM	Chargée de Cours	<i>Chef.cell / MINRESI</i>
41	TCHAPTCHET TCHATO De P.	Chargé de Cours	En poste
42	TEHNA Nathanaël	Chargé de Cours	En poste
43	TEMGA Jean Pierre	Chargé de Cours	En poste

Répartition chiffrée des Enseignants de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I

NOMBRE D'ENSEIGNANTS					
DÉPARTEMENT	Professeurs	Maîtres de Conférences	Chargés de Cours	Assistants	Total
BCH	5 (1)	12 (6)	19 (11)	1 (1)	37 (19)
BPA	12 (1)	10 (5)	20 (07)	2 (0)	44 (13)
BPV	5 (0)	10 (2)	9 (04)	2 (02)	26 (9)
CI	9 (1)	9 (2)	14 (3)	0 (0)	32 (6)
CO	7 (0)	14 (4)	10 (4)	1 (0)	32 (8)
IN	2 (0)	1 (0)	13 (0)	10 (3)	26 (3)
MAT	2 (0)	4 (1)	19 (1)	2 (0)	27 (2)
MIB	2 (0)	5 (2)	5 (1)	0 (0)	12 (3)
PHY	10 (0)	17 (2)	11 (3)	1 (0)	39 (5)
ST	7 (1)	15 (1)	21 (5)	1 (0)	43 (7)
Total	61 (4)	97 (25)	141 (39)	19 (6)	318 (75)

Soit un total de 318 (75) dont :

- Professeurs 61 (4)
- Maîtres de Conférences 97 (25)
- Chargés de Cours 141 (39)
- Assistants 18 (5)

() = Nombre de Femmes

A

La mémoire et en hommage de mon père M. NDOUNGA Godefroy

DEDICACE

A

Ma tendre et douce mère chérie, Mme Wadja Rose

REMERCIEMENTS

Ce travail de recherche a été réalisé dans le Laboratoire de Microbiologie, le Laboratoire de Phytobiochimie et Plantes Aromatiques, le Laboratoire de Pharmacochimie des Substances Naturelle (LPSN), le Laboratoire Multidisciplinaire de Pharmacie Galénique et Législation Pharmaceutique de l'Université de Yaoundé I, dans le Laboratoire de Pharmacologie de l'IMPM ; avec la collaboration du programme YABINAPA de l'Ecole Normale Supérieure de l'Université de Yaoundé I et du programme de Phytomédecine du Département des Sciences Paracliniques de l'Université de Prétoria (Afrique du Sud). Il a été rendu possible grâce au soutien indéfectible de plusieurs personnes que j'ai l'immense plaisir de remercier ici :

Je tiens à remercier le Professeur François-Xavier ETOA, mon co-directeur de thèse, pour m'avoir accepté dans son équipe et pour avoir facilité ce travail de recherche. Malgré vos multiples casquettes et occupations, vous avez toujours été là au moment attendu pour permettre le bon déroulement et la finalisation de ce travail. Trouvez en ces mots l'expression de ma profonde gratitude.

Je remercie le Professeur Maximilienne Ascension NYEGUE, ma co-directrice de thèse. Je me souviens de cette phrase lorsque j'entrais dans votre bureau pour la première fois en 2013 pour solliciter votre encadrement pour mon Master, vous avez dit ceci : "Je suis une dame de fer". A présent je comprends tout le sens de cette phrase. Vous avez dirigé mes premiers pas dans la recherche, vous avez cru en moi, vous avez été patiente envers moi, que dire de l'esprit de collaboration, de partage et de solidarité que vous nous avez inculqué. Merci Madame pour votre énergie, pour votre disponibilité, pour la rigueur scientifique et la rigueur dans le travail. Vous êtes un modèle pour moi et j'ai la grâce de faire partie de votre équipe de recherche. Je ne trouverai jamais assez de mots pour exprimer ma gratitude pour tout ce que vous m'avez appris.

Merci aux membres du jury qui ont voulu examiner ce travail de recherche. Vos nombreuses critiques et recommandations vont permettre de l'améliorer tant sur la forme que sur le fond.

Ma gratitude va également à l'endroit du Professeur Florentine NDOYE FOE pour tout le soutien matériel et technique qui a permis que ce travail de recherche arrive à terme.

Mes remerciements au Professeur Joséphine NGO MBING pour la collaboration fructueuse depuis le Master, vous avez été d'une aide précieuse pour la réalisation de cette thèse.

Je remercie le Professeur NGA NNANGA, pour m'avoir admis dans le Laboratoire dont-il a la charge, merci professeur pour la formation en HPLC préparative et pour toutes les autres facilitations que vous m'avez accordées pendant ce travail de thèse.

Je voudrais aussi remercier le Professeur Bruno LENTA NDJAKOU, qui m'a permis de profiter de tout le plateau technique qu'offre le programme YABINAPA, notamment l'analyse par HPLC couplée à la MS. Je vous remercie particulièrement pour votre aide à la création et à l'exploitation de mon compte SciFinder.

Je remercie le Professeur Paul FEWOU MOUNDIPA, Chef de Département de Biochimie et tous les enseignants dudit Département, pour n'avoir menagé aucun effort pour assurer ma formation académique, pour avoir activement participé à ce travail à travers de nombreuses suggestions et critiques constructives dans les différents séminaires doctoraux.

Je remercie le Professeur Honorine ESSAMA RIWOM pour ses multiples conseils et encouragements durant ce travail de recherche.

Je tiens à remercier le Docteur Stève VOUNDI OLUGU, le Docteur Jean-Bosco JOUDA et le Docteur Angelique Nicolas MESSI pour les encouragements et l'accompagnement sur la paillasse. Nos multiples discussions m'ont permis d'acquérir plus de connaissances et plus de maturité dans le domaine de la recherche.

Je remercie le Docteur Alian Désiré AFAGNIGNI qui a été d'une aide précieuse sur la paillasse. Vous avez participé de bout en bout pendant ce travail de recherche. Merci pour cet accompagnement.

Mes remerciements vont à l'endroit de Mlle Kévine KAMGA SIHILE pour la collaboration fructueuse qui a permis l'avancement et la finalisation de nos manipulations.

Je remercie le Docteur Del Florence Esther MONI NDEDI, qui est un exemple à suivre dans la persévérance, pour la passion de la recherche et la culture de l'effort.

Merci à Mlle Rosette Christelle NDJIB pour la collaboration fructueuse qui a permis le bon déroulement de nos travaux de thèse.

Je remercie mes frères d'une autre mère, M. Dimitri TCHAMI NGONGANG et M. Landry KENGNE GOUNMADJE pour le soutien mutuel, pour le partage et la solidarité. Vous avez été des acteurs majeurs pendant le déroulement et la finalisation de cette thèse.

Je remercie tous mes promotionnaires, je pense à Simon Perrez AKOA, Ferdinang EBOUEL EDOU, Marius SIPPING, Ruth DIBAKTO, Abraham NKOUE TONG et Nina PENKAM pour le soutien et l'entraide mutuels.

A tous mes aînés et cadets du Laboratoire de Microbiologie, notamment M. Eric TCHAMGOUE, M. Sylvain BOBDA, M. Patrick DIBOUE BETOTE, M. Youchahou NDAM NJANKOUO, merci pour tous ces moments de convivialité passés ensemble. Nos nombreuses discussions, séminaires et présentations au Laboratoire m'ont permis d'acquérir d'autres connaissances dans le domaine de la Microbiologie.

Je remercie mes frères et sœurs qui n'ont cessé de me soutenir financièrement et moralement pendant toutes ces années de recherche, je pense à Christel Titou DOUMI, Serge Papi NJILEM, Leonel Baptiste NTEUTO, Audrey Michelle YIMTCHI, M. et Mme CHOUAKWE, Sonia Laura ZEUKAM, Judith SANDJON KANDA, Brice DOUMI et Kevine WATAT.

Je dis merci à la grande famille Ma'a WATAT pour tous les encouragements et tout le soutien financier. Merci à mon grand père DJA TAVEU, à mon oncle Tagni TCHATAT et toutes mes tantes qui n'ont cessé en aucun moment de me porter dans leurs prières.

Merci à tous mes amis d'enfance et de galère, je pense au Docteur Yves Claude BAH, à M. Roméo TECHANG DONGMO, M. Honoré KOMBOU, Mlle Agnès Solange SANDJE, M. Willy DJIODIP pour tous ces moments de partage et d'entraide passés ensemble.

Merci à l'AMYLO pour le soutien et les encouragements, nos retrouvailles mensuelles pendant toutes ces années ont été des moments de relâchement et d'épanouissement pour moi.

A toutes les personnes que je n'ai pas citées ici et qui ont participé d'une manière ou d'une autre à la réalisation de cette thèse, je vous dis infiniment merci.

Tu as été une source d'inspiration pour moi, tu m'as comblé avec ton amour, ta patience et surtout avec ton attention, tu es arrivée dans ma vie au moment où j'avais le plus besoin de toi. Leslie MANGUIA DEDOUNG, je te renouvelle mon amour et je t'exprime ma profonde gratitude.

TABLE DE MATIERES

LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS	i
DEDICACE	xiv
REMERCIEMENTS	xv
RESUME	xxv
ABSTRACT	xxviii
LISTE DES TABLEAUX	xxxvi
LISTE DES FIGURES	xxxvii
LISTE DES ANNEXES	xl
INTRODUCTION GENERALE.....	1
QUESTIONS DE RECHERCHE.....	4
HYPOTHESES	4
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE.....	6
I) Généralités sur le stress oxydant et l'inflammation.....	6
I-1) Généralités sur le stress oxydant	6
I-1-1) Définition du stress oxydatif.....	6
I-1-2) Différents types d'ERO	6
I-1-2-1) Les différents types d'ERO en fonction de leurs structures	6
I-1-2-2) Les différents types d'ERO en fonction de leurs source de productions	7
I-1-3) Stress oxydant, pathologies associées et prévention d'ERO.....	9
I-1-3-1) Stress oxydant et pathologies associées	9
I-1-3-2) Les ERO et accentuation des signaux de prolifération des cellules cancéreuses.....	10
I-1-3-3) Les ERO et activation des récepteurs aux facteurs de croissance.....	10
I-1-4) Les moyens de défense contre les radicaux libres.....	12
I-1-4-1) Prévention à plein temps contre les radicaux libres	12
I-1-4-2) Détoxification active suite à une attaque oxydante	12
I-1-4-3) La superoxyde dismutase (SOD)	12
I-1-4-4) La catalase.....	13
I-1-4-5) Glutathion peroxydase.....	13
I-1-4-6) Détoxification passive	14
I-1-4-7) Vitamine E (tocophérol)	14
I-1-4-8) Vitamine C (acide ascorbique).....	14
I-1-4-9) Caroténoïdes	15
I-1-4-10) Acide lipoïque (acide 1,2-dithiolane-3 pentanoïque).....	15

1-1-4-11) Les antioxydants synthétiques.....	15
I-1-5) Les antioxydants de type I ou antioxydants primaires, antiradicalaires ou encore antioxydants vrais ou antioxydants curatifs.....	15
I-1-6) Les antioxydants de type II ou antioxydants secondaires ou encore antioxydants préventifs	16
I-1-7) Méthodes d'évaluation des propriétés antioxydantes <i>in vitro</i>	16
I-1-7-1) Tests basés sur le transfert d'un atome d'hydrogène	17
I-1-7-2) La méthode ORAC.....	17
I-1-7-3) La méthode TRAP.....	17
I-1-7-4) Tests basés sur le transfert d'un électron.....	17
I-1-7-5) Test de FRAP.....	17
I-1-7-6) Le test de TEAC.....	18
I-1-8) Méthodes d'évaluation des propriétés antioxydantes <i>in vivo</i>	18
I-1-8-1) Capacité de réduction ferrique du plasma	18
I-1-8-2) Estimation du glutathion réduit (GSH).....	18
I-1-8-3) Estimation de la glutathion peroxydase (GSHPx)	18
I-1-8-4) Dosage de la superoxyde dismutase (SOD).....	18
I-1-8-5) Catalase (CAT)	19
I-1-8-6) Dosage de la LDL	19
I-2) Généralités sur l'inflammation.....	19
I-2-1) Définition.....	19
I-2-2) Etiologies de l'inflammation liée au cancer.....	19
I-2-3) Acteurs et déroulement de la réaction inflammatoire.....	20
I-2-4) Classification des inflammations.....	20
I-2-5) Mécanisme d'action de l'inflammation.....	21
I-2-6) Les anti-inflammatoires	23
I-2-6-1) Définition.....	23
I-2-6-2) Les classes des anti-inflammatoires	24
I-2-6-3) Les corticoïdes ou anti-inflammatoires stéroïdiens ou AIS	24
I-2-6-4) Les inhibiteurs des lipoxigénases	24
I-2-7) Evaluation des activités anti-inflammatoires des biomolécules.....	24
I-2-7-1) Inhibition de la dénaturation de l'albumine	24
I-2-7-2) Action inhibitrice de la protéinase	25
I-2-7-3) Test de stabilisation membranaire.....	25

I-2-7-4) Test hémolytique induit par la chaleur	25
I-2-7-5) Essai d'oxydation ferreuse-orange au xylénol (Fox)	25
I-2-8) Relation entre le stress oxydant, l'inflammation et le cancer du sein	25
I-3-Généralités sur le cancer du sein	26
I-3-1) Définition et épidémiologie du cancer du sein.....	26
I-3-2) Epidémiologie, mortalité et évolution	26
I-3-3) Les facteurs de risque	27
I-3-4) Architecture et développement du sein.....	30
I-3-5) Processus de cancérogénèse des cellules mammaires	31
I-3-5-1) L'initiation.....	31
I-3-5-2) La promotion	32
I-3-5-3) La progression.....	33
I-3-5-4) L'invasion	33
I-3-6) Métastases du cancer du sein.....	34
I-3-7) Diagnostic du cancer du sein	35
I-3-7-1) L'examen clinique.....	35
I-3-7-2) Les examens mammographiques et échographiques	36
I-3-7-3) L'examen d'anatomopathologie	36
I-3-8) Les facteurs prédictifs et pronostiques des cancers du sein.....	37
I-3-8-1) Les facteurs cliniques : L'âge et le statut ménopausique (valeur prédictive et pronostique)	37
I-3-8-2) Les facteurs cliniques : La taille et le stade cliniques (valeur pronostique).....	38
I-3-9) Les facteurs histopathologiques et génétiques	38
I-3-9-1) L'envahissement ganglionnaire (valeur pronostique).....	38
I-3-9-2) L'oncogène HER2.....	38
I-3-10) Les techniques de traitements du cancer du sein.....	38
I-3-10-1) L'immunothérapie.....	38
I-3-10-2) L'hormonothérapie.....	39
I-3-10-3) La chirurgie et la radiothérapie	40
I-3-11) La chimiothérapie anticancéreuse	40
I-3-11-1) Chimiothérapie à base des molécules de synthèses	40
I-3-11-2) La chimiothérapie à base de molécules naturelles	41
I-4) Les méthodes d'évaluation de la cytotoxicité et la génotoxicité.....	42
I-4-1) Méthodes d'évaluation de la cytotoxicité	42

I-4-2) Méthodes d'évaluation de la génotoxicité	43
I-5) Généralités sur les espèces <i>Ochna schweinfurthiana</i> et <i>Anthocleista schweinfurthii</i>	45
I-5-1) Généralités sur <i>Ochna schweinfurthiana</i>	45
I-5-1-1) Distribution géographique	45
I-5-1-2) Usage ethnopharmacologique de <i>Ochna schweinfurthiana</i>	45
I-5-1-3) Etudes phytochimiques antérieures et Activités biologiques de <i>O. schweinfurthiana</i>	46
I-5-2) Généralités sur <i>Anthocleista schweinfurthii</i>	47
I-5-2-1) Distribution géographique	47
I-5-2-2) Usage ethopharmacologique d' <i>Anthocleista schweinfurthii</i>	47
I-5-2-3) Etudes phytochimiques antérieures et activités biologiques d' <i>A. schweinfurthii</i>	48
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES.....	49
II-1) MATERIEL	49
II-1-1) Matériel Végétal.....	49
II-1-2) Matériel biologique	50
II-1-2-1) Les animaux expérimentaux	50
II-1-2-2) Les lignées cellulaires	50
II-1-2-3) Les souches bactériennes.....	51
II-1-3) Les milieux de culture pour le test de cytotoxicité et le test de génotoxicité	51
II-1-4) Réactifs et équipements	51
II-2) Méthodes	52
II-2-1) Organigramme méthodologique	52
II-2-1) Méthodes d'extraction.....	54
II-2-2) Détermination des teneurs en antioxydants totaux.....	55
II-2-2-1) Procédure	55
II-2-2-2) Détermination de la teneur des antioxydants primaires et secondaires	55
II-2-3) Screening phytochimique	55
II-2-3-1) Test des phénols et polyphénols	56
II-2-3-2) Test des tanins.....	56
II-2-3-3) Test des triterpènes et des stéroïdes	56
II-2-3-4) Test des saponines.....	56
II-2-3-5) Test des flavonoïdes.....	56
II-2-3-6) Test des alcaloïdes	56
II-2-4) Evaluation des activités antiradicalaires des extraits	57
II-2-4-1) Test du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazile (DPPH)	57

II-2-4-2) Test de l'acide 2,2-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique (ABTS)	59
II-2-5) Evaluation de l'activité réductrice	60
II-2-5-1) Test du <i>Ferric Reducing Antioxydant Power Assay</i> (FRAP)	60
II-2-5-2) Test du blanchiment de β -carotène couplé à l'auto-oxydation de l'acide linoléique	61
II-2-6) Evaluation de l'activité antioxydante <i>in vivo</i>	62
II-2-6-1) Groupage d'animaux.....	62
II-2-6-2) Induction du stress oxydatif.....	63
II-2-6-3) Préparation des doses thérapeutiques.....	64
II-2-6-4) Préparation des volumes des solutions d'essai.....	65
II-2-7) Evaluation <i>in vivo</i> de l'activité antioxydante.....	67
II-2-7-1) Méthode de réduction du fer par le plasma sanguin	67
II-2-7-2) Dosage de la catalase	67
II-2-7-3) Dosage de la superoxyde dismutase SOD.....	68
II-2-8) Evaluation de l'activité anti-inflammatoire de <i>O. schweifurthiana</i> et <i>A. schweinfurthii</i>	68
II-2-8-1) Oxydation ferreuse-xylénol orange (Fox) ou inhibition de la 15-Lipoxygénase	68
II-2-8-2) Test de dénaturation du sérum albumine bovine (BSA)	69
II-2-8-3) Test d'inhibition de la protéinase.....	70
II-2-9) Procédure de fractionnement	70
II-2-9-1) Méthode de partition	70
II-2-9-2) Procédure LC/MS	70
II-2-9-3) Le fractionnement par chromatographie sur colonne	71
II-2-10) Test de cytotoxicité	72
II-2-10-1) Test de cytotoxicité par le MTT	72
II-2-10-2) Détermination de l'indice de sélectivité.....	74
II-2-10-3) Etude de l'effet des extraits et fractions sur la cinétique de viabilité des cellules MDA-MB-361 et MCF-7.....	74
II-2-11) Test de génotoxicité.....	74
II-2-12) Méthode d'isolement et d'identification des composés purs.....	75
II-2-12-1) Isolement par chromatographie sur colonne.....	75
II-2-12-2) Chromatographie sur couche mince (CCM).....	76
II-2-12-3) Identification des composés purs isolés	79
II-2-13) Analyses statistiques et représentations graphiques des courbes.....	79
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION	80

III-1-1) Rendement d'extraction des extraits aqueux de <i>O. schweinfuthiana</i> et <i>A. schweinfurthii</i>	80
III-1-2) Screening phytochimique.....	80
III-1-3) Evaluation <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> de l'activité antioxydante de <i>Ochna schweinfurthiana</i> et <i>Anthocleista schweinfurthii</i>	81
III-1-3-1) Evaluation de l'activité antioxydante <i>in vitro</i>	81
III-1-3-1-1) Test du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazile (DPPH).....	82
III-1-3-1-2) Test radical 2,2-Azino-bis(3-ethylbenzo-thiazoline)-6-sulfonic (ABTS ⁺).....	84
III-1-3-2) Capacité réductrice de <i>A. schweinfurthii</i> et <i>O. schweinfuthiana</i>	87
III-1-3-2-1) Test de la Capacité Réductrice Ferrique d'Antioxydant (FRAP).....	87
III-1-3-2-2) Test de blanchissement du β -carotène.....	87
III-1-4) Résultat des tests antioxydants <i>in vivo</i>	89
III-1-4-1) Etude des effets de l'induction du stress sur les organes de détoxification.....	89
III-1-4-2) Résultat de la réduction du fer par le plasma sanguin.....	91
III-1-4-3) Résultat activité de la catalase.....	92
III-1-4-4) Résultat activité de la SOD.....	93
III-1-5) Discussion partielle.....	95
III-1-6) Conclusion partielle.....	101
III-2) Résultats des activités anti-inflammatoires <i>in vitro</i>	102
III-2-1) Oxydation ferreuse-xylénol orange (Fox).....	102
III-2-2) Inhibition de la dénaturation du BSA.....	103
III-2-3) Inhibition de la protéinase.....	105
III-2-4) Discussion partielle.....	106
III-2-5) Conclusion partielle.....	108
III-3) Résultat des tests de cytotoxicité et de génotoxicité.....	108
III-3-1) Résultat de la cytotoxicité par le test de MTT.....	108
III-3-1-1) Indice de selectivité.....	113
III-3-1-2) Cinétique de la viabilité cellulaire.....	114
III-3-2) Resultat de la génotoxicité.....	115
III-3-3) Discussion partielle.....	117
III-3-4) Conclusion partielle.....	119
III-4-1) Rendement d'isolement des composés de <i>O. schweinfurthiana</i> et <i>A. schweinfurthii</i>	120
III-4-1-1) Rendement d'isolement des composés de <i>O. schweinfurthiana</i>	120
III-4-1-2) Rendement d'isolement des composés de <i>A. schweinfurthii</i>	121

III-4-2) Résultat de l'étude analytique Par LC/MS	121
III-4-2-1) Résultat de la LC/MS de <i>O. schweinfurtiana</i>	121
III-4-2-2) Résultat de la LC/MS de <i>A. schweinfurthii</i>	124
III-4-3) Discussion partielle	127
III-4-4) Conclusion partielle	127
III-5) Discussion générale.....	128
Conclusion générale	133
Perspectives.....	134
Références bibliographiques	136
Annexes	A
Liste de publications issues de la thèse	K
1- Djova S.V., Nyegue M.A., Messi A.N. Afagnigni A.D. and Etoa F-X. <i>Phytochemical study of aqueous extract of Ochna schweinfurtiana F. Hoffm powder bark and evaluation of their anti-inflammatory, cytotoxic and genotoxic properties</i> : Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine-HINDAWI, (2019).	K
2- Djova S.V., Nyegue M.A., Afagnigni A.D., Etoa F-X. <i>In vitro antioxidant activity, cytotoxicity and genotoxicity of extracts from the leaves and barks of Anthocleista schweinfurthii Gilg (loganiaceae)</i> : Asian Journal of Research in Biological and Pharmaceutical Sciences; 6(2):58-69, (2018).	K
3-Djova S.V., Nyegue M.A., Etoa F.X. <i>The anti-arthritic and anti-inflammatory activities of aqueous extract powder bark of Anthocleista schweinfurthii Gilg (Loganiaceae)</i> : Journal of Drug Delivery and Therapeutics ; 8(6-s):174-181, (2018).	K
4- Nyegue M.A., Ngo Mbing J., Djova S.V., Messi A.N., Voundi Olugu S.H., Pegnyemb et Etoa F.X. <i>Evaluation of the antioxidant activity of the leaves, stem-back extract of Ochna schweinfurtiana F. Hoffm (Ochnaceae)</i> : African Journal of pharmacy and pharmacology ; 10(17):370-378, (2016).....	K

RESUME

Au Cameroun, 80 % des cas de cancer du sein sont diagnostiqués à la phase terminale de la maladie. Dans cette phase, le stress oxydant et l'inflammation chronique produisent des composants qui induisent l'altération du matériel génétique et activent les voies de signalisations cellulaires dans l'épithélium des cellules mammaires. Ceci accentue la carcinogenèse qui inclut la prolifération et la dissémination des cellules cancéreuses dans l'organisme. Le présent travail vise à évaluer les propriétés préventives du stress oxydant, de l'inflammation et l'activité antiproliférative des extraits aqueux de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* sur les cellules métastatiques du sein.

Le profil phytochimique des extraits aqueux de *O. Schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* a été déterminé par la méthode standard et par la procédure LC/MS. Les polyphénols totaux ont été dosés en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. L'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* des extraits aqueux de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* a été effectuée par les méthodes de DPPH, ABTS, FRAP et β -carotène.

Concernant l'évaluation de l'activité antioxydant *in vivo*, elle a été effectuée sur 28 rats : soit 7 lots de 4 rats. Le témoin négatif a été traité avec l'eau distillée ; le stress oxydatif a été induit aux six autres lots par administration orale d'1 mL/Kg de H₂O₂ dans l'huile de maïs (1:5 v/v) par gavage à l'aide d'une sonde gastrique, parmi lesquels 2 ont servi de lots expérimentaux et ont été traités avec 100 mg/kg et 250 mg/kg des extraits des écorces de *O. schweinfurthiana* (OSE) et *A. schweinfurthii* (ASE), 50 mg/Kg pour le lot référence traité avec l'Acide ascorbique et le dernier lot témoin positif, après induction du stress oxydant, aucun traitement n'a été administré à ce dernier. Vingt quatre heures après l'administration de la dernière dose, tous les animaux ont été anesthésiés par administration intramusculaire de Kétamine (50 mg/kg) + Diazépam (10 mg/kg). Le sang a été prélevé sur la patte postérieure et mis dans différents tubes (EDTA et sec) ; ensuite les animaux ont été sacrifiés. Pour l'obtention du plasma, le sang a été prélevé dans les tubes EDTA, après centrifugation à 3000 tr/min pendant 15 minutes avec une centrifugeuse de marque centrifuge 90-1, le plasma qui est le surnageant a été recueilli puis conservé dans les eppendorf à -20 °C. L'activité antioxydante *in vivo* a été évaluée par les tests de réduction du fer par le plasma sanguin, le dosage de l'activité de la catalase et le dosage de l'activité de la superoxyde dismutase. L'activité anti-inflammatoire des extraits des deux plantes a été déterminée à l'aide des méthodes *in vitro* d'inhibition de la 15-lipoxygénase par le test du *Ferrous oxidation-xylenol orange* (FOX), l'inhibition de la dénaturation des protéines par le test de BSA et le test d'inhibition de la protéinase. Ensuite l'évaluation *in vitro* de la génotoxicité des extraits sur les souches *Salmonella thyphimurium* TA98 et TA100 par la méthode de Ames. L'évaluation de la cytotoxicité des extraits et des fractions sur les cellules MCF-7, MDA-MB-361 et sur la cellule Véro par la méthode de réduction du MTT. L'isolement des composés ont été réalisés par la chromatographie sur colonne et CCM. L'identification a été réalisée grâce à la procédure LC/MS et la base de données Scifinder. Les représentations graphiques ont été obtenues en utilisant le Tableur Windows Microsoft Excel 2013 et le logiciel Graphpad/Prism 7. Les analyses statistiques ont été effectuées en utilisant le logiciel SPSS 23. et Graphpad/Prism 7 à $p < 0,05$.

Les résultats obtenus montrent que les extraits de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* sont constitués de nombreuses familles de composés telles que a révélé la présence de nombreux métabolites secondaires tels que les alcaloïdes, stéroïdes, tanins catéchiques, flavonoïdes, saponines et triterpènes. Grâce à la LC/MS, L'hemerocallone ; le 6,7-dimethoxy-3'-4'-dimethoxyisoflavone ; la lithospermoside ; l'amentoflavone ; l'agathisflavone ; le β -D-fructofuranosyl- α -D-glucopyranoside ont été isolés et identifiés de l'extrait aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana*. Deux composés ont été isolés et identifiés des extraits aqueux des écorces d'*A. schweinfurthii*, le 3-isocyanato-8-(4-pyridinyl) [1,2,4] triazolo [4,3-b] pyridazine et le biphenyltriol. Quatre autres composés ont été identifiés des extraits aqueux des écorces d'*A. schweinfurthii*, il s'agit de la 3',5,7-trihydroxy-4'-méthoxyflavanone ; le 8-[1-azépanyl)-2propanyl]2-)3-méthyl)-1,3,8-triazaspiro[4,5]déc-1-én-4-one ; ainsi que la 3,8-dihydroxy-6méthyl-9,10dioxo-9,10-dihydro-1-anthracényl- β -D glucopyranoside et la soscoparine. Le dosage des antioxydants révèle que les extraits aqueux des écorces des deux plantes possèdent la plus forte teneur en polyphénols. Ces extraits sont constitués majoritairement des antioxydants secondaires avec des teneurs respectives de $681,91 \pm 25,68$ mg EAA/g extrait et 537 ± 32 mg EAA/g extrait respectivement pour les extraits aqueux des écorces de *A. schweinfurthii* et *O. schweinfurthiana*.

Concernant l'activité antioxydante *in vitro*, les extraits aqueux des écorces d'*A. schweinfurthii* et d'*O. schweinfurthiana* possèdent la meilleure activité antiradicalaire *in vitro* avec le test de DPPH et ABTS. Ces extraits possèdent une activité antiradicalaire statistiquement identique avec des pouvoirs antiradicalaires respectifs $0,3 \pm 0,03$ de $0,23 \pm 0,02$ avec le test de DPPH, avec le test d'ABTS, l'extrait aqueux des écorces d'*O. schweinfurthiana* avec un PA de $27,496 \pm 0,51$ possède une activité antiradicalaire statistiquement supérieure à celle de l'extrait aqueux des écorces d'*A. schweinfurthii* dont le PA est de $23,542 \pm 1,203$. Les extraits aqueux des écorces d'*O. schweinfurthiana* et d'*A. schweinfurthii* possèdent la meilleure activité réductrice. L'extrait aqueux des écorces d'*A. schweinfurthii* dans le test de FRAP, avec un pouvoir réducteur de $0,185 \pm 0,003$ mg EAA/g extrait possède une activité réductrice statistiquement identique ($P > 0,05$) à celle des extraits aqueux des écorces d'*O. schweinfurthiana* dont le pouvoir réducteur est de $0,191 \pm 0,011$ mg EAA/g extrait. Par contre, dans le test du β -carotène, l'extrait aqueux des écorces d'*A. schweinfurthii* avec un pouvoir réducteur de $3,251 \pm 0,015$ mg EAA/g extrait possède une activité réductrice statistiquement supérieure ($P < 0,05$) à celle des extraits aqueux des écorces d'*O. schweinfurthiana* avec un pouvoir réducteur de $2,541 \pm 0,003$ mg EAA/g extrait.

Pour ce qui concerne l'activité antioxydante *in vivo*, l'extrait aqueux des écorces d'*A. schweinfurthii* testé à 250 mg/kg poids corporel (pc) possède un pouvoir réducteur de $0,167 \pm 0,001$ mg/mL statistiquement supérieur ($P < 0,05$) à celui des différents l'extraits testés. Les résultats du dosage de la catalase et de la superoxyde dismutase montre que les extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* à la dose 100 mg/kg sont efficaces pour piéger les radicaux libres et prévenir le stress oxydant.

Les résultats des tests anti-inflammatoires obtenus montrent que les extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* ont une bonne activité inhibitrice de la 15-lipoxygénase avec les IC₅₀ respectives de $32,19 \pm 0,36$ μ g/mL et $37,19 \pm 0,54$ μ g/mL. En ce

qui concerne l'inhibition de la protéinase, l'extrait aqueux des écorces d'*O. schweinfurthiana* a montré une forte activité inhibitrice de la protéinase avec une IC₅₀ de 75,63 ± 0,75 µg/mL. L'extrait aqueux des écorces de *A. schweinfurthii* a une forte activité inhibitrice de la dénaturation du BSA avec une IC₅₀ de 13,67 ± 0,88 µg/mL.

Les extraits aqueux des écorces d'*A. schweinfurthii* et d'*O. schweinfurthiana* sont non génotoxiques. Concernant le test de cytotoxicité sur les cellules MCF-7, MDA-MB-361 et Véro, la fraction A et la fraction B ont présenté une cytotoxicité sélective sur la cellule MCF-7 avec respectivement des LC₅₀ de 2,502±0,001 µg/mL et 3,23±0,002 µg/mL. L'extrait aqueux des écorces d'*A. schweinfurthii* a montré une cytotoxicité sélective sur la cellule MDA-MB-361 avec une LC₅₀ de 12,5±1,2 µg/mL.

Tous les échantillons testés étaient non-cytotoxiques sur les cellules Véro. Six composés de structure connues ont été isolés et identifiés des fractions actives de *O. schweinfurthiana* et deux composés de structure connues ont été isolés et identifiés de la fraction obtenue à partir de l'extrait aqueux des écorces de *A. schweinfurthii*.

Ainsi, ces extraits constituent des traitements complémentaires à la chimiothérapie ciblée contre la prolifération des cellules mammaires cancéreuses et les molécules isolées et identifiées constitueraient des potentiels agents anti-cancéreux.

Mots Clés: *Anthocleista schweinfurthii*, *Ochna schweinfurthiana*, extraits aqueux, antioxydant, anti-inflammatoire, composés identifiés et cellules mammaires cancéreuses.

ABSTRACT

In Cameroon, 80 % of breast cancer cases are diagnosed in the terminal phase of the disease. At this phase, oxidative stress and chronic inflammation produce components that induce alteration of genetic material and activate cellular signal pathways in the epithelium of the breast. This intensifies carcinogenesis involving proliferation and dissemination of cancerous cells in the organism. The present work aims at evaluating the preventive properties of oxidative stress, inflammation and antiproliferative activity of aqueous extracts of *O. schweinfurthiana* and *A. schweinfurthii* on metastasis breast cells.

The phytochemical profile of the aqueous extracts of *O. Schweinfurthiana* and *A. schweinfurthii* was determined by the standard method and by the LC/MS procedure. The total polyphenols were ascertained using the Folin-Ciocalteu reagent. The *in vitro* antioxidant activity of the aqueous extracts of *O. schweinfurthiana* and *A. schweinfurthii* was carried out by DPPH, ABTS, FRAP and β -carotene methods. Concerning the *in vivo* evaluation of the antioxidant activity, it was carried out using 28 rats: 7 groups of 4 rats. The negative control was treated with distilled water and oxidative stress was induced in the six other groups by oral administration of 1 mL/kg of H₂O₂ in corn oil (1: 5 v/v) by oral gavage using a gastric tube, among which twogroups were used as experimental batches and were treated with 100 mg/kg and 250 mg/kg of the bark extracts of *O. schweinfurthiana* (OSE) and *A. schweinfurthii* (ASE). The reference batch was treated with Ascorbic acid at a dose of 50mg/Kg and for the last positive control batch, , no treatment was administered , after induction of the oxidative stress . Twenty four hours after the last dose, all animals were anesthetized by intramuscular administration of Ketamine (50 mg/kg) + Diazepam (10 mg/kg). The blood was taken from the hind leg and transferred into different tubes (EDTA and dry); then the animals were sacrificed. To obtain the plasma, blood was collected and kept in EDTA tubes, centrifuged at 3000 rpm for 15 minutes with a centrifuge of centrifugal brand 90-1. The plasma which is the supernatant was collected and then stored in eppendorf tubes at -20 ° C. The *in vivo* antioxidant activity was assessed by plasma iron reduction tests, the catalase activity assay and the superoxide dismutase activity assay. The anti-inflammatory activity of the extracts of the two plants was determined using *in vitro* methods of inhibition of 15-lipoxygenase by the Ferrous oxidation-xylenol orange (FOX) test, inhibition of protein denaturation by the BSA test and the proteinase inhibition test. Moreover, the *in vitro* evaluation of the genotoxicity of the extracts on *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100 strains by the Ames method. Evaluation of the cytotoxicity of the extracts and fractions on the

MCF-7, MDA-MB-361 cells and on the Vero cell was done using the MTT reduction method. The isolation of the compounds was carried out by column chromatography and TLC and the identification was carried out using the LC/MS procedure and the Scifinder database. The graphical representations were obtained using the Windows Spreadsheet Microsoft Excel 2013 and the Graphpad/Prism 7 software. The statistical analysis was performed using the SPSS 23 software and Graphpad/Prism 7 at $p < 0.05$. Finally, the results obtained showed that the extracts of *O. schweinfurthiana* and *A. schweinfurthii* consist of numerous families of compounds such as alkaloids, steroids, catechic tannins, flavonoids, saponins and triterpenes. Thanks to LC/MS, L'hemerocallone; 6,7-dimethoxy-3'-4'-dimethoxyisoflavone; lithospermoside; mentoflavone; agathisflavone; β -D-fructofuranosyl- α -D-glucopyranoside were isolated and identified from the aqueous extract of the bark of *O. schweinfurthiana*. Two compounds were isolated and identified from the aqueous extracts of the bark of *A. schweinfurthii*, 3-isocyanato-8-(4-pyridinyl) [1,2,4] triazolo [4,3-b] pyridazine and biphenyltriol. Four other compounds have been identified from the aqueous extracts of the bark of *A. schweinfurthii*; it is 3', 5,7-trihydroxy-4'-methoxyflavanone; 8-[1-azepanyl]-2-propanyl]-2-)-3-methyl)-1,3,8-triazaspiro [4,5] dec-1-en-4-one; as well as 3,8-dihydroxy-6methyl-9,10dioxo-9,10-dihydro-1-anthracenyl- β -D glucopyranoside and soscoparine.

The antioxidant assay reveals that aqueous extracts of the bark of both plants have the highest content of total polyphenols. These extracts consist mainly of secondary antioxidants with respective quantity of 681.91 ± 25.68 mg EAA/g dry extract and 537 ± 32 mg EAA/g dry extract for aqueous extracts of the bark of *A. schweinfurthii* and *O. schweinfurthiana*.

Concerning *in vitro* antioxidant activity, aqueous extracts of the barks of *A. schweinfurthii* and *O. schweinfurthiana* possess the best *in vitro* antiradical activity with the DPPH and ABTS tests. These extracts possess a substantially identical antiradical activity with respective antiradical powers (AP) of 0.3 ± 0.03 and 0.23 ± 0.02 with the DPPH and ABTS tests. This implies that the aqueous extract of *O. schweinfurthiana* bark with an AP of 27.496 ± 0.51 has an antiradical activity which is statistically superior to that of the aqueous extract of *A. schweinfurthii* bark whose AP is 23.542 ± 1.203 . Hence, aqueous extracts of *O. schweinfurthiana* and *A. schweinfurthii* barks possess the best reducing activity. The aqueous extract of *A. schweinfurthii* bark in the FRAP test, with a reducing power of 0.185 ± 0.003 mg EAA/g dry extract, has a statistically identical ($P > 0.05$) reducing activity to that of the aqueous extracts of *O. schweinfurthiana* barks whose reducing power is 0.191 ± 0.011 mgEAA/g dry extract. On the other hand, with the β -carotene test, the aqueous extract of *A.*

schweinfurthii bark with a reducing power of 3.251 ± 0.015 mg EAA/g dry extract, has a reducing activity statistically greater ($P < 0.05$) to that of aqueous extracts of *O. schweinfurthiana* bark whose reducing power is 2.541 ± 0.003 mg EAA/g dry extract.

For the *in vivo* antioxidant activity, the aqueous extract of *A. schweinfurthii* 250 mg/kg has a reducing capacity of 0.167 ± 0.001 mg/mL, statistically higher ($P < 0.05$) than that of all tested extracts. The results of the catalase and superoxide dismutase assays showed that the aqueous extracts of the barks *O. schweinfurthiana* and *A. schweinfurthii* at 100 mg/kg are effective in trapping free radicals and preventing oxidative stress.

The results of the anti-inflammatory tests obtained demonstrated that the aqueous extracts of the barks of *O. schweinfurthiana* and *A. schweinfurthii* have good inhibitory activities of 15-lipoxygenase with their respective IC_{50} corresponding to 32.19 ± 0.36 μ g/mL and 37.19 ± 0.54 μ g/mL. As for the inhibition of proteinase, the aqueous extract of *O. schweinfurthiana* showed high proteinase inhibitory activity with an IC_{50} of 75.63 ± 0.75 μ g/ML while the aqueous extract of *A. schweinfurthii* bark has a high denaturation inhibitory activity of BSA with an IC_{50} of 13.67 ± 0.88 μ g/mL.

Aqueous extracts of *A. schweinfurthii* and *O. schweinfurthiana* barks are non-genotoxic. With respect to the cytotoxicity test on the MCF-7, MDA-MB-361 and Vero cells, fraction A and fraction B exhibited selective cytotoxicities on the MCF-7 cell with LC_{50} of 2.502 ± 0.001 μ g/ mL and 3.23 ± 0.002 μ g/mL, respectively. The aqueous extract of the bark of *A. schweinfurthii* showed selective cytotoxicity on the MDA-MB-361 cell with an LC_{50} of 12.5 ± 1.2 μ g/ML; all samples tested were non-cytotoxic on Vero cells.

As contribution, these extracts constitute complementary treatments for the targeted chemotherapy against the proliferation of breast cancer cells, the isolated and identified molecules could constitute potential anti-cancer agents.

Key words : *Anthocleista schweinfurthii*, *Ochna schweinfurthiana*, aqueous extracts, antioxidant, anti-inflammatory, pure compounds and cancerous breast cells

LISTE DES ABREVIATIONS

ABS :	Absorbance
ABTS :	<i>2,2'-Azinobis-3 ethylbenzothiazoline -6-sulfonic acid</i>
Act-1:	<i>Nuclear Factor Activating-1</i>
ADCC :	<i>Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity</i>
ADN :	Acide Désoxyribonucléique
AI :	Anti-inflammatoire
AINS :	Anti-inflammatoires non stéroïdiens
AIS :	Anti-inflammatoires stéroïdiens
AMM :	Autorisation de mise sur le marché
AP-1 :	Activator protein-1
ARNm :	Acide ribonucléique messenger
ATCC :	<i>American Type Culture Collection</i>
BHA :	Butylhydroxyanisole
BHT :	Butylhydroxytoluène
BRCA :	<i>Breast Receptor Cancer Adecarcinoma</i>
C ₄ H :	Cinnamate 4-Hydroxylase
CAT :	Catalase
CCI :	Carcinome Canalaire Infiltrant
CCIS :	Carcinomes Canalaires In Situ
CCM :	Chromatographie sur Couche Mince
CE ₅₀ :	Concentration Efficace 50
CLHP :	Chromatographie Liquide à Haute Performance
CLI :	Carcinome Lobulaire Infiltrant
CLIS :	Carcinomes Lobulaires In Situ
COX :	Cyclooxygénase
CTL :	<i>Cytotoxic T-Lymphocyte</i>
CTLA-4 :	<i>Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4</i>
CVAP :	Cyclophosphamide, Vincristine, Doxorubicine, Prednisolone
DAD :	<i>Diode Array Detector</i>
DAMP :	<i>Damaged Associated Molecular Patern</i>
DIHETE :	Acides Dihydroeicosatriéniques
DMSO :	Diméthylsufoxide

2,4- DNPH :	2,4-dinitrophenylhydrazine
DO :	Densité optique
DPPH :	2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyle
DTNB :	Acide-2,2-dithio-5,5'-dibenzoïque
EAA :	Equivalent d'Acide Ascorbique
EDTA :	<i>Ethylene Diamine Tetraacetic Acid</i>
EGF :	<i>Epidermal Growth Factor</i>
EGFR :	Récepteur de l'EGF
ENR :	Espèces Nitrogènes Réactives
EOR :	Espèces Oxygénées Réactives
ERK :	<i>Extracellular Related Kinase</i>
ERO :	Espèces Réactives de l'Oxygène
Fas :	<i>Apoptosis Stimulating Fragment</i>
Fas-L :	Ligand de Fas
FCS :	<i>Foetal Calf Serum</i>
Fox O :	<i>Forkhead box class O</i>
FRAP :	<i>Ferric Reducing Antioxidant Power Assay</i>
GP :	Glutathion peroxydase
GSH :	Glutathion Réduit
GSSG :	Glutathion oxydé
HAI-2 :	<i>Hepatocyte growth factor inhibitor type 2</i>
HBD :	Domaine Liant l'Héparine
HER2 :	<i>Human epidermal growth factor receptor 2</i>
HIF-1 :	<i>Hypoxia inductible factor-1</i>
HNC :	Herbier National du Cameroun
HSF-1 :	<i>Heat Shock Factor-1</i>
HSP :	<i>Heat Shock Protein</i>
IARC :	Agence International de Recherche contre le cancer
IC :	Cancers du sein Inflammatoire
IC ₅₀ :	Concentration Inhibitrice à 50 %
IFN :	Interféron
IFN- γ :	Interferon gamma
Ig :	Immunoglobuline

IHC :	Immunohistochimie
IL :	Interleukine
IRM :	Imagerie par Résonance Magnétique
IS :	Indice de Sélectivité
I κ B :	Inhibiteur de NF- κ B
KIR :	<i>Killer Ig-Like Receptors</i>
LABC :	Cancers du Sein Localement Avancés
LC ₅₀ :	Concentration Létale à 50 %
LDH :	Lactate déshydrogénase
LMW-E :	<i>Low Molecular Weight-E</i>
LOX :	Lipoxygénase
LPS :	Lipopolysaccharides
LT :	Leucotriènes
MAC :	Médecine Alternative et Complémentaire
MAI :	<i>Mitotic Activity Index</i>
MAPK :	<i>Mitogen-activated protein kinases</i>
MCP1 :	<i>Monocyte Chemoattractant Protein-1</i>
MEM :	<i>Minimal Essential Medium</i>
Min :	Minute
MMP :	Métalloprotéinase
MSBR :	SBR modifié
MTA :	Médicament Traditionnel Amélioré
MTT :	3-(4, 5-diméthylthiazol)- 2, 5-diphényltétrazolium bromide
NAD :	Nicotinamide Adénine Dinucléotide oxydé
NADH :	Nicotinamide Adénine Dinucléotide réduit
NCI :	Institut National du Cancer
NCR :	<i>Natural Cytotoxicity Receptor</i>
NF- κ B :	<i>Nuclear factor-kappa B</i>
NK :	<i>Natural killer</i>
nm :	Nanomètre
OMS :	Organisation Mondiale de la Santé
ORAC :	<i>Oxygen Radical Absorbance Capacity</i>
PA :	Pouvoir Antiradicalaire

PAI-1 :	Inhibiteur de type I d'uPA
PAL :	Phénylalanine ammonia-lyase
PL :	Phosphatase Alcaline
PBP :	<i>Penicillin binding proteins</i>
PD-L :	Ligand de PD-1
PGH ₂ :	Prostaglandine
pH :	Potentiel d'hydrogène
PI3K :	phosphoinositide 3-kinase
PTP :	Protéine Tyrosine Phosphate
RBC :	Globule Rouge
RH :	Récepteur aux Hormones
ROO° :	Radicaux péroxyles
ROOH :	Peroxyde Organique
RP :	Récepteur à la Progestérone
RTK :	Recepteur Tyrosine Kinase
SBR :	<i>Scarff-Bloom et Richardson</i>
SG :	Survie Globale
SOD :	Superoxide Dismutase
SSR :	Survie Sans Rechute
TAE :	<i>Tris Acetate Ethylene</i>
TAM :	<i>Tumor-Associated Macrophage</i>
TCR :	<i>T-cell Receptor</i>
TEAC :	<i>Trolox-Equivalent Antioxidant Capacity</i>
TGF :	<i>Transforming Growth Factor</i>
Th :	<i>T helpers</i>
TIMP :	Inhibiteur Tissulaire des MMP
TN :	Triple-Négatif
TNF :	<i>Tumor Necrosis Factor</i>
TPTZ :	2,4,6 tri (2-pyridyl-1,2,5-triazine)
TRAP:	<i>Total Radical Trapping Antioxidant Parameter</i>
TRIS :	Tris (hydromethyl) aminométhane
Trolox :	Acide 6-hydroxy-2, 5, 7, amidinopropane
Trs/min :	Tours par min

TTC : 2,3,5-Triphenyl Tetrazolium Chloride
UICC : Union Internationale Contre le Cancer
uPA : *Urokinase Plasminogen Activator*
VEGFR2 : *Vascular Endothelial Growth Factor Receptor*

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Rendements d'isolement des composés de <i>A. schweinfurthii</i>	80
Tableau II : Récapitulatif du screening phytochimique.....	81
Tableau III : Récapitulatif de la teneur des polyphénols dans les extraits étudiés.....	81
Tableau IV: Cinétique de piégeage des radicaux libres des extraits aqueux des feuilles, écorces et des molécules références.....	82
Tableau V : Récapitulatif des résultats de l'activité antiradicalaire <i>in vitro</i> par le DPPH.....	84
Tableau VI : Récapitulatif de l'activité aniradicalaire des extraits des deux plantes.....	86
Tableau VII : Récapitulatif de l'activité antiradicalaire	86
Tableau VIII : Récapitulatif de l'activité réductrice par le test de FRAP	87
Tableau IX : Récapitulatif de l'activité réductrice par le test de β -carotène	88
Tableau X : Récapitulatif des tests de réduction, FRAP et β -carotène.....	89
Tableau XI : Masse des reins des différents lots.....	90
Tableau XII : Masse Du foie des différents lots	91
Tableau XIII : Récapitulatif du test de réduction du fer par le plasma:	92
Tableau XIV : Récapitulatif dosage de la catalase.....	93
Tableau XV : Récapitulatif dosage de la SOD	94
Tableau XVI : Récapitulatif du test d'inhibition de la 15-lipoxygenase.....	103
Tableau XVII : Récapitulatif d'inhibition de la dénaturation du BSA.....	105
Tableau XVIII : Récapitulatif d'inhibition de la protéinase.....	107
Tableau XIX : Récapitulatif du test de cytotoxicité.....	113
Tableau XX : Sommaire des tests de génotoxicité	117
Tableau XXI : Rendements d'isolement des composés de <i>O. schweinfurthiana</i>	121
Tableau XXII : Rendements d'isolement des composés de <i>O. schweinfurthiana</i>	122

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Principales sources d'espèces réactives de l'oxygène et de l'azote au niveau des cellules vasculaires	7
Figure 2 : Principales sources d'espèces réactives de l'oxygène et de l'azote au niveau des cellules vasculaires	8
Figure 3 : Origine extra et intracellulaire des ERO.....	9
Figure 4: Spectre de différentes pathologies touchant divers organes dans lesquels le stress est impliqué	9
Figure 5 : Déséquilibre de l'homéostasie rédox des cellules cancéreuses	10
Figure 6 : Potentialisation de la voie des ERK par les ERO	11
Figure 7 : Participation des ERO dans la mise en place des caractéristiques des cancers	11
Figure 8 : Les trois types de la SOD et leur localisation.	13
Figure 9 : Rôle central des enzymes antioxydantes dans la cascade oxydante	14
Figure 10 : Prostaglandines et substances apparentées formées à partir de l'acide arachidonique chez l'animal	23
Figure 11 : Estimation mondiale de l'incidence des cancers chez les femmes en 2018	27
Figure 12 : Représentation schématique d'un sein en coupe	31
Figure 13 : Principales étapes de la formation d'une métastase	34
Figure 14 : Principaux sites métastatiques du cancer du sein	35
Figure 15 : Possibles localisations de cancer du sein	37
Figure 16 : Mode d'action des anticorps	39
Figure 17 : Photographie Tronc et feuilles de <i>O. schweinfurthiana</i>	49
Figure 18 : Photographie Tronc et feuilles de <i>A. schweinfurthii</i>	50
Figure 19 : Schema de l'organigramme de la méthodologie expérimentale	53
Figure 20 : Protocole d'extraction des extraits aqueux de <i>O. schweinfurthiana</i> et <i>A. schweinfurthii</i>	54
Figure 21 : Protocole expérimental schématisé pour l'obtention des échantillons pour les tests antioxydants <i>in vivo</i>	66
Figure 22 : Protocole d'extraction et d'isolement des composés des écorces de <i>O. schweinfurthiana</i>	77
Figure 23 : Protocole d'extraction et d'isolement des composés des écorces de <i>A. schweinfurthii</i>	78
Figure 24 : Cinétique de piégeage du DPPH par les extraits aqueux des écorces et des feuilles de <i>O. schweinfurthiana</i> et <i>A. schweinfurthii</i>	82

Figure 25 : Variation du pourcentage de piégeage du DPPH en fonction de la concentration des extraits aqueux des écorces et des feuilles de <i>A. schweinfurthii</i>	83
Figure 26 : Courbe de variation du pourcentage de piégeage du DPPH en fonction de la concentration de l'acide ascorbique et du BHT	83
Figure 27 : Courbe de variation du pourcentage de piégeage de l'ABTS en fonction de la concentration des extraits aqueux des écorces et des feuilles de <i>A. schweinfurthii</i> et <i>O. schweinfurthiana</i>	85
Figure 28 : Courbe de variation du pourcentage de piégeage de l'ABTS en fonction de la concentraion de l'acide ascorbique et le BHT	85
Figure 29 : Courbe de variation du pourcentage de piégeage du β -carotène en fonction de la concentraion des extraits aqueux des écorces, feuilles de <i>A. shweinfurthii</i> et <i>O. schweinfurthiana</i>	88
Figure 30 : Courbe de comparaison de la masse relative des reins des différents lots	89
Figure 31 : Courbe de comparaison de la masse relative du foie des différents lots	90
Figure 32: Comparaison des concentrations inhibitrices en fonction des différents lots	91
Figure 33 : Représentation de l'activité de la catalase dans les différents lots en fonction des Erythrocytes, Reins et Foie	92
Figure 34 : Représentation de l'activité de la SOD dans les différents lots en fonction des Erythrocytes, Reins et Foie.	94
Figure 35 : Pourcentage d'inhibition de la 15-lipoxygénase par les extraits aqueux des écorces de <i>O. schweinfurthiana</i> et <i>A. schweinfurthii</i>	102
Figure 36 : Comparaison des concentrations inhibitrices des extraits aqueux des écorces de <i>O. schweinfurthiana</i> , <i>A. schweinfurthii</i> et Quercetine	103
Figure 37 : Comparaison des concentrations inhibitrices des extraits aqueux des écorces de <i>O. schweinfurthiana</i> , <i>A. schweinfurthii</i> et Quercetine	104
Figure 38 : Comparaison des concentrations inhibitrices des extraits aqueux des écorces de <i>O. schweinfurthiana</i> et <i>A. schweinfurthii</i> et Diclofenac de sodium	105
Figure 39 : Pourcentage d'inhibition de la protéinase par les extraits aqueux des écorces de <i>O. schweinfurthiana</i> , <i>A. schweinfurthii</i> et l'Aspirine	106
Figure 40 : Comparaison des concentrations inhibitrices des extraits aqueux des écorces de <i>O. schweinfurthiana</i> , <i>A. schweinfurthii</i> et Aspirine	106
Figure 41 : Viabilité cellulaire (%) des cellules MCF-7 traitées par la fraction A, la fraction B et la fraction C à différentes concentrations:	110

Figure 42 : Viabilité cellulaire (%) des cellules MDA-MB-361 traitées par la fraction A, la fraction B et la fraction C à différentes concentrations	111
Figure 43 : Viabilité cellulaire (%) des cellules MCF-7 traitées par les extraits aqueux des écorces de <i>O. schweinfurthiana</i> et <i>A. schweinfurthii</i>	111
Figure 44 : Viabilité cellulaire (%) des cellules MDA-MD-361 traitées par les extraits aqueux des écorces de <i>O. schweinfurthiana</i> et <i>A. schweinfurthii</i>	112
Figure 45 : Viabilité cellulaire (%) des cellules Véro traitées par la fraction A, la fraction B et la fraction C, les extraits aqueux des écorces de <i>O. schweinfurthiana</i> et <i>A. schweinfurthii</i> à différentes concentrations.....	113
Figure 46 : Cinétique cytotoxique des extraits aqueux des écorces de <i>O. schweinfurthiana</i> et <i>A. schweinfurthii</i> aux concentrations respectives de 72,75 µg/mL et 12,5 µg/mL sur la lignée cellulaire MDA-MB-361	115
Figure 47 : Cinétique cytotoxique des extraits aqueux des écorces de <i>O. schweinfurthiana</i> et <i>A. schweinfurthii</i> aux concentrations respectives de 72,75 µg/mL et 12,5 µg/mL sur la lignée cellulaire MDA-MB-361	116
Figure 48 : Chromatogramme LC-MS obtenu à partir des écorces de <i>O. schweinfurtiana</i> ...	122
Figure 49 : Chromatogramme LC-MS obtenu à partir des écorces de <i>A. schweinfurthii</i>	125

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : Information sur les cellules cancéreuses mammaires MDA-MB-361.....	A
Annexe 2 : Information sur les cellules cancéreuses mammaires MCF-7.....	B
Annexe 3 : Photo de la chromatographie sur colonne et de la centrifugeuse 90-1.....	B
Annexe 4 : Photo test antioxydant in vivo et composition standard des aliments des rats.....	C
Annexe 5 : Préparation du Tampon Phosphate (PBS) pour 500 mL à pH 7,2.....	D
Annexe 6 : Préparation du Tampon Tris-HCl pour 500 mL à pH 8,2.....	D
Annexe 7 : Données spectroscopiques des composés de l'extrait aqueux des écorces de <i>O. schweinfurthiana</i>	D
Annexe 8 : Données spectroscopiques des composés de l'extrait aqueux des écorces de <i>A. schweinfurthii</i>	E
Annexe 9 : Spectre du composé 9 de l'extrait aqueux des écorces de <i>O. schweinfurthiana</i>	F
Annexe 10 : Spectre du composé 10 de l'extrait aqueux des écorces de <i>O. schweinfurthiana</i> .F	
Annexe 11 : Spectre du composé 13 de l'extrait aqueux des écorces de <i>O. schweinfurthiana</i> .F	
Annexe 12 : Spectre du composé 14 de l'extrait aqueux des écorces de <i>O. schweinfurthiana</i> .G	
Annexe 13 : Spectre du composé 15 de l'extrait aqueux des écorces de <i>O. schweinfurthiana</i> .G	
Annexe 14 : Spectre du composé 17 de l'extrait aqueux des écorces de <i>O. schweinfurthiana</i>	H
Annexe 15 : Spectre du composé 3 de l'extrait aqueux des écorces de <i>A. schweinfurthii</i>	H
Annexe 16 : Spectre du composé 4 de l'extrait aqueux des écorces de <i>A. schweinfurthii</i>	H
Annexe 17 : Spectre du composé 8 de l'extrait aqueux des écorces de <i>A. schweinfurthii</i>	I
Annexe 18 : Spectre du composé 13 de l'extrait aqueux des écorces de <i>A. schweinfurthii</i>	I
Annexe 19 : Spectre du composé 17 de l'extrait aqueux des écorces de <i>A. schweinfurthii</i>	I
Annexe 20 : Spectre du composé 20 de l'extrait aqueux des écorces de <i>A. schweinfurthii</i>	J
Annexe 21 : Courbes d'étalonnages.....	J

INTRODUCTION GENERALE

Le corps humain produit dans un processus métabolique normal les Espèces Réactives Oxygénées (ERO). Les mitochondries, les peroxysomes, les cellules immunes comme les leucocytes et les macrophages sont les principales sources endogènes de production des ERO dans la cellule (**Sruthi et John, 2007**). Il existe un système permanent de défense antioxydante de l'organisme contre les ERO qui repose principalement sur trois enzymes à savoir le superoxyde dismutase (SOD), le glutathion peroxydase et la catalase. Mais lorsqu'un agent pathogène entre en contact avec l'organisme lors d'une infection, ou en présence des facteurs environnementaux, on assiste à une surproduction des ERO qui dépassent alors les capacités antioxydantes de la cellule.

Au Cameroun, comme dans la plupart des pays en développement, on assiste à une recrudescence des maladies infectieuses. L'inflammation dans un processus initial contribue à la maintenance de l'homéostasie cellulaire. Mais la persistance d'un agent pathogène dans un organisme ou le contact récurrent d'un organisme à des agents pathogènes en générale fait intervenir d'une manière inappropriée l'inflammation qui entraîne un désordre métabolique aboutissant à un état de déséquilibre appelé stress oxydant. Le stress oxydant se caractérise par des cascades de réactions d'oxydation en chaînes conduisant à un dérèglement progressif des fonctions normales du corps et par conséquent, induit l'immunodéficience chez les êtres vivants, les maladies métaboliques et dégénératives telles que les maladies cardiovasculaires, le diabète, le vieillissement précoce des cellules, l'inflammation, la maladie d'Alzheimer, le rhumatisme et certains cancers (**Kueté et al., 2010**).

Le cancer est un problème majeur de santé publique dans le monde. Autrefois considérée comme la maladie des blancs ou des riches, les pays développés étaient les plus touchés, mais au cours des dernières décennies, les pays en voie de développement connaissent une incidence croissante de ce fléau dont l'origine reste encore inexplicée. Tous les registres du cancer ont noté une augmentation de l'indice dans le monde. En 2018, l'Agence Internationale de Recherche contre le Cancer (IARC) a déclaré plus de 18 millions de décès dans le monde. Ce nombre pourrait augmenter jusqu'à 29,6 millions au cours des vingt prochaines années si rien n'est fait (**Globocan, 2018**).

Au Cameroun, on dénombre 15769 nouveaux cas détectés et 10518 décès enregistrés en 2018 (**Globocan, 2018**). Chez les femmes, le cancer du sein est le cancer le plus fréquent. En 2018, le fardeau mondial du cancer du sein s'élève à 2088849 de nouveaux cas par an ; 6,3

millions de femmes vivaient avec un cancer du sein diagnostiqué au cours des cinq années précédentes.

Dans les pays à faible revenu de l'Afrique francophone subsaharienne et particulièrement au Cameroun, le cancer lorsqu'il est découvert tôt, peut être guéri. Mais généralement, le cancer du sein est diagnostiqué tardivement, à une phase où la guérison est soit non possible, soit qu'elle requiert des moyens non encore disponibles. Fait aggravant, la plupart des patientes ne disposent d'aucune couverture sociale ce qui, avec le manque de personnels formés et de structures spécialisées, limite les chances de guérison. De tout ce qui précède et ajouté à un manque de fonds pour mener une politique nationale de dépistage précoce et systématique du cancer du sein au Cameroun, 80 % des patientes camerounaises sont généralement diagnostiquées à la phase terminale de la maladie (**Sando, 2014**).

Dans la phase terminale du cancer du sein, on assiste à une surproduction des facteurs de croissances, facteurs nécrosants de tumeurs, cytokines, leucocytes et macrophages, des effecteurs à l'origine de l'inflammation chronique et la surproduction des ERO (**Pollard, 2004**). Ces ERO créent un état de déséquilibre aboutissant au stress oxydant (**Sayre et al., 2008 ; Goto et al., 2008 ; Shrestha, 2012**). Les ERO sont à l'origine de l'activation anormale des récepteurs aux facteurs de croissance et des voies de signalisation (**Haugsten et al., 2010 ; Knights & Cook, 2010**), les ERO se développent et entraînent des lésions cellulaires, notamment la formation d'adduits à l'ADN potentiellement générateurs de mutations, à l'origine de changements de l'expression de différents gènes. Le principal gène muté est celui qui code pour la protéine anti-oncogénique P⁵³ (**Hanahan et Weinberg, 2011**). Cette mutation entraîne un dérèglement de la prolifération des cellules cancéreuses dû à une dérégulation du cycle cellulaire en liaison avec cet état physiopathologique. Ainsi, on assiste à une hyperprolifération des cellules cancéreuses (**Feng et al., 2014**). L'inflammation et le stress oxydant sont responsables de 15 % de la malignité des cellules pré-cancéreuses (**Coussens et Werb, 2002 ; Condeelis et Pollard, 2006**). Des études cliniques récentes ont montré que la prise des agents anti-inflammatoires réduit considérablement le risque de cancer du sein et de cancer du côlon (**Coussens et al., 2013**). Il est maintenant clair et établi que le microenvironnement de la tumeur est largement orchestré par l'inflammation et le stress oxydant, qui participent au processus néoplasique et favorisent la prolifération des cellules tumorales (**Kanterman et al., 2012**). C'est pourquoi à la phase terminale du cancer du sein, l'OMS recommande des moyens de traitement complémentaires et/ou alternatifs aux moyens de traitements conventionnels, notamment l'utilisation des plantes médicinales. Les

plantes médicinales sont des sources inépuisables des médicaments anticancéreux pour la médecine moderne. D'ailleurs, 60 % des médicaments anticancéreux utilisés aux USA de nos jours ont été isolés ou dérivent d'une source naturelle (**Newman et Cragg, 2007**).

Ochna schweinfurthiana et *Anthocleista schweinfurthii* sont deux plantes de la pharmacopée camerounaise. *O. schweinfurthiana* communément appelée "Sa'aboulé" en foulfouldé, est utilisée en médecine traditionnelle dans la région du Nord Cameroun pour traiter différentes pathologies comme la rubéole, les brûlures, le mal d'estomac, le paludisme et les maladies inflammatoires. C'est une espèce de la famille des Ochnaceae. En effet plusieurs travaux ont montré que cette plante est riche en métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, anthroïdes, stéroïdes, terpenoïdes et alcaloïdes (**Rao et al., 1997 ; Pegnyemb et al., 2003 ; Anuradha et al., 2006**

A. schweinfurthii est une plante de la famille des Loganiaceae, elle entre dans la composition de recettes traditionnelles pour le traitement des problèmes de fertilité masculine et féminine et pour le traitement des infections microbiennes au Togo, au Nigeria, au Cameroun, au Gabon et en Guinée équatoriale (**Ruijter, 2007; Christophe et al., 2015**). En Tanzanie, la décoction des écorces de racines et des feuilles d'*A. schweinfurthii* est utilisée pour le traitement du paludisme, pour le traitement de la douleur, des blessures et pour le traitement des maladies inflammatoires (**Burkill, 1995 ; Christophe et al., 2015**). Au Congo, la décoction d'écorces de *A. schweinfurthii* est utilisée pour traiter la hernie (**Schmelzer, 2008**). Au Cameroun, *A. schweinfurthii* communément appelé "Bopolopolo" en langue Douala et "Betbreu" en langue Medumba, est utilisée pour ses vertus galactogènes, pour le traitement des problèmes ovariens. La décoction des écorces de *A. schweinfurthii* est utilisée pour le traitement des infections sexuellement transmissibles, pour le traitement des désordres gastro-intestinaux, les ulcères gastriques, les douleurs abdominales, de la fièvre typhoïde et des maladies inflammatoires (**Adongo et al. 2012; Christophe et al., 2015**). Au Nigeria, *Anthocleista djalensis* est utilisé en médecine traditionnelle pour soigner le cancer du sein (**Gbadamosi et Erinoso, 2016**).

A notre connaissance, l'évaluation des propriétés préventives du stress oxydant, de l'inflammation et l'activité antiproliférative des extraits aqueux de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* sur les cellules métastatiques du cancer du sein n'a pas encore été réalisée.

QUESTIONS DE RECHERCHE

- 1- Les extraits aqueux de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* possèdent-ils des activités préventives du stress oxydant ?
- 2- Les extraits aqueux de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* sont-ils capables d'empêcher la réaction inflammatoire ?
- 3- Les extraits aqueux de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* et les biomolécules actives peuvent-ils réduire la prolifération des cellules mammaires cancéreuses sans effet délétère sur la cellule saine et sur le matériel génétique ?
- 4- Les extraits aqueux de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* sont-ils constitués de biomolécules actives ?

HYPOTHESES

- 1- Les extraits aqueux de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* possèdent des propriétés préventives du stress oxydant et inflammatoire,
- 2- Les extraits aqueux de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* sont doués d'activité antiproliférative sur les cellules métastatiques du sein.

OBJECTIFS

La présente étude a pour objectif principal d'étudier les propriétés préventives du stress oxydant, de l'inflammation et l'activité antiproliférative des extraits aqueux de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* sur les cellules métastatiques du sein.

Les objectifs spécifiques étant de :

- Déterminer *in vitro* et *in vivo* l'activité antioxydante des extraits aqueux de *O. schweinfurthiana* et de *A. schweinfurthii*,
- Rechercher *in vitro* l'activité anti-inflammatoire des extraits aqueux de *O. schweinfurthiana* et de *A. schweinfurthii*,
- Evaluer la cytotoxicité des extraits et des fractions sur deux lignées métastatiques du cancer du sein et sur une cellule saine ensuite, étudier leur propriété mutagénique,
- Isoler et identifier les biomolécules à partir des fractions de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii*.

Cette thèse est présentée en trois chapitres :

- ❖ Le chapitre I ressort l'état actuel de la science et les données disponibles concernant le sujet traité.

- ❖ Le chapitre II présente l'ensemble des matériels utilisés dans la première partie ensuite, l'ensemble des méthodes utilisées pour atteindre l'ensemble des objectifs fixés dans la deuxième partie.
- ❖ Le chapitre III présente l'ensemble des résultats obtenus et la discussion.

CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTÉRATURE

I) Généralités sur le stress oxydant et l'inflammation

I-1) Généralités sur le stress oxydant

Les cellules humaines et animales peuvent être soumises à une grande variété d'agressions physiques (traumatisme, exposition immodérée aux radiations et au soleil sans protection suffisante, hyper ou hypothermie), chimiques (acidose, toxines, tabagisme), métaboliques (exposition à des xénobiotiques, privation d'un facteur hormonal ou facteur de croissance, consommation excessive d'alcool), les infections, l'inflammation chronique et la pratique du sport de haut niveau. La plupart de ces agressions débouchent sur une expression commune due à l'exagération d'un phénomène physiologique normalement très contrôlé, qui est la production de radicaux dérivés de l'oxygène conduisant à un état de déséquilibre connu sous le terme de stress oxydant (Sayre *et al.*, 2008 ; Goto *et al.*, 2008).

I-1-1) Définition du stress oxydatif

Le stress oxydant se définit comme étant l'incapacité d'un organisme à se défendre contre l'agression des espèces réactives oxygénées, suite à un déséquilibre lié, soit à une production accrue des ERO, soit à une diminution de la capacité de défense antioxydante (Eyog *et al.*, 2006). Ce déséquilibre peut se produire quand le système de défense antioxydant est surmené par l'augmentation des ERO ou lorsque les systèmes de défense de l'organisme sont affaiblis par une carence d'apport et/ou de production de ces derniers (Agbor *et al.*, 2004). Il s'en suit donc un déséquilibre de l'homéostasie Redox qui rend les cellules vulnérables aux attaques des ERO (Nia *et al.*, 2005). Ces espèces oxygénées actives très réactives, sont très diversifiées et classifiées en fonction de leur structure et leur source de production.

I-1-2) Différents types d'ERO

I-1-2-1) Les différents types d'ERO en fonction de leurs structures

Une ERO est un radical libre, c'est-à-dire une espèce caractérisée par une instabilité et/ou un pouvoir oxydant fort, elle se différencie par la présence d'un ou de plusieurs électron(s) non apparié(s) sur sa couche électronique la plus externe. Parmi toutes les ERO, on distingue un ensemble restreint de ces composés qui jouent un rôle particulier en physiologie et qui sont appelés les radicaux primaires à savoir : l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), le radical hydroxyle (HO^{\bullet}), le monoxyde d'azote (NO^{\bullet}), le radical peroxyde (ROO^{\bullet}) et le radical

alkoxyde (RO^\bullet) (Figure 1). Les autres ERO sont dites radicaux secondaires, telles que l'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le nitroperoxyde (HONO_2), elles se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (Favier, 2003).

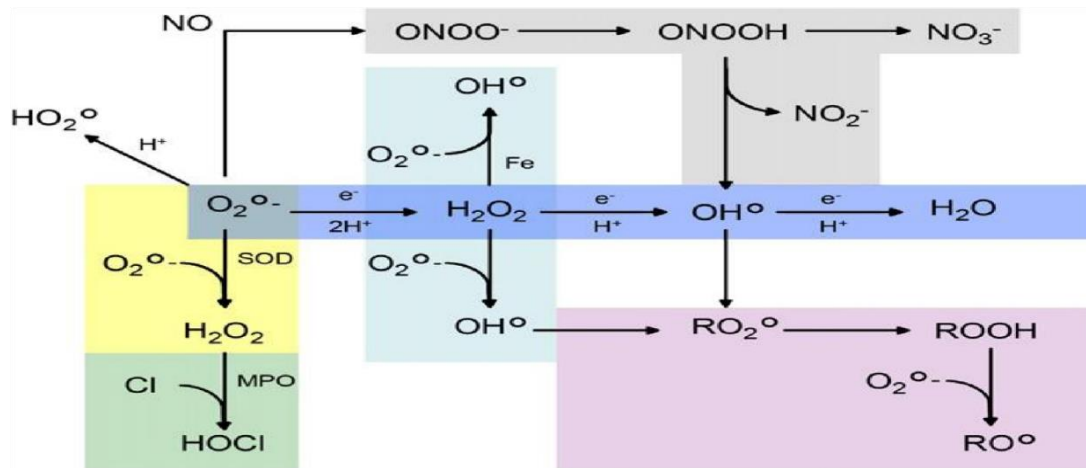


Figure 1 : Formation en cascade des différentes espèces oxygénées réactives à partir du radical superoxyde (Kœchlin-Ramonatxo, 2006)

I-1-2-2) Les différents types d'ERO en fonction de leurs source de productions

Les ERO nocifs sont produits dans l'organisme au cours du métabolisme normal. Cette production augmente en rapport avec l'élévation de la consommation d'oxygène (Valko *et al.*, 2007). Plusieurs mécanismes et systèmes responsables de la production de radicaux libres ont été identifiés jusqu'à présent, parmi eux nous citons des fuites d'électrons au niveau de la chaîne respiratoire de la mitochondrie (Wang et Dubois, 2010), des processus inflammatoires produits par les cellules phagocytaires activées telles que les macrophages et leucotriènes (Van *et al.*, 2009), du système xanthine déshydrogénase/oxydase activé lors d'ischémie-reperfusion (Valko *et al.*, 2007 ; Li et Feng, 2011). Les ERO de part leur réactivité participent à de nombreux processus vitaux pour le maintien de l'homéostasie cellulaire comme la phagocytose, la bactéricidie, la signalisation cellulaire. L'exposition de fibres musculaires au H_2O_2 augmente toutes les caractéristiques de la contraction musculaire.

Les ERO participeraient également à l'amélioration du captage musculaire du glucose, et à la reconstitution des stocks en glycogène musculaire. Les ERO régulent de nombreux facteurs de transcription tels que l'activateur protéine- 1 (AP-1) et *heat shock factor*-1 (HSF-1) qui activent des gènes dits «protecteurs» pour la cellule. En effet, ces gènes régulent l'expression de molécules de défense telles que les antioxydants ou les *heat shock protein*

(HSP) contribuant aux processus de réparation et régénération cellulaires (**Kœchlin-Ramonatxo, 2006**). En plus, les ERO participent à l'apoptose, qui physiologiquement représente un processus bénéfique qui protège contre le cancer et diverses maladies immunitaires ou dégénératives.

Les ERO, lorsqu'elles sont formées en faibles concentrations, sont des régulateurs des voies de signalisation et de l'expression des gènes au niveau des cellules vasculaires et jouent ainsi un rôle important dans les processus physiologiques et pathologiques de ces cellules. En effet, l'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$ et son métabolite, le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), sont capables d'induire des modifications fonctionnelles de multiples protéines impliquées dans l'homéostasie vasculaire, incluant des tyrosine-kinases comme le *epidermal growth factor receptor* (EGF-R) (**Dominique et al., 2002**).

En intervenant comme seconds messagers, les ERO jouent un rôle dans le contrôle de processus cellulaires physiologiques tels que la croissance, la migration, la sénescence, l'apoptose ou la survie des cellules endothéliales et des cellules musculaires lisses ou le développement de processus pathologiques conduisant à l'augmentation de la perméabilité et l'activation endothéliale, la réponse inflammatoire et la prolifération des cellules musculaires lisses (**Dominique et al., 2002**).

A l'opposé des ERO endogènes produits dans l'organisme au cours du métabolisme normal (Figure 2), une exposition à des agressions de l'environnement, comme les agents infectieux, la pollution, les UV, la fumée de cigarette et le rayonnement solaire (Figure 3) entraînent une augmentation de la production des ERO dans l'organisme et induisent des cascades de réactions d'oxydation en chaînes conduisant à un dérèglement progressif des fonctions normales du corps, par conséquent, induisent l'immunodéficiência chez les êtres vivants, les maladies métaboliques chroniques et dégénératives (**Tamer, 2003 ; Ali et al., 2008**).

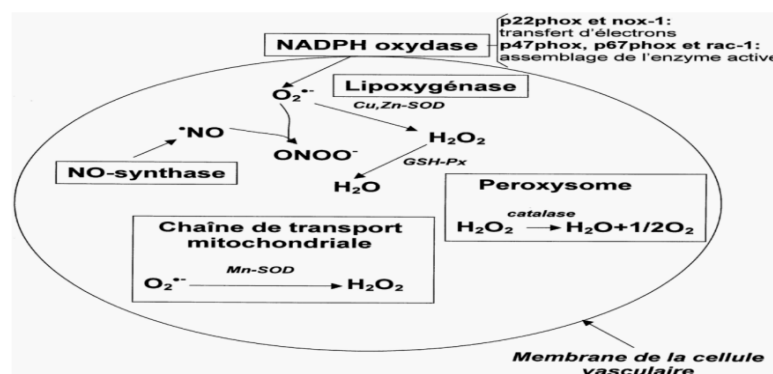


Figure 2 : Principales sources d'espèces réactives de l'oxygène et de l'azote au niveau des cellules vasculaires (**Dominique et al., 2002**)

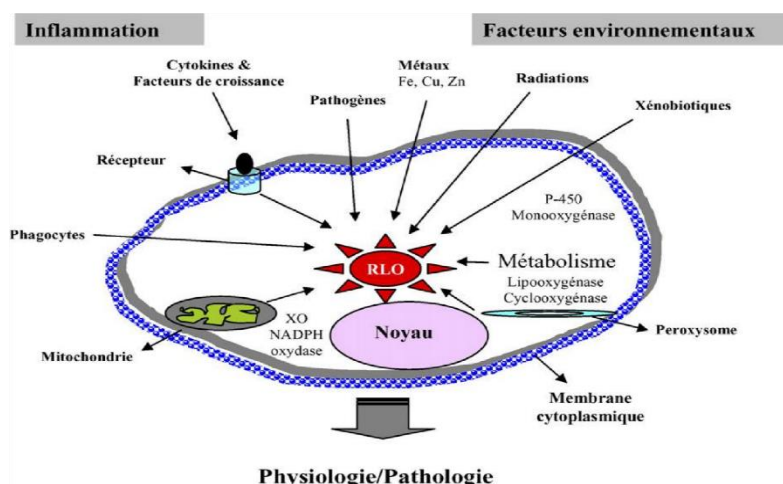


Figure 3 : Origine extra et intracellulaire des ERO (Afonso *et al.*, 2007)

I-1-3) Stress oxydant, pathologies associées et prévention d'ERO

I-1-3-1) Stress oxydant et pathologies associées

L'altération des composantes cellulaires et des structures tissulaires intervient lorsque l'intensité des phénomènes radicalaires augmente anormalement et dépasse la quantité d'antioxydants disponibles. La conséquence de ce déséquilibre va entraîner une agression appelée stress oxydant (Sruthi et John, 2007). Tous les tissus et tous leurs composants peuvent être touchés : lipides, protéines, glucides et ADN. Toutes ces altérations augmentent le risque de plus de 30 processus de différentes maladies (Figure 4) ; parmi lesquelles : les maladies d'Alzheimer, de Parkinson, de Creutzfeldt Jacob, de méningo-céphalites, les maladies cardiovasculaires et la déficience cardiaque, les œdèmes, le vieillissement prématuré et certains cancers (Ali *et al.*, 2008).

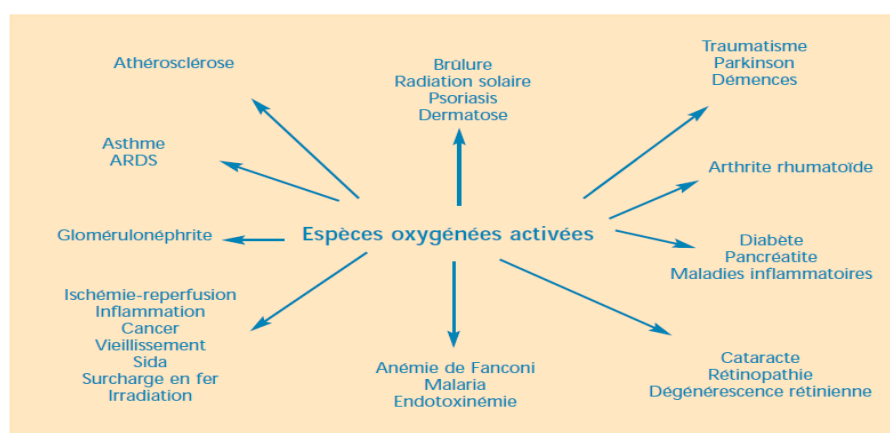


Figure 4 : Spectre de différentes pathologies touchant divers organes dans lesquelles le stress oxydant est impliqué (Pincemail *et al.*, 2001)

I-1-3-2) Les ERO et accentuation des signaux de prolifération des cellules cancéreuses

La prolifération incontrôlée des tumeurs requiert une up-régulation de multiples voies de signalisation cellulaire (Trachootchan *et al.*, 2009). Il s'agit d'une caractéristique fondamentale du cancer qui fait appel à une dérégulation de l'expression des facteurs de croissance et de leurs récepteurs. Plusieurs voies de signalisation suractivées sont sensibles aux variations du potentiel rédox (Figure 5). De cette façon, les ERO peuvent potentialiser certaines d'entre elles.

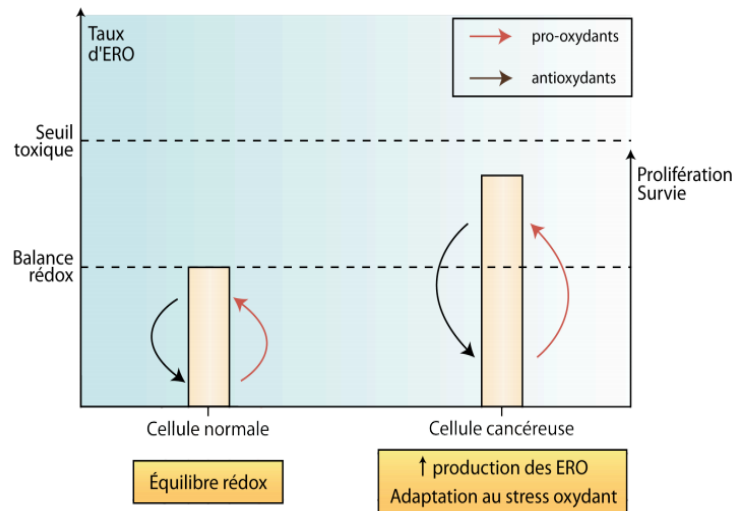


Figure 5 : Déséquilibre de l'homéostasie rédox des cellules cancéreuses (Trachootchan *et al.*, 2009)

I-1-3-3) Les ERO et activation des récepteurs aux facteurs de croissance

La croissance très rapide des cellules tumorales est attribuée en partie à l'activation anormale des récepteurs aux facteurs de croissance et des voies de signalisation favorisant la prolifération. Les ERO peuvent promouvoir le développement cancéreux et la prolifération cellulaire en affectant ces deux mécanismes (Figure 6). Dans les conditions normales, l'activation d'un récepteur aux facteurs de croissance à activité tyrosine kinase (RTK) est très brève en raison de l'action (i) soit de protéines tyrosine phosphatases (PTP) qui sont des régulateurs négatifs des RTK, (ii) soit d'ubiquitines ligases initiant leur dégradation par ubiquitinylation. Or en condition de stress oxydatif rencontré dans les cellules cancéreuses, ces deux systèmes de régulation sont dérégulés par les ERO qui oxydent les cystéines de leurs sites actifs et permettent ainsi de prolonger l'action médiée par les facteurs de croissance (Lemmon et Schlessinger, 2010). Des RTK déclenchent la synthèse des ERO après phosphorylation de la petite GTPase Rac responsable de l'activité des NADPH oxydases.

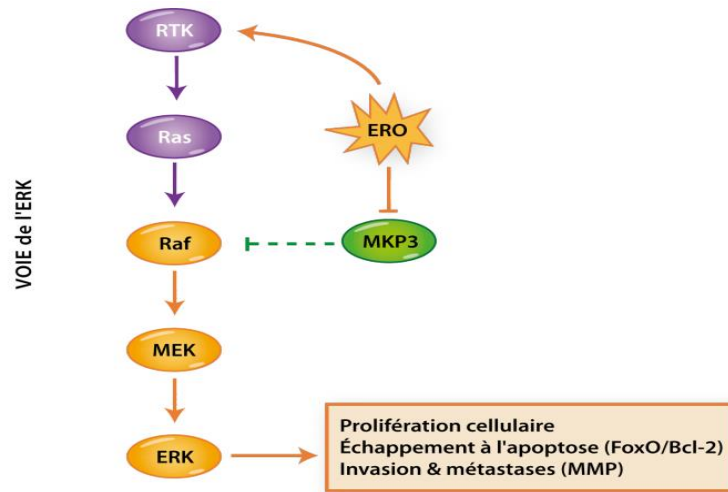


Figure 6 : Potentialisation de la voie des ERK par les ERO (Valko *et al.*, 2007)

La production contrôlée des ERO apparaît comme un mécanisme incontournable de la régulation et de la signalisation cellulaires qui participe au maintien de l'homéostasie radicalaire de la cellule. Une perturbation de cette homéostasie est considérée à l'heure actuelle comme impliquée dans le développement de nombreuses pathologies parmi lesquelles le cancer. La compréhension des mécanismes d'action des ERO en relation avec les cancers devient un enjeu clinique. La Figure 7 ci-dessous résume les implications des ERO dans les caractéristiques du cancer.

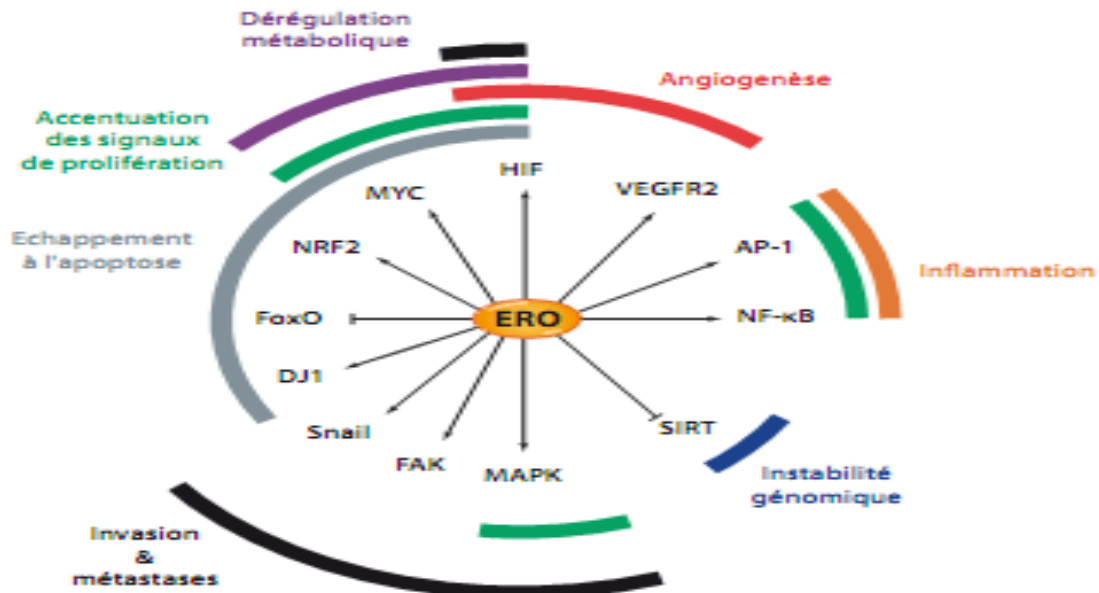


Figure 7 : Participation des ERO dans la mise en place des caractéristiques des cancers (Hanahan et Weinberg, 2011)

Les phénomènes radicalaires de base sont utiles au bon fonctionnement de l'organisme mais un dérèglement de ceci entraîne des conséquences parfois irréparables pour l'organisme. Il existe heureusement des mécanismes très variés qui permettent de régulariser ce processus radicalaire et préserver ainsi l'organisme contre ces nombreuses maladies liées au stress oxydant.

I-1-4) Les moyens de défense contre les radicaux libres

Un antioxydant est toute molécule endogène ou exogène capable de prolonger la durée de conservation d'un produit ou d'une molécule en empêchant ou en retardant sa détérioration due à son oxydation. Les systèmes de lutte contre les ERO sont classés dans 3 catégories : la prévention à plein temps (la prévention passive), la détoxification active suite à une attaque oxydante et la détoxification passive (**Viro, 2004**).

I-1-4-1) Prévention à plein temps contre les radicaux libres

Ce type de prévention est un système qui agit en permanence dans le but de prévenir la surproduction de radicaux libres de l'oxygène en inactivant les molécules endogènes (Fe, Cu) ou exogènes (quinone) susceptibles de les générer. Par exemple, la liaison de la transferrine (protéine chélatrice) avec deux atomes de fer ferrique par molécule à pH physiologique rend ce métal incapable d'être impliqué dans les mécanismes d'oxydoréduction générateurs de radicaux libres.

I-1-4-2) Détoxification active suite à une attaque oxydante

Ce système de défense repose principalement sur 3 enzymes (**Valko et al., 2007**).

I-1-4-3) La superoxyde dismutase (SOD)

Il catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et en oxygène



Chez l'être humain, il y a 3 isoformes de SOD à cofacteurs métalliques (Cu-SOD; Zn-SOD; Mn-SOD) (Figure 8); ces isoformes sont localisés dans le cytoplasme et la mitochondrie (**Van et al., 2009**).

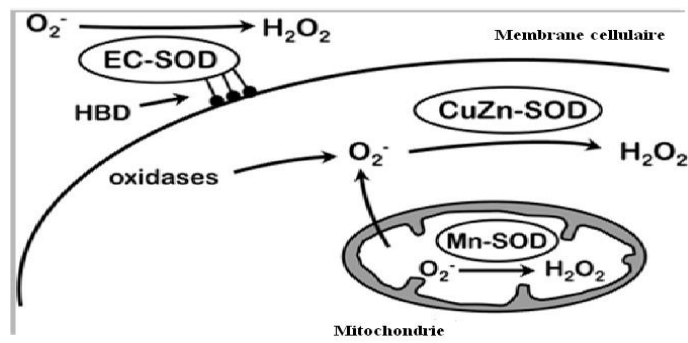


Figure 8 : Les trois types de la SOD et leur localisation (Faraci et Didion, 2004)

Légende : SOD : enzyme superoxyde dismutase ; EC-SOD : extracellulaire superoxyde dismutase ; HBD : domaine liant l'héparine.

I-1-4-4) La catalase

Elle permet de convertir deux molécules de H_2O_2 en H_2O et O_2

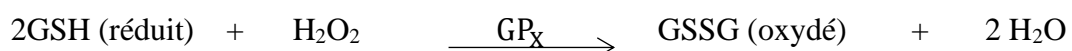


Le peroxyde d'hydrogène est un sous produit de nombreuses réactions métaboliques. La cellule doit absolument l'éliminer au fur et à mesure qu'il se forme. Ce produit deviendrait rapidement mortel s'il s'accumulait dans la cellule. La catalase permet de le transformer rapidement en composés inoffensifs, de l'eau et l'oxygène. La catalase est une grosse protéine formée de quatre chaînes polypeptidiques d'environ 500 acides aminés, comportant chacune un groupe hème (Delattre *et al.*, 2005). Ces hèmes et leur environnement protéique sont les sites actifs de cette enzyme. Pour catalyser la réaction, l'atome de fer du groupement hème de la catalase réalise une coupure hétérolytique de la liaison O-O du peroxyde d'hydrogène créant de ce fait une molécule d'eau et un groupement Fe=O hautement oxydant. Ce dernier peut ensuite oxyder une autre molécule de peroxyde d'hydrogène pour donner du dioxygène.

Les catalases sont localisées surtout dans les peroxysomes (Valko *et al.*, 2007). Elles n'éliminent pas la totalité du peroxyde d'hydrogène, mais leur rôle est très important surtout en présence d'ions ferreux car elles permettent d'éliminer l'excès de peroxyde d'hydrogène afin que la réaction de Fenton ne puisse pas s'amplifier. Elles sont quantitativement moins efficaces que les glutathions peroxydases (Delattre *et al.*, 2005).

I-1-4-5) Glutathion peroxydase

C'est une enzyme à cofacteur de sélénium, se localise dans le cytosol et la matrice mitochondriale. Elle a pour activité la dégradation des peroxydes organiques (ROOH) et du peroxyde d'hydrogène H_2O_2 (Figure 9).



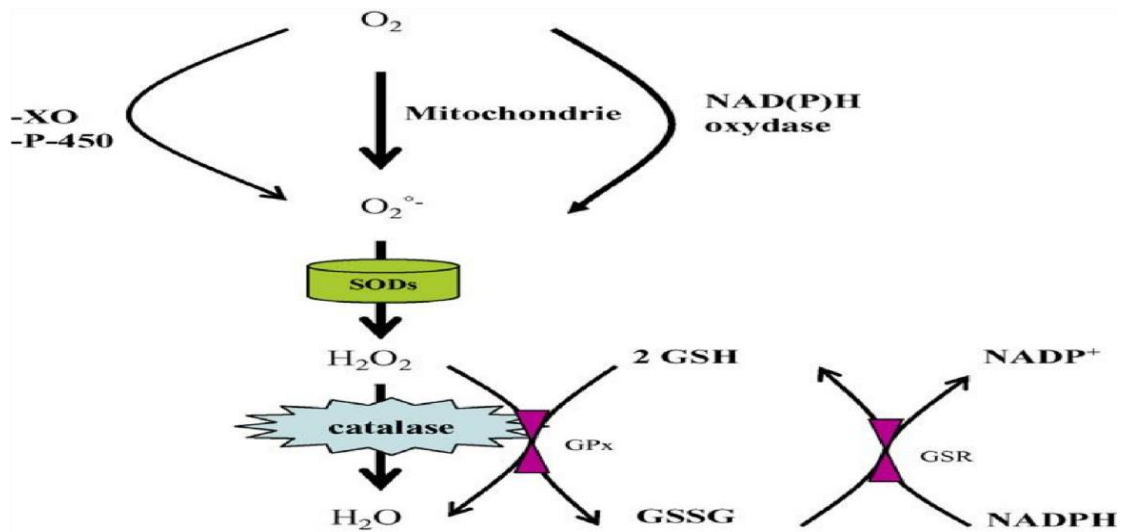
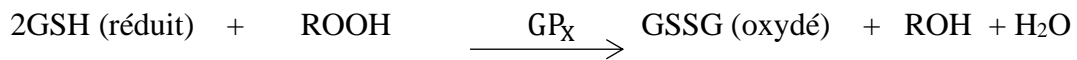


Figure 9 : Rôle central des enzymes antioxydantes dans la cascade oxydante (Afonso *et al.*, 2007)

I-1-4-6) Détoxification passive

Elle permet la réduction des radicaux oxygénés qui ont pu passer les deux premières lignes de la défense. Elle inclut tous les antioxydants non enzymatiques capables de neutraliser seulement un radical libre par molécule tels que les vitamines C et E, les caroténoïdes, les composés phénoliques, l'albumine, l'acide urique, les polyamines, l'acide lipoïque, (Valko *et al.*, 2007).

I-1-4-7) Vitamine E (tocophérol)

Elle est considérée comme le principal antioxydant attaché à la membrane utilisé par la cellule pour inhiber la peroxydation lipidique (Valko *et al.*, 2007). Durant la réaction antioxydante, le α -tocophérol est converti en radical α -tocophérol beaucoup plus stable en perdant un hydrogène arraché par une espèce radicalaire (radical peroxyde).

I-1-4-8) Vitamine C (acide ascorbique)

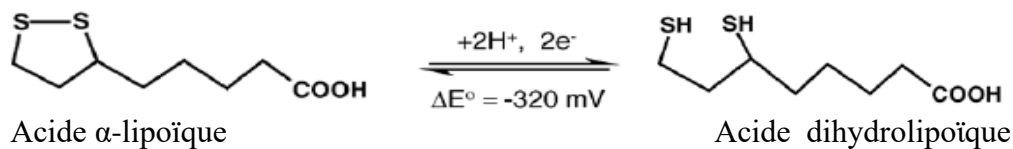
Ses propriétés antioxydantes sont attribuées à sa capacité d'être réduit en radical ascorbyle après la perte d'un électron ou d'un proton. Ce radical peut facilement s'oxyder en captant l'anion superoxyde et certaines espèces radicalaires (perhydroxydes et peroxydes) (Valko *et al.*, 2007, Van *et al.*, 2009).

I-1-4-9) Caroténoïdes

L'activité antioxydante de ces molécules repose principalement sur la présence de nombreuses doubles liaisons conjuguées au sein de leur structure. Généralement, elles interagissent avec les radicaux libres (ROO^\bullet , RO^\bullet) par 3 mécanismes, par l'abstraction d'hydrogène, par transfert d'électron ou par addition du radical (Valko *et al.*, 2007).

I-1-4-10) Acide lipoïque (acide 1,2-dithiolane-3-pentanoïque)

Cet acide est aisément absorbé et converti rapidement dans de nombreux tissus à la forme réduite dithiol, l'acide dihydrolipoïque. Il joue un rôle important dans le piégeage des ERO, la régénération des antioxydants endogènes et exogènes tels que les vitamines C et E et le glutathion, la chélation des métaux Cu^{2+} et Fe^{2+} (Valko *et al.*, 2007).



I-1-4-11) Les antioxydants synthétiques

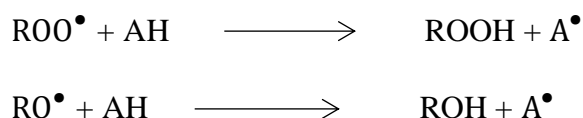
Ce sont des composés à structures phénoliques avec des degrés variés de substitution des groupements alkyles. Ils sont généralement utilisés pour limiter l'oxydation des denrées alimentaires à l'instar du butylhydroxyanisole (BHA) et le butylhydroxytoluène (BHT). Ils ont été utilisés longtemps depuis le début du vingtième siècle. Cependant ces antioxydants de synthèse sont de moins en moins utilisés dans les denrées alimentaires, les antioxydants naturels leur étant préférés en raison de leur effet carcinogène (Manfred *et al.*, 1998).

Les antioxydants peuvent également être classés en fonction de leur mécanisme d'action. On distinguera ainsi les inhibiteurs des radicaux libres, les décomposeurs des peroxydes, les désactivateurs des ions métalliques ou les piègeurs.

I-1-5) Les antioxydants de type I ou antioxydants primaires, antiradicalaires ou encore antioxydants vrais ou antioxydants curatifs

Ce sont des autocatalytiques, ils bloquent les ERO lipidiques par transfert d'un proton hydrogène. La plupart est de nature phénolique (BHT, BHA, acide gallique, TBHQ), dont l'efficacité s'explique par la délocalisation de l'électron célibataire de l'oxygène avec le noyau aromatique, stabilisant ainsi le radical formé. Ils peuvent stopper complètement une réaction jusqu'à ce que les radicaux soient totalement consommés : il y'a donc un effet

quantitatif déterminant (Sayre *et al.*, 2008). Cette réaction s'effectue selon les équations suivantes :



Légende : (AH : antioxydant, A[•] : radical de l'antioxydant; ROO[•], RO[•] : radicaux libres hautement réactifs).

Les radicaux A[•] sont des composés stables et ne possèdent pas l'énergie suffisante pour arracher un hydrogène à une autre molécule, chez les lipides par exemple, ces réactions vont permettre l'arrêt de la propagation pendant le phénomène d'oxydation. Les composés appartenant à cette classe d'antioxydants sont les composés phénoliques naturels ou de synthèses. Ces composés phénoliques sont considérés comme les métabolites secondaires, synthétisés à partir des plantes qui ont subi un développement normal (Harborne *et al.*, 1998).

I-1-6) Les antioxydants de type II ou antioxydants secondaires ou encore antioxydants préventifs

Ce sont des molécules qui agissent sur les autres facteurs d'oxydation. Ce type d'antioxydant prévient la formation des ERO et peut intervenir par différents mécanismes. Certains chélatent les ions métalliques réduisant l'effet prooxydant des ions, c'est le cas des acides phosphoriques et polyphosphates, l'acide tartrique, l'acide phytique et citrique. Cette activité antioxydante est attribuée à la propriété que possèdent les biopolymères à former des complexes avec les métaux de transition (Kamil *et al.*, 2002). Les réducteurs d'oxygène : dans ce groupe figure l'acide ascorbique, capable de régénérer les antioxydants tels que les tocophérols (car sa forme énolique est facilement oxydable en sa forme dicétonique) ou le β-carotène qui désactive l'oxygène singulet formé par photosensibilisation.

I-1-7) Méthodes d'évaluation des propriétés antioxydantes *in vitro*

Plusieurs méthodes sont disponibles pour mesurer l'activité antioxydante des aliments et des systèmes biologiques. Elles peuvent être classées en deux groupes selon deux mécanismes : soit par le transfert d'atome d'hydrogène, soit par le transfert d'un simple électron (Sanchez, 2002 ; Huang *et al.*, 2005). Les techniques du premier groupe sont employées pour évaluer la peroxydation lipidique en utilisant un substrat lipidique ou lipoprotéique. La quantification de cette propriété est exprimée par la mesure du degré d'inhibition de l'oxydation. Alors que, les méthodes du deuxième groupe sont celles qui interviennent dans la mesure de l'habilité du

piégeage des ERO. Elles comportent le balayage du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), de l'acide hypochloreux ($HOCl$), de l'hydroxyle (HO^\bullet), des anions superoxyde ($O_2^{\bullet -}$), du peroxyde (ROO^\bullet) et de l'oxyde nitrique ($ONOO^\bullet$) (**Sanchez, 2002**). Parmi ces techniques, nous citons entre autres :

I-1-7-1) Tests basés sur le transfert d'un atome d'hydrogène

Cette méthode consiste à faire réagir le composé à tester avec un radical libre disponible sous forme stable comme le 2,2-diphényl-1-picryl hydrazine (DPPH). Le DPPH sous sa forme radicalaire DPPH absorbe de 515 à 517 nm mais après réduction avec un antiradicalaire AH ou une espèce radicalaire R^\bullet l'absorption disparaît (**Brand-Williams et al., 1995**).

I-1-7-2) La méthode ORAC

Elle est basée sur l'habilité d'un composé antioxydant à récupérer un radical oxygéné comme le peroxyde. Le système automatique de la méthode ORAC couplé avec un système chromatographique est nécessaire pour mesurer la capacité antioxydante totale d'un produit naturel (**Wana et Shahidi, 2005**).

I-1-7-3) La méthode TRAP

Elle est utilisée par le spectromètre luminescent pour mesurer la fluorescence du R-phycoerythrine qui baisse durant la réaction de peroxydation (**Finaud et al., 2004**).

I-1-7-4) Tests basés sur le transfert d'un électron

Dans chaque test, la capacité antioxydante à réduire l'oxygène actif ou chélater les métaux lourds est mesurée. Cette méthode regroupe le TEAC (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*), le FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*).

I-1-7-5) Test de FRAP

Il permet de mesurer l'habilité d'un antioxydant à réduire le complexe ion ferrique 2,4,6-tripyridyl-*s*-triazine(Fe^{3+} -TPTZ) en ion ferreux 2,4,6-tripyridyl-*s*-triazine (Fe^{2+} -TPTZ). La réduction est traduite par intensification de la coloration bleue dont l'absorbance est mesurée à 593 nm (**Benzie et Strain 1999**).

I-1-7-6) Le test de TEAC

Ce test permet de mesurer l'agilité d'un antioxydant à augmenter la durée de vie de l'anion ABTS. La capacité antioxydante est mesurée ; elle traduit l'habilité de l'antioxydant à diminuer la coloration du radical ABTS⁰⁺ (Prior *et al.*, 2005).

I-1-8) Méthodes d'évaluation des propriétés antioxydantes *in vivo*

I-1-8-1) Capacité de réduction ferrique du plasma

C'est l'un des tests les plus rapides et le plus utilisé pour les analyses de routine. L'activité antioxydante est estimée en mesurant l'augmentation de l'absorbance provoquée par la formation d'ions ferreux à partir du réactif FRAP contenant du TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine) et du FeCl₂6H₂O. L'absorbance est mesurée par spectrophotométrie à 593 nm. La méthode illustrée par Benzie et Strain (1999) implique l'utilisation d'échantillons de sang prélevés du plexus veineux rétro-orbital de rat dans des tubes EDTA à 0,7 et 14 jours de traitement.

I-1-8-2) Estimation du glutathion réduit (GSH)

Le GSH est un réducteur intracellulaire qui joue un rôle majeur dans la catalyse, le métabolisme et le transport. Il protège les cellules contre les radicaux libres, les peroxydes et d'autres composés toxiques (Sapakal *et al.*, 2008).

I-1-8-3) Estimation de la glutathion peroxydase (GSHPx)

Le GSHPX est une séléno-enzyme dont les deux tiers (dans le foie) sont présents dans le cytosol et un tiers dans les mitochondries. Il catalyse la réaction des hydroperoxydes avec du glutathion réduit pour former du glutathion disulfure (GSSG) et le produit de réduction de l'hydroperoxyde. La faible activité de cette enzyme est l'une des premières conséquences d'une perturbation de l'équilibre prooxydant/antioxydant (Paglia et Valentin, 1967 ; Yang *et al.*, 1984).

I-1-8-4) Dosage de la superoxyde dismutase (SOD)

Cette méthode est bien décrite par Mccord et Fridovich (1969) et peut être appliquée à la détermination de l'activité antioxydante d'un échantillon. Une unité d'activité enzymatique est une inhibition de 50 % du taux d'autooxydation du pyrogallol, déterminée par le changement d'absorbance/minute à 420 nm. L'activité de la SOD est exprimée en unités/mg de protéines.

I-1-8-5) Catalase (CAT)

L'activité de la catalase peut être déterminée dans le lysat d'érythrocytes en utilisant la méthode décrite par **Aebi (1984)**. Une unité d'activité est égale à 1 mmol de H₂O₂ dégradé par minute et est exprimée en unités par milligramme de protéines.

I-1-8-6) Dosage de la LDL

La LDL isolée est lavée et dialysée contre 150 mmol/L de NaCl et 1 mmol/L de Na₂ EDTA, l'oxydation des LDL est déterminée en mesurant la quantité de peroxydes lipidiques générée ainsi que par le dosage des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) à 532 nm, en utilisant du malondialdéhyde (MDA) pour la courbe standard (**Buege et Aust, 1978 ; El-Saadani et al., 1989**).

La détermination du pouvoir antioxydant des molécules par ces différentes méthodes peut en effet permettre d'avoir une idée sur leur pouvoir anti-inflammatoire, car le stress oxydant et l'inflammation sont deux processus physiologiques dont les causes et conséquences de l'un peuvent induire l'autre et vice-versa.

I-2) Généralités sur l'inflammation

L'inflammation et le cancer sont étroitement liés par des processus oxydants spécifiques dans le micro-environnement tumoral (**Nowsheen et al. 2012**). Par conséquent, les enzymes oxydantes qui jouent un rôle clé dans l'inflammation, sont de plus en plus ciblées dans une thérapie préventive du cancer.

I-2-1) Définition

L'inflammation ou réaction inflammatoire est la réponse des tissus vivants vascularisés à une agression (**Willey et al., 2009**).

I-2-2) Etiologies de l'inflammation liée au cancer

Dans le micro-environnement de la cellule cancéreuse, l'organisme pour sa défense, produit une grande quantité de médiateurs tels que les cytokines, chimiokines, bradykinines, facteurs de croissances, facteurs nécrosants de tumeurs. Ces médiateurs attirent vers le site du cancer des cellules immunitaires comme les macrophages, les leucocytes. La surproduction de ces médiateurs entraîne alors une inflammation chronique (**Lawrence et Gilrot, 2007 ; Mantovani et Sica, 2010**).

I-2-3) Acteurs et déroulement de la réaction inflammatoire

L'inflammation fait intervenir des cellules, des vaisseaux, des modifications de la matrice extracellulaire et de nombreux médiateurs chimiques qui peuvent être pro ou anti-inflammatoires et qui peuvent modifier ou entretenir la réponse inflammatoire (**Ahmed, 2011**). Quelque soit son siège, et la nature de l'agent pathogène, le déroulement d'une réaction inflammatoire présente des caractères morphologiques généraux et des mécanismes communs. Néanmoins, les différentes étapes présentent des variations liées à la nature de l'agent pathogène, l'organe où se déroule la réaction inflammatoire, au terrain physiologique de l'hôte. Tous ces éléments conditionnent l'intensité, la durée de la réaction inflammatoire et l'aspect lésionnel.

I-2-4) Classification des inflammations

On distingue deux types d'inflammation : l'inflammation aiguë qui est évolutive et caractérisée par la prédominance des phénomènes vasculosanguins et l'inflammation chronique où domine la prolifération des fibroblastes (**Serhan et al., 2015**).

L'inflammation aiguë représente la réponse immédiate à un agent agresseur, de courte durée (quelques jours ou semaines), d'installation souvent brutale et caractérisée par des phénomènes vasculo-exsudatifs intenses. Les inflammations aiguës guérissent spontanément ou avec un traitement, mais peuvent laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante. La réaction inflammatoire aiguë n'est pas spécifique. Elle fait intervenir à la fois une réponse localisée et une réponse systémique. Quelques minutes après la lésion des tissus, on note une vasodilatation, une augmentation de la perméabilité vasculaire et de l'immigration leucocytaire contrôlées par la production et la diffusion des messagers chimiques tels que la bradykinine, les fibrinopeptides, l'histamine et les prostaglandines (**Gabay et Kushner, 1999 ; Ross, 2017**). Cette réponse locale est accompagnée de l'induction de la fièvre, de l'augmentation de la synthèse de l'hormone adénocorticotrope et de l'hydrocortisone ; de l'induction de la production des leucocytes et des protéines de la phase aiguë telle que la protéine C-réactive du foie (**Ross, 2017**).

L'inflammation chronique correspond à une inflammation n'ayant aucune tendance à la guérison spontanée et qui évolue en persistant ou en s'aggravant pendant plusieurs mois ou plusieurs années. On peut distinguer deux types de circonstances de survenue des inflammations chroniques : les inflammations aiguës évoluent en inflammations prolongées subaiguës et chroniques lorsque l'agent pathogène initial persiste dans les tissus, ou

lorsqu'une inflammation aiguë récidive de façon répétée dans le même organe en entraînant à chaque épisode des destructions tissulaires de moins en moins bien réparées; les inflammations peuvent parfois se manifester d'emblée sous une forme apparemment chronique (Ross, 2017). La phase aiguë vasculo-exsudative est passée inaperçue car brève ou asymptomatique. C'est souvent le cas de maladies auto-immunes et d'affections pour lesquelles les mécanismes dysimmunitaires sont prépondérants (ex : hépatite auto-immune). L'inflammation chronique aboutit souvent à la formation des granulomes qui sont une masse en forme de tumeur dont la zone centrale est formée de cellules géantes multinuclées issues de la fusion des macrophages activés. Cette zone est entourée de lymphocytes activés. Ces cellules exercent une fonction phagocytaire et une fonction sécrétoire dans la défense contre les agents agresseurs. Elles sécrètent entre autres des cytokines qui stimulent la prolifération des fibroblastes et la synthèse de collagène. Cette fonction est importante dans les phénomènes de réparation (Stevens et Lowe, 1997 ; Ross, 2017).

I-2-5) Mécanisme d'action de l'inflammation

La réaction inflammatoire déclenchée par les lésions tissulaires empêche la propagation des agents toxiques dans les tissus environnants, élimine les débris cellulaires et les agents pathogènes et amorce les premières étapes du processus de réparation (Isailovic *et al.*, 2015 ; Todd *et al.*, 2015). Les mécanismes de cette réaction impliquent plusieurs événements en cascade selon la séquence et les manifestations cellulaires et tissulaires. Comprendre le mécanisme potentiel des processus inflammatoires est un enjeu pour proposer des thérapies variées et avancées (Huether et McCance, 2015). Le mécanisme de l'inflammation représente une chaîne de réponses organisées et dynamiques, y compris les événements cellulaires et vasculaires avec des sécrétions humorales spécifiques. Ces voies impliquent la modification de l'emplacement physique des globules blancs (monocytes, basophiles, éosinophiles et neutrophiles), du plasma et des fluides au site enflammé (Anwikar et Bhitre, 2010 ; Huether et McCance, 2015).

Il y a tout d'abord une phase vasculaire due à la libération de médiateurs de l'inflammation sous l'influence de l'agent initiateur, l'acide arachidonique, acide gras constituant des phospholipides membranaires qui est libéré grâce à l'activation de la phospholipase A2 par des stimuli divers (Nourshargh *et al.*, 2010 ; McDonald et Kubes, 2012). L'oxydation ultérieure de l'acide arachidonique conduit selon trois voies principales (A, B, C) à différents métabolites, médiateurs de l'inflammation. L'acide arachidonique est métabolisé à travers plusieurs voies. Dans la voie A : L'addition de 2 moles d'oxygène sur

l'acide arachidonique, catalysée par les cyclooxygénases (COX-1 et COX-2) conduit à la formation d'un composé tricyclique endopéroxyde dont la réduction conduit à une prostaglandine endopéroxyde H_2PGH_2 . Le PGH_2 est un intermédiaire instable à partir duquel sont formées différentes structures «prostanoides» selon plusieurs réactions enzymatiques: prostaglandines, prostacyclines, thromboxanes (**Engelhardt, 2014**). La voie B : Elle est initiée par l'action des lipoxygénases sur l'acide arachidonique pour conduire aux trioxilines et aux leucotriènes. Plusieurs enzymes agissent dans cette voie : La 5-lipoxygénase qui réduit l'acide arachidonique en 5-Hydroperoxy-eicosatétraénoïque (5-HPETE) à partir duquel les leucotriènes (LT) sont obtenus ; la 12-lipoxygénase qui va réduire l'acide arachidonique en 12-Hydroperoxy-eicosatétraénoïque (12-HPETE) et donner par la suite les hépoxilines A_3/B_3 à partir desquels l'hépoxiline hydrolases va libérer la trioxillines A_3/B_3 enfin la 15-lipoxygénase qui va réduire l'acide arachidonique en 15-Hydroperoxy-eicosatétraénoïque (15-HPETE) à partir duquel les lipoxines A/B et les leucotriènes sont libérés (**Drazen, 2016**). La voie C : elle aboutit aux acides dihydroeicosatriéniques (DIHETE) catalysée par les époxygénases, cette voie est encore mal connue et a tendance à être négligée. La Figure 10 ci-dessous résume l'ensemble de ces trois voies.

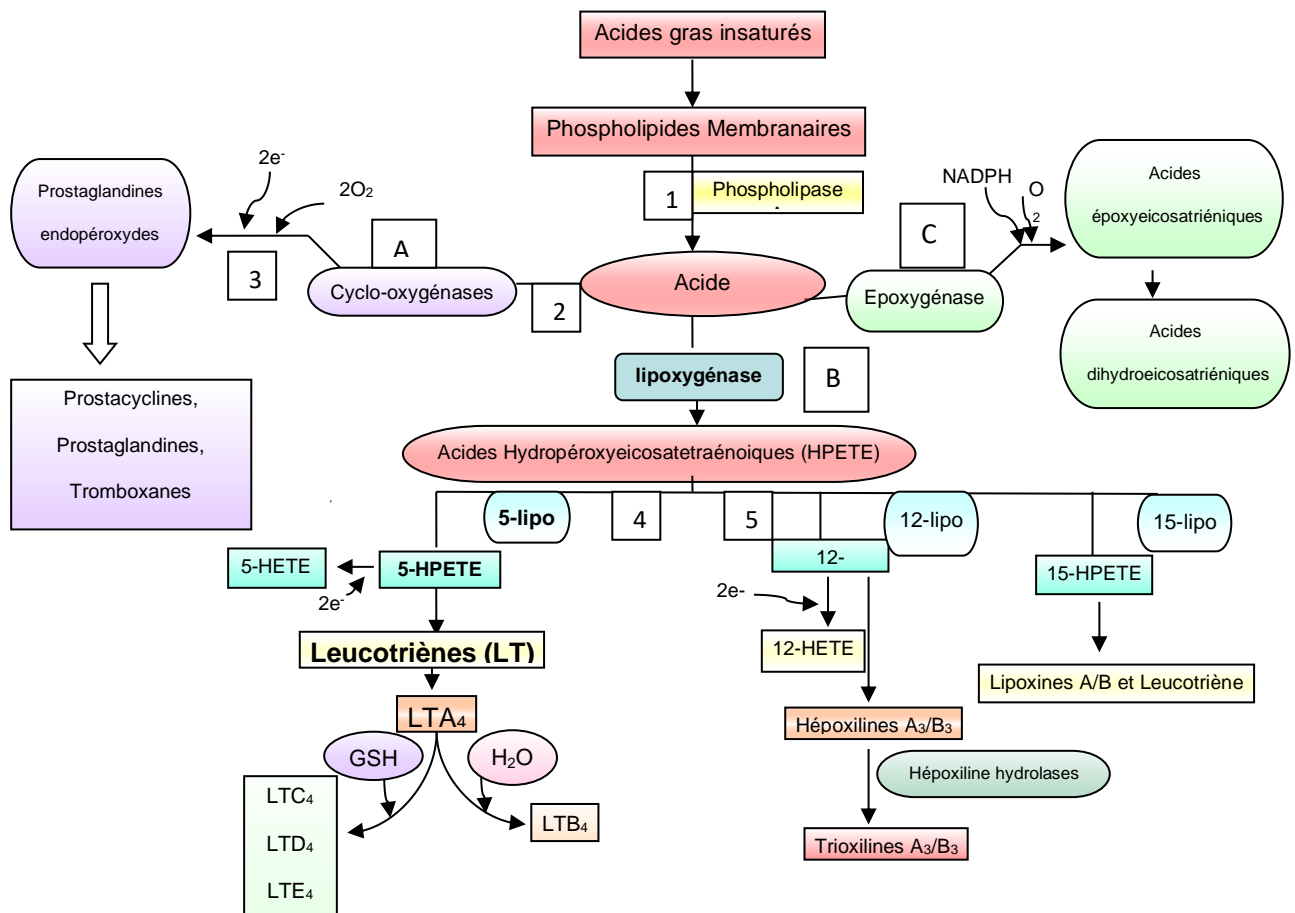


Figure 10 : Prostanoides et substances apparentées formées à partir de l'acide arachidonique chez l'animal (Schorderet et Dayer, 1992)

Légende : 1: Inhibition par les corticoïdes médiée par la lipocortine, 2: Inhibition par les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), 3: Inhibition par l'orgotéine (superoxyde dismutase, SOD), la catalase, la peroxydase et les capteurs de radicaux libres, 4: Inhibition par divers agents pharmacologiques (analogues de l'acide arachidonique, nafazatrom, acide caféique, etc.), quelques AINS (bénoxaprofène, diflunisal) et anti-asthmatiques potentiels (A-64077), 5: Inhibition par analogues de l'acide arachidonique et de quelques AINS (salicylates, indométacine)

I-2-6) Les anti-inflammatoires

I-2-6-1) Définition

Un anti-inflammatoire (AI) est un médicament destiné à combattre une inflammation. Les AI sont utilisés lorsque l'inflammation devient gênante, notamment à cause de la douleur qu'elle provoque. Les AI ont aussi une action antalgique et antipyrétique. On les associe, si besoin est, à d'autres soins, par exemple la simple immobilisation de la partie inflammée, (Pasquier, 1995).

I-2-6-2) Les classes des anti-inflammatoires

Il existe deux grandes catégories de médicaments anti-inflammatoires: Les corticoïdes (anti-inflammatoires stéroïdiens ou AIS) et les anti-inflammatoires non-stéroïdiens ou AINS.

I-2-6-3) Les corticoïdes ou anti-inflammatoires stéroïdiens ou AIS

C'est la première ligne d'AI appliquée dans les conditions inflammatoires (**Ayroldi et al., 2012**). Les corticoïdes utilisés comme médicaments, sont des hormones naturelles mais plus puissantes et plus spécifiques. Elles agissent en bloquant la phospholipase A₂. On distingue trois classes en fonction de leur activité principale : Les glucocorticoïdes comme le cortisol, qui agissent essentiellement sur le métabolisme glucidique et protéique, les minélocorticoïdes comme l'aldostérone qui agissent sur le métabolisme hydrominéral et les androgènes. Ils sont utilisés comme agents thérapeutiques avec des rôles physiologiques d'immunosuppresseurs et anti-inflammatoires. Mais il existe plusieurs effets secondaires et limites associés aux AIS, nous pouvons citer l'absorption, l'induction de l'immunodéficience, le gain de poids, les troubles hormonaux, la dépendance, les coûts et la disponibilité (**Ayroldi et al., 2012 ; Shaikh et al., 2012 ; Juthani et al., 2017**).

I-2-6-4) Les inhibiteurs des lipoxygénases

Les recherches s'intéressent de plus en plus à des inhibiteurs potentiels des lipoxygénases. Le Zileuton est un inhibiteur de la 5-lipoxygénase qui, en inhibant la synthèse des leucotriènes correspondants, a donné des résultats intéressants dans le traitement de l'asthme. Il a une courte durée d'action du fait de sa métabolisation rapide. Son principal effet indésirable serait l'élévation des transaminases avec risque d'hépatite. La méasalazine, son activité est liée à l'inhibition de la 5-lipoxygénase responsable de la synthèse du LTB₄. L'esculétine, dérivé coumarinique extrait d'*Aesculus hippocastanum*, inhibe l'activité de la 12-lipoxygénase et a montré des effets antiprolifératifs sur certaines tumeurs expérimentales (**Drazen, 2016**).

I-2-7) Evaluation des activités anti-inflammatoires des biomolécules

I-2-7-1) Inhibition de la dénaturation de l'albumine

La dénaturation des protéines est une méthode *in vitro* pour déterminer l'activité anti-inflammatoire d'une molécule. La méthode décrite par **Sakat et al. (2010)** est souvent utilisée.

I-2-7-2) Action inhibitrice de la protéinase

La méthode décrite par **Oyedepo et al. (1995)**, permet de mesurer la capacité d'un échantillon à inhiber l'action de la caséine dans le mélange réactionnel constitué de l'échantillon à tester et d'acide linoléique.

I-2-7-3) Test de stabilisation membranaire

La préparation d'une suspension de globules rouges (RBC) : Du sang entier frais (10 mL) est prélevé sur des moutons sains et transféré dans les tubes à centrifuger. Les tubes sont centrifugés à 3000 tr/min pendant 10 min et sont lavés trois fois avec un volume égal de solution saline normale. Le volume de sang est mesuré et reconstitué sous forme de suspension à 10 % v/v avec une solution saline normale (**Sadique, 1989 et Sakat et al., 2010**).

I-2-7-4) Test hémolytique induit par la chaleur

Dans ce test, la capacité anti-inflammatoire d'une molécule est mesurée par son habilité à inhiber la destruction des érythrocytes induite par la chaleur dans un mélange réactionnel constitué de 1 mL de solution d'échantillon à tester et 1 mL de suspension à 10 % de RBC (**Mizuhima, 1968**).

I-2-7-5) Essai d'oxydation ferreuse-orange au xylénol (Fox)

Le dosage est basé sur la mesure de la formation du complexe Fe^{3+} /orange de xylénol avec un spectrophotomètre à 560 nm (**DeLong et al., 2002 et Pinto et al., 2007**).

Afin d'envisager une approche thérapeutique de manière pertinente, qu'elle soit par chimiothérapie préventive ou par chimiothérapie palliative, c'est-à-dire une supplémentation en antioxydant, il est nécessaire de pouvoir appréhender dans quelle mesure les ERO et l'inflammation sont impliquées dans le cancer du sein.

I-2-8) Relation entre le stress oxydant, l'inflammation et le cancer du sein

L'inflammation est une composante essentielle de la progression tumorale, car de nombreux cancers proviennent de sites d'infection, d'irritation chronique et d'inflammation (**Brown et Wilson, 2004 ; Schreiber et al., 2011 ; Vilar et al., 2011**). Il est maintenant clair que le stroma de la cellule cancéreuse, largement orchestré par les cellules inflammatoires, est un participant indispensable au processus néoplasique, favorisant la prolifération, la survie et la migration de la cellule cancéreuse (**Mantovani et al., 2010 ; Solinas et al., 2010, Terzic et al., 2010**). L'inflammation chronique a été associée à la tumorigénicité, car il semble très possible qu'elle favorise la croissance des vaisseaux sanguins et le remodelage de la matrice extracellulaire, c'est-à-dire l'environnement parfait pour qu'une cellule normale portant des mutations devienne potentiellement maligne (**Gravitz, 2011**). De plus, les cellules

immunitaires comme les neutrophiles et les macrophages produisent des ERO via un nicotinamide adénine dinucléotide phosphate lié à la membrane plasmique, sous forme réduite (NADPH)-oxydase (**Kraaij et al., 2010**). La présence des ERO persistants au cours du stress oxydant entraîne l'induction d'une réponse inflammatoire chronique. De même, la présence de facteurs de nécrose tumorale α (TNF α) due à des macrophages infiltrant, une dérégulation de l'interleukine-6 (IL-6) entraîne une production et une régulation à la hausse d'enzymes inflammatoires telles que les lipoxigénases (**Wisastra et Dekker, 2014**). Les lipoxigénases et leurs produits de catalyse sont associés à des processus cancérogènes tels que la prolifération, la différenciation des cellules tumorales (**Wang et Dubois, 2010**). La 15-lipoxigénase qui est fortement exprimée dans les leucocytes, va synthétiser les leucotriènes à partir de l'acide arachidonique. Il a été démontré que les métabolites de la 15-lipoxigénase sont rapportés dans le développement du cancer du sein en favorisant l'invasion des cellules tumorales dans les vaisseaux lymphatiques et la formation de métastases ganglionnaires (**Kerjaschki et al., 2012**).

I-3-Généralités sur le cancer du sein

I-3-1) Définition et épidémiologie du cancer du sein

La notion de "Cancer du sein" relève d'une nomenclature générique qui fait référence à tout un ensemble de proliférations néoplasiques de la glande mammaire qui diffèrent tant du point de vue histologique qu'en ce qui concerne leur comportement évolutif. Le terme de "cancer du sein" ne désigne que les tumeurs malignes, potentiellement agressives, du sein tandis que le terme de "tumeur du sein" désigne à la fois les tumeurs malignes et bénignes. Le terme "carcinome" ou «épithélioma» est parfois utilisé, comme synonyme de "cancer". En réalité carcinome est un terme spécifique de morphologie microscopique (histologique) qui désigne les plus fréquents des cancers du sein d'origine épithéliale c'est-à-dire dérivant des unités sécrétoires (lobules) ou des canaux lactifères (**Albelda, 1990**).

I-3-2) Epidémiologie, mortalité et évolution

Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent et la principale cause de mortalité par cancer chez les femmes. Dans le monde en 2018, on note plus de 18 millions de nouveaux cas de cancers diagnostiqués et plus de 2 millions de décès enregistrés (**Globocan, 2018**). Ces chiffres atteindront respectivement 29 et 16 millions d'ici 2040. Plus de la moitié de personnes touchées vivent dans les pays en développement où le cancer est responsable de 5 à 10 % des décès (**Enow et al., 2012 ; Globocan, 2018**). Concernant le cancer du sein, plus 2

millions de nouveaux cas apparaissent, représentant 70 % des nouveaux cas de cancers féminins dans les pays à faible revenu (Figure 11). La France présente avec la Suède le meilleur taux de survie, avec plus de 80 % à 5 ans. L'amélioration de la survie dans les vingt dernières années peut être attribuée à la plus grande précocité du diagnostic par le dépistage organisé et au développement des traitements adjuvants (Ferlay, 2010).

En Afrique, les estimations de 2018 dans la région africaine de l'OMS faisaient état de 1 055 172 nouveaux cas de cancers contre 693 487 décès. L'absence de registres exhaustifs des causes de décès suggère une sous-estimation des données sur la mortalité par cancer. Les formes les plus répandues chez les hommes étaient le cancer de la prostate (114/100 000). Chez les femmes, la forme la plus répandue était le cancer du sein, avec 168.690 nouveaux cas, 74 072 décès et une prévalence de 370 015 cas sur une période de 5 ans (Globocan, 2018).

Au Cameroun, l'incidence annuelle du cancer du sein serait de 3 273 nouveaux cas contre 1 780 décès et la prévalence est estimée à 6 010 malades. Plus de 80 % des cas sont diagnostiqués à un stade avancé de la maladie et la plupart décède dans les 12 mois qui suivent le diagnostic (Enow *et al.*, 2012, Globocan, 2018).

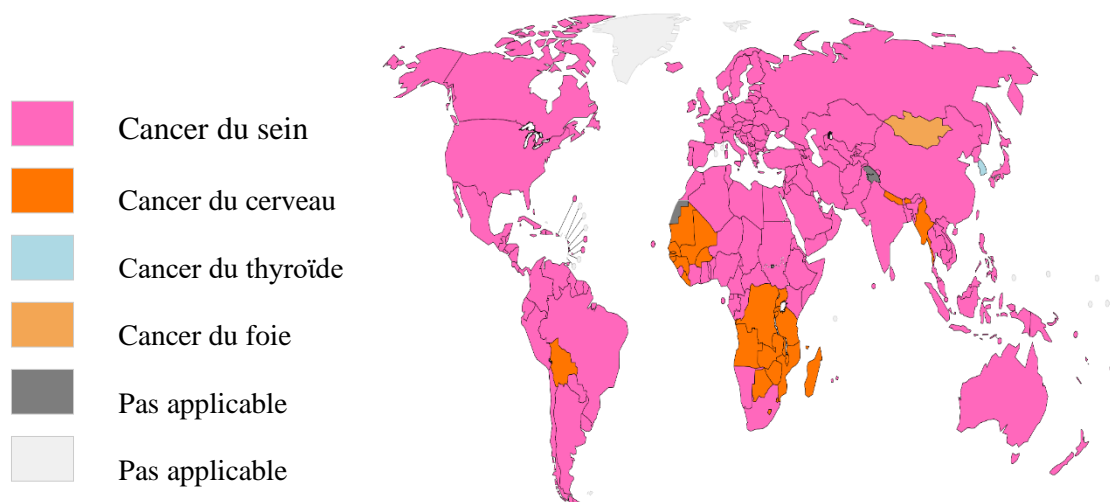


Figure 11 : Estimation mondiale de l'incidence des cancers chez les femmes en 2018 (Globocan, 2018)

I-3-3) Les facteurs de risque

Le cancer est une maladie multi-étape et multi-factorielle ; il n'ya donc jamais de cause unique du développement d'un cancer. On connaît un certain nombre de facteurs de risque du

cancer du sein même s'il existe encore aujourd'hui des incertitudes quant à l'implication et au poids de plusieurs de ces facteurs. Le fait que le cancer n'apparaisse que plusieurs années, après l'exposition augmente les difficultés à établir la relation causale entre l'agent et le cancer (**Aouba et al., 2011**). Malgré une connaissance accrue des facteurs de risque il reste impossible de prédire individuellement qui développera un cancer, selon les risques auxquels il est exposé. Néanmoins, la connaissance de ces facteurs de risque permet la mise en œuvre de mesures adaptées de prévention des cancers et de dépistages ciblés.

L'incidence du cancer du sein varie en fonction de l'âge, elle est faible avant 35 ans, puis augmente jusqu'à 80 ans. Cette augmentation est plus marquée entre 35 et 55 ans : les taux augmentent régulièrement depuis l'âge de 30 ans jusqu'à environ 65 ans et ce taux reste élevé jusqu'à 85 ans. Ainsi, seuls 29 % des cas de cancer du sein apparaissent avant 50 ans et 56 % entre 50 et 74 ans (**Ferlay et al., 2010**).

Les antécédents de pathologie mammaire, comme la présence de kystes palpables, de fibroadénomes complexes ou encore d'hyperplasie canalaire modérée, augmentent de 1,5 à 3 fois le risque de développer un cancer du sein. La présence de foyers d'hyperplasie canalaire et lobulaire atypique multiplie par 4 à 20 le risque de survenue d'un cancer du sein selon l'âge des patientes et leurs antécédents (**Vogel, 2004**). Les carcinomes canaux *in situ* (CCIS) ou les carcinomes lobulaires *in situ* (CLIS) dont l'exérèse est incomplète multiplient par 8 à 10 le risque de cancer du sein (**Osako et al., 2014**). Les femmes, qui ont eu un cancer du sein, ont 5 fois plus de risque de développer un nouveau cancer dans le même sein lorsque la chirurgie a été conservatrice, ou dans le sein controlatéral. Enfin, les antécédents personnels d'un autre cancer majorent le risque de cancer du sein : il est multiplié par 2 à 4 après un cancer du côlon et par 1 à 2 après un cancer de l'ovaire ou de l'endomètre (**Osako et al., 2014**).

Les facteurs familiaux et génétiques : Dans 5 à 10 % des cas environ, il existe une prédisposition génétique au cancer du sein. On la rencontre dans des familles à risque de cancer du sein où cette affection se transmet sur le mode autosomal dominant avec une pénétrance (expression génétique) limitée. Ceci implique que des membres d'une même famille peuvent posséder et transmettre ce gène sans développer un cancer. Les facteurs pouvant alerter le clinicien sont les suivants : 3 cancers du sein ou plus dans une même branche familiale au premier ou au deuxième degré, un cancer d'emblée multifocal ou bilatéral chez une femme jeune, d'autres cancers associés dans la famille, en particulier le cancer des ovaires. L'examen de l'arbre généalogique permet de déterminer à quel syndrome génétique appartient la famille (**Julian-Reynier, 2011**). On distingue : des familles avec

cancer du sein spécifique de site, qui ne développent que des cancers du sein, des familles avec cancer du sein et cancer des ovaires enfin, des familles où s'associent différents types de cancer dont les cancers du sein ; il s'agit du syndrome de Li-Fraumeni et du syndrome de Cowden de fréquence rare, associés à des mutations des gènes p53 et PTEN, respectivement. Trois gènes de prédisposition au cancer du sein ont été caractérisés : BRCA1 et BRCA2 localisés sur les chromosomes 17 et 13 respectivement, et BRCA3 qui serait localisé sur le chromosome 8 et dont le rôle reste à définir. Il s'agit de gènes onco-suppresseurs, exprimés dans de nombreux tissus (sein, ovaire, rate, thymus, testicule), qui interviendraient dans le contrôle de la prolifération des cellules mammaires sous l'influence de stimulations hormonales. Les mutations de BRCA1 et BRCA2 peuvent se produire n'importe où sur le gène, mais le type de mutation et leur position dans le gène pourrait conditionner l'expression de la maladie et la prolifération tumorale. C'est ainsi que les mutations siégeant dans la partie proximale de BRCA1 seraient associées à une plus grande incidence des cancers de l'ovaire. Lorsqu'une mutation de l'un de ces gènes est mise en évidence, le risque de survenue d'un cancer du sein chez les femmes de ces familles au cours de leur vie est élevé : ces femmes ont entre 40 et 85 % de risque de développer un cancer du sein si elles vivent jusqu'à 70 ans, alors que ce risque est de l'ordre de 10 % dans la population générale (**Julian-Reynier, 2011**). Il existe également des facteurs de risque externes, liés à l'environnement et aux modes et conditions de vie. L'exposition aux œstrogènes peut être endogène ou exogène. Endogène, c'est lorsqu'une imprégnation hormonale prolongée (puberté précoce < 11 ans, ménopause tardive > 55 ans, première grossesse tardive > 25 ans) augmente le risque de développer un cancer du sein. Exogène, lorsque la prise de contraceptifs oraux et de traitements hormonaux substitutifs augmente le risque de développer un cancer du sein (**Beaber et al., 2014**).

Le surpoids et les habitudes de vie : l'obésité est associée à un risque de cancer du sein multiplié par 2 chez les femmes ménopausées, il en est de même pour les femmes ayant un surpoids de plus de 20 kg à partir de l'âge de 18 ans. L'excès de tissus adipeux entraîne l'augmentation de la production et du temps d'exposition aux hormones stéroïdiennes, de plus, après la ménopause, l'aromatation des androgènes dans le tissu adipeux est l'une des plus considérables sources d'œstrogènes circulants (**Rehnan et al., 2010**).

D'après **Wolf et al. (2005)**, le diabète de type 2 pourrait augmenter de 10 à 20 % le risque relatif de développer un cancer du sein. Ceci serait dû notamment à une surproduction du récepteur à l'insuline causée par une plus grande concentration d'insuline. Le complexe

insuline/récepteur induit, par des réactions en cascades, une diminution de l'apoptose et entraîne une plus forte prolifération cellulaire.

La sédentarité : l'absence d'activité physique régulière, de l'ordre de 30 à 60 minutes au moins 4 fois par semaine, pourtant recommandée par tous les experts, représente un facteur de risque, en particulier chez les femmes ménopausées. L'alcool est le seul facteur nutritionnel établi de risque du cancer du sein. Ce risque augmente d'environ 7 % pour une consommation moyenne d'une boisson alcoolique par jour (**Lu et al., 2014**).

Le tabac est une importante source de substances carcinogènes, il est associé à la survenue de diverses maladies incluant de nombreux cancers, pourtant la cigarette n'est pas considérée comme un facteur de risque établi du cancer du sein car les résultats d'études sont discordants jusqu'ici (**Cotterchio et al., 2014**).

L'alimentation : L'association entre le risque de cancer du sein et les principales composantes de l'alimentation humaine incluant les fruits et les légumes, les produits laitiers, la viande, les vitamines, les fibres et les phyto-œstrogènes a fait l'objet de nombreuses études. D'une manière générale, les résultats restent discordants (**Castelló et al., 2014**).

I-3-4) Architecture et développement du sein

Le sein est une glande exocrine qui se compose d'une masse, d'une auréole et d'un mamelon (Figure 12). La glande mammaire est constituée de 2 compartiments cellulaires : le compartiment mésenchymateux, perfusé par les vaisseaux sanguins et les nerfs, et le compartiment épithélial qui s'articule autour d'un réseau de canaux galactophores et de lobules renfermant les alvéoles. Ces deux compartiments sont séparés par une membrane basale de collagène de type IV, de laminine et de glycosaminoglycanes mais une coopération permanente existe entre eux au cours du développement de la glande mammaire. Les vaisseaux sanguins et lymphatiques circulent dans les tissus conjonctifs et adipeux. Le drainage par les vaisseaux lymphatiques s'effectue vers la chaîne mammaire interne, les ganglions axillaires et sus-claviculaires.

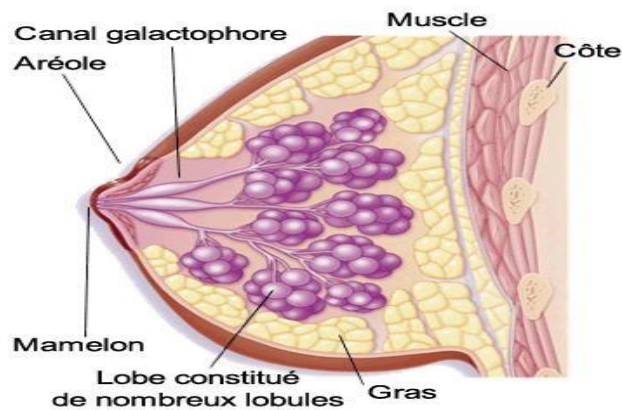


Figure 12 : Représentation schématique d'un sein en coupe (McNally, 2011)

I-3-5) Processus de cancérogénèse des cellules mammaires

Comme décrit précédemment, la glande mammaire est un organe en évolution permanente sous l'influence d'hormones et de facteurs de croissance. Ceci en fait un organe à part du point de vue du nombre de cellules en croissance et en différenciation, et donc le rend plus susceptible aux transformations cancéreuses. Un cancer est cliniquement décelable lorsqu'il est constitué de 10^9 cellules. Toutes les cellules cancéreuses (cellule-filles) sont issues d'une seule cellule devenue cancéreuse ou transformée (cellule-mère), c'est-à-dire qui a échappé aux mécanismes de contrôle de la division cellulaire et par conséquent, se multiplie de façon anarchique par expansion clonale (Weinberg, 1996). Le processus de cancérogénèse est long et comporte quatre phases : l'initiation, la promotion, la progression et l'invasion.

I-3-5-1) L'initiation

C'est la première phase de la cancérogénèse, elle ne concerne qu'une seule cellule, ainsi "initiée" sur la voie de la cancérisation. Cette phase correspond à l'introduction dans l'ADN d'une ou plusieurs lésions, transmissibles au génome des cellules filles. Ces modifications sont dues, soit à une erreur au cours de la multiplication de la cellule, soit à d'autres facteurs qui lui sont toxiques, ils sont dits génotoxiques et peuvent être d'origine chimique, physique ou biologique. Il existe des systèmes capables d'effectuer des réparations de l'ADN qui sont fidèles dans la majorité des cas ; cependant ils peuvent se révéler infidèles ou fautifs, et dans ce cas réparer des lésions en insérant d'autres erreurs. L'accumulation des anomalies génétiques aboutit alors à des mutations de gènes importants dans le maintien de l'intégrité et des caractéristiques de chaque type cellulaire.

Les proto-oncogènes codent pour des protéines de régulation des signaux de transduction, des facteurs de croissance, des protéines kinases et stimulent la croissance cellulaire. Les proto-oncogènes mutés (*ras* et *fos*) deviennent parfois des oncogènes actifs. La

mutation peut entraîner un gain de fonction, il y a alors stimulation de la prolifération et/ou dérégulation de la différenciation cellulaire (**Weinberg, 1996**). Certains oncogènes déclenchent une surproduction de facteurs de croissance comme le TGF- α (Transforming Growth Factor- α) qui peut provoquer la prolifération des cellules qui les ont produits. D'autres oncogènes perturbent la cascade des signaux cytoplasmiques, par exemple, le gène *Ras* muté code pour des protéines constitutivement actives, ou les oncogènes *myc* perturbent l'activité des facteurs de transcription (**Harris, 1991**).

Quant aux gènes suppresseurs de tumeur, ils font l'objet d'événements génétiques qui entraînent une perte de fonction. Ces gènes codent pour des protéines régulant négativement la prolifération cellulaire. Par exemple, le gène p53, dont le rôle est d'arrêter le cycle cellulaire afin d'effectuer les réparations de l'ADN, code pour une protéine dont les mutations sont fréquentes dans les cancers humains et favorisent la croissance cellulaire tumorale (**McNally, 2014**). Par ailleurs, certaines cellules cancéreuses deviennent insensibles au facteur TGF- β qui bloque habituellement la croissance codant pour un des récepteurs de ce facteur (**Gasco et Crook, 2002**). Les cellules initiées peuvent alors rester dans cet état quiescent durant plusieurs années ou peuvent passer à l'état de prolifération cellulaire sous l'effet d'un agent promoteur.

1-3-5-2) La promotion

Elle est appelée "transformation cellulaire", cette phase recouvre la réception par la cellule initiée de facteurs de prolifération qui vont entraîner les divisions. Ces signaux vont donc pérenniser les anomalies au cours des divisions et ainsi assurer la descendance de la cellule anormale par prolifération clonale, qui va de surcroît accumuler de nouvelles anomalies génétiques. A un stade précoce, ce phénomène peut être réversible. Les promoteurs tumoraux ont un rôle spécifique au niveau d'un tissu donné. Par exemple, les œstrogènes jouent un rôle de promoteur au niveau du sein, mais pas au niveau du côlon (**Maronpot, 1991**). Les mécanismes de la promotion tumorale sont de nature épigénétiques et participent à la régulation de la prolifération et de la différenciation cellulaire. La surexpression des oncogènes et/ou la répression des gènes suppresseurs de tumeur provoquent une stimulation de la croissance des cellules initiées. La perturbation des systèmes de signalisation cellulaire (facteurs de croissance, hormones, récepteurs, protéines cytoplasmiques) joue un rôle prépondérant dans la phase de promotion, de même que l'inhibition de la communication intercellulaire. Le résultat de l'altération de l'expression de ces gènes consiste généralement en

une cellule qui continue de se diviser indépendamment des signaux physiologiques qui contrôlent la croissance normale (**Rifkind et al., 1996**).

I-3-5-3) La progression

La progression correspond à la période au cours de laquelle les phénomènes amorcés vont évoluer vers un état d'irréversibilité. A ce stade, il y a émergence et croissance d'une tumeur maligne. Cette phase correspond à l'acquisition de l'indépendance de la croissance tumorale et de l'expression phénotypique de la malignité. La cellule a totalement échappé aux mécanismes de régulation gérés par l'organisme, des événements génétiques comme les translocations, les recombinaisons, les remaniements génétiques et un nombre important de mitoses instaurent une grande instabilité génomique qui s'accroît avec le temps et aboutit à une sélection de clones de plus en plus diversifiés (**Solomon et al., 1991**).

1-3-5-4) L'invasion

Elle se traduit par une infiltration de cellules tumorales dans les tissus avoisinants. Pour cela, les cellules tumorales doivent d'abord détruire l'adhésion existante entre les cellules puis, entre les cellules et la matrice extracellulaire. La famille des cadhérines a été documentée pour son rôle important dans l'adhésion cellulaire et il est désormais démontré qu'elle joue un rôle prédominant dans l'établissement de métastases de cancer du sein (**Li et Feng, 2011**). L'écadhérine, qui maintient les jonctions intercellulaires, est inhibée lors de l'invasion tumorale du cancer du sein (**Wendt et al., 2011**) ; ce qui entraîne la perte d'adhésion entre les cellules tumorales épithéliales et les cellules épithéliales environnantes. En revanche, la N-cadhérine, qui est étroitement associée à la transition de cellules épithéliales en cellules mésenchymateuses, est surexprimée dans les cellules tumorales (**Mego et al., 2010**) et permet ainsi l'adhésion des cellules tumorales aux cellules du stroma et donc petit à petit de l'invasion des cellules tumorales dans le stroma. L'adhérence des cellules tumorales à la matrice extracellulaire se fait ensuite grâce aux intégrines (**Mego et al., 2010**) qui sont des récepteurs membranaires trouvés à la surface des différents composants de la matrice (Figure 13), tels que les fibronectines, laminines, collagènes (**Li et Feng, 2011**). L'invasion se poursuit par la dégradation de cette matrice réalisée principalement par les métalloprotéinases (MMPs) et le système uPA (*urokinase plasminogen activator*) qui est une sérine-protéase (**Danø et al., 2005**).

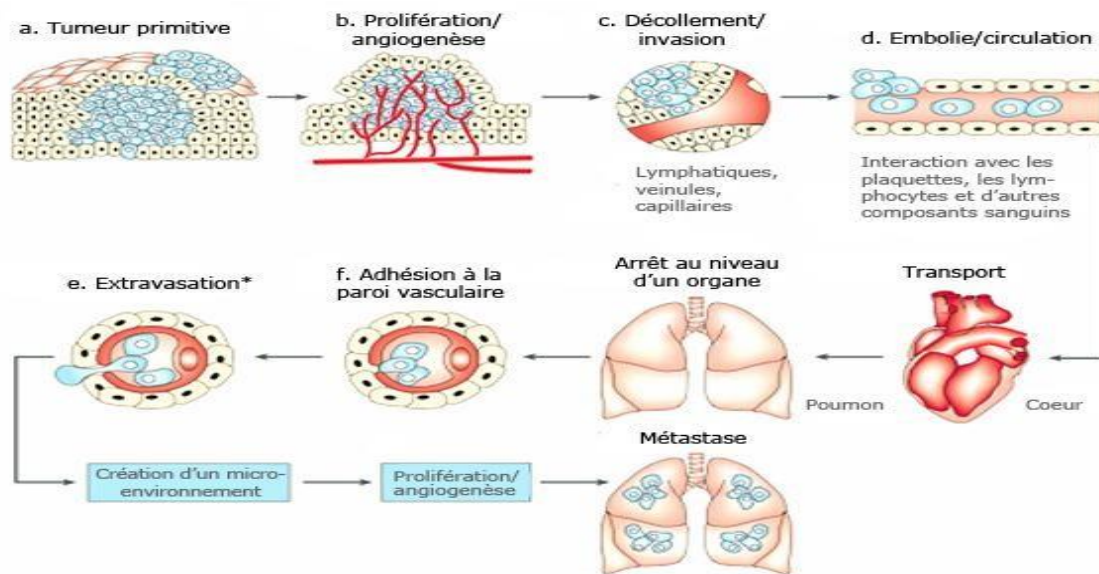


Figure 13 : Principales étapes de la formation d'une métastase (**Fidler *et al.*, 2003**)

1-3-6) Métastases du cancer du sein

Le microenvironnement des cellules tumorales métastatiques est critique pour leur prolifération. De nombreuses cellules spécialisées différentes, incluant les fibroblastes, les cellules immunitaires, les cellules endothéliales et les cellules murales des vaisseaux sanguins et lymphatiques, avec la matrice extracellulaire doivent former un microenvironnement approprié, nécessaire à la croissance tumorale ainsi qu'à la progression métastatique. Les cellules malignes sont en interaction constante avec ces cellules et semblent pouvoir influencer l'établissement de cet environnement favorable. Ainsi l'on retrouve des sites préférentiels de métastases du cancer du sein (Figure 14). La dissémination métastatique du cancer du sein se fait principalement à travers les néovaisseaux lymphatiques ; dans ce cas les chaînes ganglionnaires sont rapidement envahies avec des localisations au niveau des ganglions axillaires, mammaires internes, sus-claviculaires et ceux de la région du cou, et un envahissement régional peut aboutir à l'atteinte de la paroi thoracique. La dissémination métastatique se fait également via le nouveau réseau de vaisseaux sanguins et provoque généralement l'apparition des foyers secondaires au niveau des os, des poumons, du foie, du sein controlatéral, ou encore du cerveau.

Le "homing" des cellules tumorales dans certains tissus cibles implique en partie les chimiokines (**Borsig *et al.*, 2014**). Par exemple, les tissus tumoraux du sein expriment fortement le récepteur à chimiokine 4 (CXCR4), tandis que son ligand CXCL12 est majoritairement exprimé dans les ganglions lymphatiques, les poumons, le foie et la moëlle

osseuse, il est faiblement exprimé dans le petit intestin, les reins, le cerveau, la peau et les muscles (Borsig *et al.*, 2014).

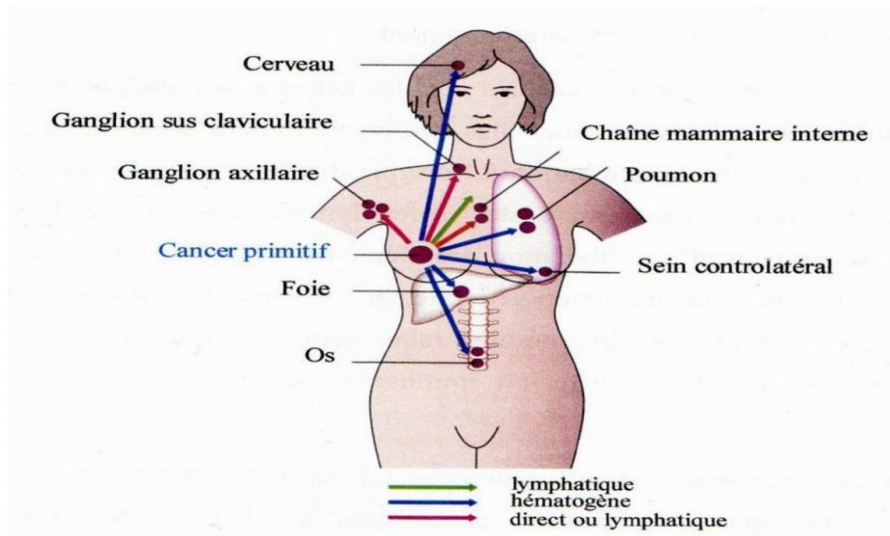


Figure 14 : Principaux sites métastatiques du cancer du sein (Borsig *et al.*, 2014)

I-3-7) Diagnostic du cancer du sein

Le diagnostic du cancer du sein est établi à partir d'un examen clinique, de clichés mammographiques et échographiques et enfin d'un examen cyto-anatomopathologique.

I-3-7-1) L'examen clinique

L'examen clinique reste l'étape première de toute exploration de la glande mammaire. Il permet de localiser les lésions et de diriger les prélèvements histologiques si besoin (Uehiro *et al.*, 2013). La classification TNM est la classification clinique des cancers du sein de l'UICC (Union Internationale Contre le Cancer). Elle a pour but de stadifier les carcinomes selon leur extension clinique et histopathologique, ce qui contribue à déterminer le traitement et à évaluer le pronostic de la maladie tumorale. Cette classification permet de différencier d'une part, les stades précoces (stades I et II) des stades avancés (stades III et IV) et d'autre part, les cancers du sein opérables (stades I, II et IIIA) des cancers du sein inopérables (IIIB, IIIC et IV).

Les cancers du sein opérables : les critères de non-opérabilité des cancers du sein ne sont pas des critères techniques rendant impossibles l'exérèse chirurgicale mais des critères évolutifs qui rendent le geste thérapeutique local provisoirement secondaire devant la gravité du risque général. Ils sont présents dans les tumeurs dont le pronostic à court terme est le plus péjoratif. Ainsi les cancers du sein opérables correspondent aux cancers présentant un stade

clinique ne dépassant pas le stade IIIA et excluent donc les cancers du sein localement avancés et/ou inflammatoires, décrits ci-dessous.

Les cancers du sein localement avancés (LABC) regroupent des cancers du sein opérables d'une taille supérieure à 5 cm avec soit extension de la tumeur à la paroi thoracique ou envahissant directement la peau (causant ulcération, œdème en peau d'orange ou nodules satellites), soit des ganglions axillaires fixés, soit envahissement des ganglions de la chaîne mammaire interne ipsilatérale ou des ganglions sus-claviculaires.

Les cancers du sein inflammatoires (IC) sont définis par la survenue concomitante d'une tumeur mammaire et de signes inflammatoires locaux, ce qui n'est pas le cas des cancers du sein localement avancés, négligés, secondairement inflammatoires. Comme pour un cancer localement avancé, le sein est lourd, tendu, douloureux, chaud, érythémateux. La palpation, gênée par l'œdème cutané, n'individualise pas toujours une tumeur (**Uehiro et al., 2013**).

I-3-7-2) Les examens mammographiques et échographiques

Dans la pratique courante, la mammographie et l'échographie complètent l'examen clinique du sein. La mammographie, par son excellente sensibilité (plus de 80 %) est toujours l'examen de référence pour le diagnostic et la surveillance du cancer du sein. Il faut cependant souligner que 11 à 25 % des cancers ne sont pas perçus lors du dépistage mammographique, soit parce qu'ils ne sont pas détectés (mammographie de mauvaise qualité, lésion de petite taille, faible densité par rapport à la glande environnante, inexpérience du radiologue), soit parce qu'ils sont incorrectement classés comme bénins (séméiologie d'une opacité apparemment bénigne, calcifications non spécifiques, asymétrie de densité mammaire). A ce moment-là, une échographie s'avère indispensable pour préciser le diagnostic (**Zonderland et al., 1996**).

I-3-7-3) L'examen d'anatomopathologie

L'examen anatomopathologique permet d'établir le diagnostic de malignité à partir d'une biopsie ou d'une pièce opératoire. L'examen microscopique, sur biopsie ou pièce opératoire, permet de donner un type histologique et d'identifier plusieurs facteurs pronostiques (comme la différenciation et l'activité mitotique) et prédictifs (comme la recherche des récepteurs hormonaux) de la tumeur. L'examen macroscopique, sur pièce opératoire, permet de mesurer la taille tumorale, d'étudier les berges d'exérèse et donne une orientation diagnostique en fonction de l'aspect de la lésion (**Tavassoli, 2008**).

La classification histologique est la classification des tumeurs en fonction de leur nature anatomo-pathologique ; elle est à ce jour utilisée par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). Le cancer du sein se développe à partir d'un constituant histologique du sein, la plupart des lésions mammaires (98 %) sont issues du revêtement des canaux galactophores ou des lobules, ce sont les carcinomes. Selon leur localisation, ils sont qualifiés de canaux (85 à 90 % des cas) ou lobulaires (10 à 15 %) (Figure 15).

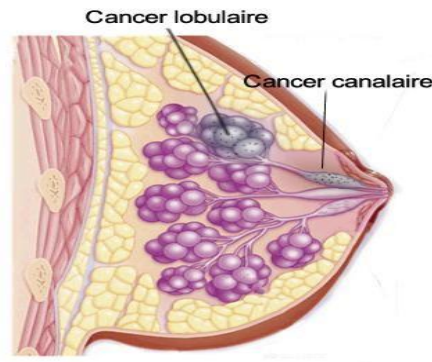


Figure 15 : Possibles localisations de cancer du sein (Tavassoli, 2008)

I-3-8) Les facteurs prédictifs et pronostiques des cancers du sein

Le cancer du sein est une maladie hétérogène, qui varie aussi bien par ses caractéristiques cliniques et morphologiques que par le profil biologique de chaque tumeur. La diversité des tumeurs induit des différences de réponse thérapeutique et de survie à stade égal. Dans le but de pouvoir attribuer de façon optimale un traitement à un patient donné, il a alors été nécessaire de définir deux types de facteurs ; l'un permettant de prédire une réponse ou une résistance à un traitement donné : les facteurs prédictifs ; et l'autre permettant de prédire l'évolution clinique de la maladie, c'est-à-dire le risque de récurrence, d'apparition de métastases ou de mortalité, en l'absence de tout traitement adjuvant : les facteurs pronostiques.

I-3-8-1) Les facteurs cliniques : L'âge et le statut ménopausique (valeur prédictive et pronostique)

Plusieurs études ont démontré que les patientes âgées de moins de 40 ans au moment du diagnostic ont une moins bonne survie et un taux de rechutes locorégionales plus important (Fredholm *et al.*, 2009). Ces études ont aussi mis en évidence que le jeune âge est souvent associé à des paramètres de mauvais pronostic comme une taille plus importante, un stade et un grade histologique SBR (Scarff-Bloom et Richardson) élevés et des récepteurs hormonaux négatifs, ainsi qu'une proportion de tumeurs HER2-positives plus élevée (Keegan *et al.*, 2012).

Si l'état ménopausique n'a aucune influence pronostique, il existe un consensus sur son pouvoir de sélection thérapeutique. Dès le début des tentatives de traitement adjuvant, la chimiothérapie est apparue plus efficace pour les femmes ayant moins de 60 ans tandis que l'hormonothérapie bénéficie principalement aux femmes ménopausées (**Dowsett *et al.*, 2010**).

I-3-8-2) Les facteurs cliniques : La taille et le stade cliniques (valeur pronostique)

La taille de la tumeur se place en première ou en deuxième position dans toutes les analyses multifactorielles (**Hawkins *et al.*, 2002**).

I-3-9) Les facteurs histopathologiques et génétiques

I-3-9-1) L'envahissement ganglionnaire (valeur pronostique)

C'est le facteur pronostique le mieux connu et le plus important en cancérologie mammaire. On l'évalue à partir de l'analyse histologique des ganglions prélevés dans le curage de la région axillaire. La mesure histologique de la tumeur est beaucoup plus précise que la mesure clinique (**Fitzgibbons *et al.*, 2000**).

I-3-9-2) L'oncogène HER2

Dans le cancer du sein, le gène codant la protéine HER2 est amplifié chez 20 à 30 % des patientes. L'activation de l'oncogène HER2 provient de la surexpression de la protéine qui peut provenir elle-même d'une amplification génique, c'est-à-dire d'une multiplication du nombre de copies du gène HER2, dont la conséquence est la stimulation de sa transcription. Il arrive aussi que HER2 soit surexprimé à la suite de modifications de l'activité transcriptionnelle et/ou post-transcriptionnelle, sans amplification génique. Au plan cellulaire, ce dérèglement de HER2 induit une augmentation de la croissance cellulaire et du potentiel métastatique. Cet état de surexpression d'HER2 est de mauvais pronostic pour la patiente. Ces tumeurs grandissent plus rapidement, sont plus agressives et beaucoup moins sensibles à la chimiothérapie ou à l'hormonothérapie. Le cancer HER2⁺ tend à être plus agressif que tous les autres types de cancer du sein.

I-3-10) Les techniques de traitements du cancer du sein

I-3-10-1) L'immunothérapie

Les anticorps monoclonaux sont utilisés en routine en cancérologie. En combinaison avec la chimiothérapie, il a été prouvé que les anticorps monoclonaux augmentent les survies globales et sans rechute des cancers du sein métastatique et plus récemment en traitement adjuvant des patientes avec un cancer du sein HER2-positif. Le trastuzumab (Herceptin®,

Roche-Genentech) est l'un des premiers traitements par anticorps monoclonaux utilisé pour le traitement du cancer du sein. Le pertuzumab (Omnitarg®, Roche-Genentech) est un anticorps monoclonal se fixant sur un épitope différent de HER2 par rapport au trastuzumab. Le lapatinib (Tykerb®, GlaxoSmithKline) est un inhibiteur de la tyrosine kinase se fixant sur l'*epidermal growth factor* (EGFR) et HER2 (Seidman *et al.*, 2008). Mais il est aujourd'hui admis que cette immunothérapie repose également sur l'activation des mécanismes effecteurs de l'immunité, comme l'ADCC, la phagocytose via les cellules immunitaires liant l'anticorps par son fragment Fc, ou via l'activation de la voie classique du complément (Abès *et al.*, 2009), aboutissant à la formation d'un complexe d'attaque membranaire responsable de la mort des cellules tumorales (Figure 16).

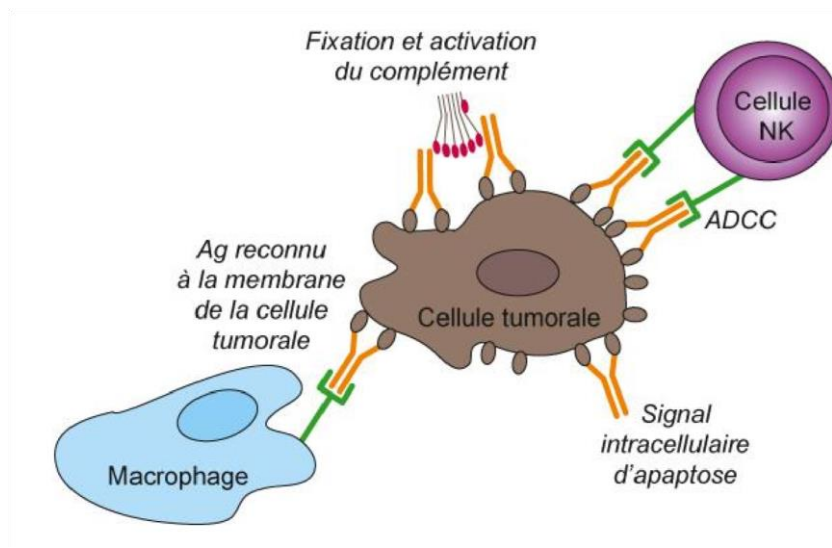


Figure 16 : Mode d'action des anticorps (Abès *et al.*, 2009)

I-3-10-2) L'hormonothérapie

Le bénéfice d'un traitement hormonal dans le cancer du sein hormonosensible est de nos jours parfaitement admis. Le tamoxifène, modulateur sélectif des récepteurs des oestrogènes, est le traitement de référence des femmes non ménopausées et présentant une tumeur hormono-positif en situation adjuvante ; il a largement contribué à la validation des traitements endocrines.

Les inhibiteurs de l'aromatase de troisième génération : létrozole, anastrozole et exemestane, sont des agents hormonaux plus récemment développés, et qui offrent ainsi aux cliniciens l'opportunité de disposer d'un arsenal thérapeutique plus efficace et mieux toléré. Chez les femmes ménopausées, les inhibiteurs de l'aromatase ont démontré leur supériorité sur le tamoxifène en terme de survie globale et sans rechute (Coates *et al.*, 2007).

I-3-10-3) La chirurgie et la radiothérapie

Elle reste l'acte principal et est plus ou moins large. Dans un grand nombre de cas, l'ablation totale ou partielle du sein (mastectomie, mammectomie, tumorectomie, quadrantectomie) peut être évitée. On enlève alors largement la tumeur en gardant le reste de la glande mammaire ; on parle alors de chirurgie conservatrice. La nécessité de la mastectomie n'est pas forcément en relation avec la gravité de la maladie mais le plus souvent avec la localisation du cancer, son type histologique ou son étendue dans les différents canaux galactophores.

La radiothérapie est faite généralement après la chirurgie pour détruire d'éventuelles cellules tumorales résiduelles et pour diminuer le risque de récurrence locale. C'est un traitement locorégional, c'est-à-dire que l'on traite la zone où est (ou était) situé le cancer. Il nécessite plusieurs séances (classiquement 5 jours sur 7 pendant 6 à 7 semaines). Des rayons à haute énergie sont utilisés pour détruire les cellules tumorales et les empêcher de se multiplier. On distingue trois types de radiothérapie : La radiothérapie externe par un accélérateur linéaire générateur de rayons pour détruire les cellules à travers la peau. La curiethérapie utilisant des sources radioactives placées dans la tumeur et à son voisinage pour des tumeurs accessibles et de petit volume et la radiothérapie peropératoire ; cette technique encore en cours d'évaluation, consiste à pratiquer une irradiation tumorale unique pendant l'intervention chirurgicale, évitant ainsi les nombreuses séances de radiothérapie après la chirurgie.

I-3-11) La chimiothérapie anticancéreuse

I-3-11-1) Chimiothérapie à base des molécules de synthèses

La chimiothérapie est la technique de traitement contre le cancer du sein la plus adaptée lorsque celui-ci est localisé dans toutes les parties de l'organisme.

-Les anthracyclines

Les anthracyclines s'intercalent dans l'ADN et se fixent sur la chromatine nucléaire, ils interfèrent aussi avec l'action de la topo-isomérase II, enzyme réparatrice de l'ADN, et produisent le clivage du brin d'ADN. L'épirubicine est désormais l'anthracycline la plus utilisée dans le traitement des cancers du sein. Le traitement anticancéreux à base d'anthracyclines est une polychimiothérapie combinée de fluorouracile, doxorubicine et cyclophosphamide (FAC) ou de fluorouracile, épirubicine et cyclophosphamide (FEC). La

chimiothérapie par anthracyclines est ainsi désormais incontournable dans les situations adjuvante, néoadjuvante et métastatique (**Bensouda et al., 2011**).

-Le taxane

Le principal mécanisme d'action des taxanes est l'inhibition de la fonction des microtubules. Ces derniers étant essentiels pour la division cellulaire, les taxanes bloquent la division normale des cellules. Les taxanes jouent donc le rôle de poison du fuseau et sont également supposés être radiosensibilisants. Les taxanes comprennent plus de 300 composés dont le paclitaxel (Taxol) et le docétaxel (Taxotère).

I-3-11-2) La chimiothérapie à base de molécules naturelles

La majorité des anticancéreux utilisés en chimiothérapie sont des molécules naturelles ou dérivent d'une source naturelle, ceci justifie de nombreuses études qui sont menées sur les plantes médicinales utilisées pour traiter diverses maladies. En effet les plantes médicinales sont des sources inépuisables de médicaments pour la médecine moderne (**Newman et Cragg, 2007**). Plusieurs plantes camerounaises utilisées en médecine traditionnelle pour soigner différentes pathologies, ont fait l'objet de plusieurs études démontrant leur cytotoxicité sur les lignées cellulaires cancéreuses.

Crinum zeylanicum Linn de la famille des Amaryllidaceae, est utilisée au Cameroun pour traiter le rhumatisme, le mal d'oreille, le paludisme et utilisée comme un contre poison. Les potentiels composants bioactifs de cette plante sont : le Flexinine, 6-hydroxypowelline, le zeylamine, le 11-O-acetoxymbelline, galantamine, le 3-acetylhamayne, crinamine, le sanguinine et le 3-O-acetylsanguinine (**Berkov et al., 2011**). Les extraits bruts de *Crinum zeylanicum* Linn ont présenté une activité modérée sur les lignées cellulaires CEM/ADR5000 (IC₅₀ de 23,67µg/mL) et une activité cytotoxique significative sur les lignées cellulaires de types CCRF-CE (IC₅₀ 17,22 µg/mL), MDA-MB-231 (IC₅₀ 18,01µg/mL) (**Kuete et al., 2013**).

Vepris soyauxii Engl espèce de la famille des Rutaceae, utilisée au Cameroun comme Antifibromyome et pour le traitement des maux d'estomac et du paludisme (**Momeni et al., 2010**) et le cancer (**Kuete et al., 2013**). Les alcaloïdes, anthocyanes, phénols, saponines, tanins et triterpènes sont les principales biomolécules actives qu'on retrouve dans cette plante (**Kuete et al., 2013**). Les extraits bruts des feuilles de *Vepris soyauxii* Engl ont présenté une activité modérée sur les lignées cellulaires de types MDA-MB-231/BCRP (IC₅₀ 29,60 µg/mL). Les extraits aqueux des racines ont présenté une activité cytotoxique significative sur les lignées cellulaires de types MDA-MB-231 (IC₅₀ 16,11µg/mL) (**Kuete et al., 2013**).

Xylopiya aethiopyca (Dunal) A. Rich, une espèce de la famille des Annonaceae est utilisée au Cameroun pour traiter différentes pathologies telles que les plaies et infections cutanées, fièvre, ténia, maux d'estomac, dysenterie, ulcère d'estomac (**Irvine, 1961 ; Thomas, 1965**). L'huile essentielle de cette plante constitue la principale biomolécule active. Les extraits bruts de *Xylopiya aethiopyca* (Dunal) ont démontré une activité cytotoxique significative contre les lignées cellulaires de type MDA-MB-231/BCRP (IC₅₀ 10,04µg/mL), (**Konan et al, 2009**).

Aframomum arundinaceum est une espèce de la famille des Rutaceae utilisée en médecine traditionnelle camerounaise pour soigner les infections fongiques, le mal de dents, elle est aussi utilisée comme un laxatif et comme un antihelminthique. Aframodial, 12-labdadien-15,16-dial, galanolactone, 1-p-menthène-3,6-diol et 1,4-diméthoxybenzène, galanals A et B, naringine et kaempférol-3,7,4-triméthyléther sont les principales molécules bioactives de cette plante (**Kuete et al., 2014**). Les extraits bruts d'*Aframomum melegueta* (Roscoe) K. Schum ont présenté une cytotoxicité significative sur les lignées cellulaires de type MDA-MB-231 (IC₅₀ 29,98 µg/mL), MDA-MB-231/BCRP (IC₅₀ 30,66 µg/mL), **Kuete et al. (2014)**.

Aframomum melegueta (Roscoe) K. Schum de la famille des Rutaceae est utilisée en médecine traditionnelle camerounaise pour soigner la constipation, la fièvre. Son huile essentielle a démontré une activité cytotoxique significative sur les lignées cellulaires MiaPaca-2 et CCRF-CEM et une activité significative de l'extrait brut sur des cellules CEM/ADR5000 (IC₅₀ 7,08 µg/mL), **Oloke et al. (1998)**.

Les plantes utilisées en médecine traditionnelle pour soigner les maladies ayant les mêmes causes ou les mêmes symptômes que le cancer sont choisies pour la recherche des candidats cytotoxiques et plusieurs méthodes sont disponibles pour évaluer leur effet cytotoxique. Les plantes médicinales ; comme tous autres produits naturels utilisés pour le traitement de diverses maladies contiennent des agents toxiques parfois à des faibles ou fortes concentrations ; l'exposition des cellules à ces agents toxiques peut créer à long terme des mutations génétiques d'où l'intérêt d'évaluer leur effet génotoxique.

I-4) Les méthodes d'évaluation de la cytotoxicité et la génotoxicité

I-4-1) Méthodes d'évaluation de la cytotoxicité

Les tests de cytotoxicité permettent d'identifier et de hiérarchiser les extraits de plantes utiles pour une évaluation biologique plus poussée. La durée d'exposition est variable en fonction de ce qu'on l'on souhaite mesurer : un contact bref met en évidence l'effet

nécrotique immédiat et un effet long (plusieurs jours met en évidence une inhibition de la prolifération). La cytotoxicité peut être mesurée soit en comptant le nombre de cellules dans une population soit en évaluant l'activité métabolique cellulaire (**Fotakis et Timbrell, 2006**). Les tests les plus couramment utilisés pour mesurer la cytotoxicité ou la viabilité cellulaire après une exposition à des substances sont les tests de lactate déshydrogénase (LDH), de quantification des protéines, de rouge neutre et de réduction mitochondriale (MTT) (**Mosmann, 1983 ; Fotakis et Timbrell, 2006 ; Kuete et al., 2017**).

Le test de LDH mesure l'activité du lactate déshydrogénase dans le milieu extracellulaire. Ce test a été utilisé comme indicateur de cytotoxicité sur les cellules HepG2 après leur exposition au chlorure de cadmium et sur les cellules tubulaires rénales proximales du rat. Les avantages de ce test sont la fiabilité et la rapidité (**Fotakis et Timbrell, 2006**).

Le dosage du rouge neutre est utilisé pour fournir une mesure quantitative des cellules viables en culture. Cet essai repose sur la capacité des cellules vivantes à assimiler le rouge neutre et à l'incorporer dans les lysosomes. C'est l'un des tests de cytotoxicité les plus utilisés avec de nombreuses applications biomédicales et environnementales (**Fotakis et Timbrell, 2006**).

Le dosage des protéines permet de mesurer indirectement la cytotoxicité en mesurant la teneur en protéines dans les cellules viables suite à l'exposition de la culture cellulaire à des substances à tester (composé ou extrait brut) (**Fotakis et Timbrell, 2006**).

Le test MTT est un test colorimétrique rapide conçu pour mesurer uniquement les cellules vivantes (**Mosmann, 1983**). Le test repose sur la capacité des enzymes de succinate déshydrogénase mitochondriale de cellules métaboliquement actives à réduire le [3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényltétrazolium] ou le MTT en un formazan pourpre insoluble dans l'eau. De nombreux sels sont utilisés pour détecter la viabilité des cellules. Cependant, le MTT est le plus couramment utilisé. Ce test est largement utilisé et est populaire pour l'évaluation de la cytotoxicité d'extraits ou de composés de plantes (**McGaw et al., 2007 ; Mukandiwa et al., 2012 ; Makhafola et al., 2014**).

I-4-2) Méthodes d'évaluation de la génotoxicité

La mutagenèse est définie comme un processus par lequel la quantité ou la structure du matériel génétique d'un organisme ou d'une cellule est modifiée de manière stable et héréditaire, soit de manière naturelle par l'utilisation de produits chimiques ou de radiations (**Mortelmans et Zeiger, 2000 ; Abdelmigid, 2013**). Le génome peut être endommagé spontanément ou par exposition à des agents génotoxiques. Les mutagènes sont des produits

chimiques responsables de l'induction de mutations. Ces modifications peuvent inclure un seul gène, des blocs de gènes ou des chromosomes entiers.

L'évaluation de la génotoxicité peut être définie comme des tests *in vitro* ou *in vivo* effectués pour identifier des cancérogènes génotoxiques potentiels et des mutagènes de cellules germinales (**Kim et al., 2013**). Les essais de génotoxicité ont pour objectif principal d'exclure ou d'identifier les risques potentiels de mutagènes chez l'homme. Étant donné que l'utilisation de plantes dont les caractéristiques toxicologiques sont inconnues provoque des mutations somatiques chez l'homme, différentes techniques ont été mises au point pour étudier la génotoxicité et l'antigénotoxicité (**Verschaeve et Van, 2008**). Les tests de génotoxicité recommandés par les organismes de réglementation pour détecter les carcinogènes génotoxiques *in vitro* et *in vivo* comprennent des études sur les bactéries, les levures et les cellules de mammifères (**Jena et al., 2002**). Le test *Bacillus subtilis* Rec a été spécialement conçu pour évaluer la génotoxicité de mutagènes environnementaux et les résultats positifs indiquent généralement une liaison covalente à l'ADN ou une rupture chimique de l'ADN (**Takigami et al., 2002**). Les tests de réversion de *Salmonella typhimurium* permettent de détecter des mutations par des substitutions ou des inversions de paires de bases (**Maron et Ames, 1983**).

De nombreux tests de génotoxicité chez les levures ont été mis au point pour détecter des mutations géniques chez les eucaryotes. Comparables aux bactéries, certaines d'entre elles sont basées sur des mutations inverses dans des souches de levure génétiquement modifiées (**Geng et al., 2012**).

Les tests de génotoxicité à base de cellules de mammifères sont souvent conçus pour détecter les dommages à l'ADN, la mutation génique ou les dommages à l'ADN cellulaire (**Geng et al., 2012**). Plusieurs analyses effectuées sur les cellules de mammifères sont disponibles et incluent des lignées cellulaires de cellules V97 et CHO de hamster chinois, de cellules lymphoblastoïdes humaines TK6 et de cellules de lymphome de souris L5178Y (**Geng et al., 2012**).

Les plantes médicinales et tous autres produits naturels utilisés pour le traitement de diverses maladies contiennent des biomolécules qui peuvent être criblées comme potentiels agents cytotoxiques.

I-5) Généralités sur les espèces *Ochna schweinfurthiana* et *Anthocleista schweinfurthii*

I-5-1) Généralités sur *Ochna schweinfurthiana*

I-5-1-1) Distribution géographique

L'espèce *Ochna schweinfurthiana* F. Hoffm. se trouve en général au Cameroun, en Côte d'Ivoire, au Bénin, au Burundi, en Tanzanie, en Guinée équatoriale, au Soudan, au Ghana, au Burkina Faso, en Ouganda, au Mali, en République démocratique du Congo, en République centrafricaine, en Mozambique, au Malawi, en Zambie, au Zimbabwe, en Asie tropicale et en Amérique. On la rencontre le plus souvent dans les savanes et les sous-bois de forêts claires soudanaises et guinéennes, sur les sols rocheux ou caillouteux (**Abdullahi et al., 2010**).

Classification botanique.

- Nom de la plante : *Ochna schweinfurthiana* F. HOFFM
 - Genre: *Ochna*
 - Espèce: *schweinfurthiana*
 - Famille : Ochnaceae
 - Ordre : Théales
 - Classe : Magnoliopsida

Nom vernaculaire : *Sa 'aboulé* en langue Fulfuldé.

Synonymie : *Ochnella alba* Van Tiegh., *Ochna alba* (Van Tiegh) A. Chev.

I-5-1-2) Usage ethnopharmacologique de *Ochna schweinfurthiana*

Nom vernaculaire : *Sa 'aboulé* en langue Fulfuldé.

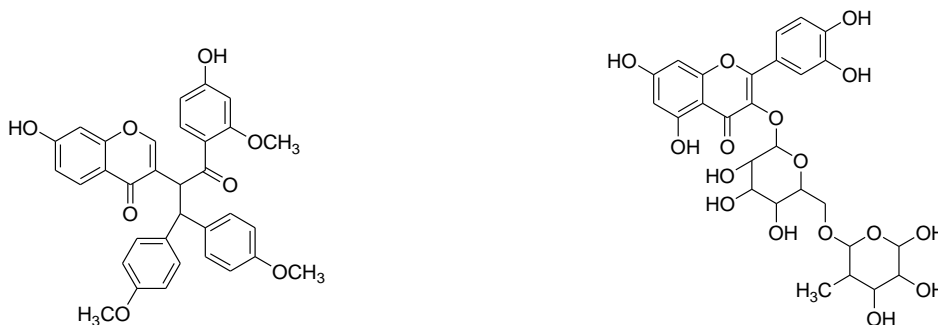
Dans la phytothérapie traditionnelle, les vertus de la plante *Ochna schweinfurthiana* sont très nombreuses :

- ✓ Les écorces de la plante peuvent subir une infusion, l'extrait obtenu est utilisé par les populations du Nord Cameroun pour le traitement du paludisme (**Abdullahi et al., 2010**).
- ✓ Les écorces et les feuilles sont utilisées par décoction pour la paralysie et les maladies nerveuses (**Abdullahi et al., 2010**).
- ✓ La poudre des écorces est utilisée pour le traitement des vers intestinaux.

- ✓ Les feuilles par infusion sont utilisées pour les maladies comme l'asthme, la dysenterie, l'épilepsie, les problèmes gastriques, les règles douloureuses, les lombalgies, les morsures de serpents (**Abdullahi et al., 2010**).
- ✓ Les racines, les écorces et les feuilles par décoction sont utilisées pour le traitement des blessures (**Abdullahi et al., 2010**).
- ✓ Les populations du Nigeria et du Nord Cameroun utilisent cette plante pour le traitement de la rougeole, de la fièvre typhoïde, des infections cutanées, du mal de dent, des maux de tête et du mal de ventre (**Abdullahi et al., 2010**).
- ✓ On prête à *Ochna schweinfurthiana* des propriétés médico-magiques permettant d'améliorer la vue et de faire marcher les jeunes enfants (**Abdullahi et al., 2010**).

I-5-1-3) Etudes phytochimiques antérieures et Activités biologiques de *O. schweinfurthiana*

Selon les investigations menées dans cette étude, peu d'études phytochimiques ont été menées sur la plante *Ochna schweinfurthiana*, toutefois les études phytochimiques réalisées sur les extraits des feuilles de *Ochna schweinfurthiana* ont permis d'isoler la quercertine 3-*O*-β-D-glucopyranosyl (1→6)-*O*-α-D-rhamnoside (**Abdullahi et al., 2011**). Par la suite, ces mêmes auteurs en 2014 ont mené une étude phytochimique sur l'extrait méthanolique des racines de *O. schweinfurthiana* et ont isolé la 4',4'',4'''-triméthoxylophirone A.



4',4'',4'''-triméthoxylophirone A 3-*O*-β-D-glucopyranosyl (1→6)-*O*-α-D-rhamnoside
 Abdoullahi et collaborateurs en 2010 ont évalué l'activité antimicrobienne des extraits à l'acétone et au méthanol des feuilles de *O. schweinfurthiana* (**Abdoullahi et al., 2010**).

Ensuite, ces mêmes auteurs ont mené une étude phytochimique sur les feuilles de *Ochna schweinfurthiana* et ont démontré que la quercertin 3-*O*-β-D-glucopyranosyl (1→6)-*O*-α-D-rhamnoside possède une bonne activité antimicrobienne sur les *staphylocoques*; les *pneumonias klebsiels*, *Escherichia coli*, et les *salmonelles thyphis*, (**Abdoullahi et al., 2011**). En 2014, Abdoullahi et collaborateurs ont mené une étude phytochimique sur les

racines de *Ochna schweinfurthiana* et ont révélé que le biflavonoïde isolé de l'extrait au méthanol des racines de *Ochna*, a présenté une bonne activité antimicrobienne sur les mêmes souches : *staphylocoque*, *streptocoque*, *pseudomoniasse klebsielles* et *salmonelle typhis* (Abdoullahi *et al.*, 2014).

Une étude phytochimique des extraits à l'acétate d'éthyle et au méthanol des écorces de cette plante a démontré la cytotoxicité de celle-ci contre les lignées cellulaires HeLa et a permis d'isoler et d'identifier l'amenthoflavone et l'agathisflavone (Ndongo *et al.*, 2015). Des travaux plus récents effectués sur cette plante ont permis d'isoler des racines, des biflavonoïdes qui ont des activités antiplasmodiale et antioxydante (Messi *et al.*, 2016). De même, Ibrahim *et al.* (2015) ont évalué l'activité antiplasmodiale des feuilles de *Ochna schweinfurthiana* et ont révélé que l'extrait au méthanol des feuilles de cette plante possède une bonne activité antimalariale.

I-5-2) Généralités sur *Anthocleista schweinfurthii*

I-5-2-1) Distribution géographique

A. schweinfurthii est répandue en Afrique tropicale, y compris les Comores et Madagascar. *A. schweinfurthii* est présent du Nigeria jusqu'en Ethiopie, et vers le sud jusqu'en Tanzanie, en Zambie et en Angola. Cette espèce est généralement présente dans les forêts secondaires parfois en savane ou en forêt pluviale, généralement pas dans les endroits humides à 400-1800 m d'altitude (Ruijter, 2007).

- ✓ Classification botanique
- Nom de la plante : *Anthocleista schweinfurthii*
 - Genre: *Anthocleista*
 - Espèce: *schweinfurthii*
 - Famille : Loganiaceae
 - Ordre : Gentianales
 - Classe : Magnoliopsida

Nom vernaculaire : “*Bopolopolo*” en langue Douala, “*Betbreu*” en langue Medumba (Adongo *et al.*, 2012).

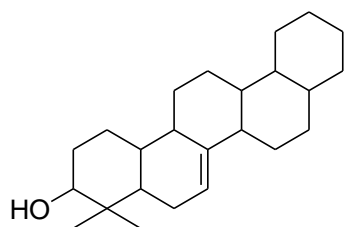
I-5-2-2) Usage ethopharmacologique d'*Anthocleista schweinfurthii*

A. schweinfurthii est une plante de la famille des Loganiaceae, elle constitue une source de recette traditionnelle pour le traitement des problèmes de fertilité masculine et féminine et pour le traitement des infections microbiennes au Togo, au Nigeria, au Cameroun,

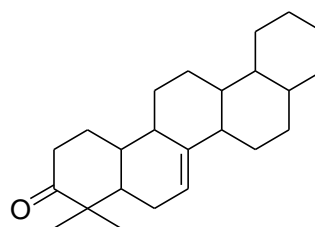
au Gabon et en Guinée équatoriale (**Ruijter, 2007 ; Christophe et al., 2015**). En Tanzanie, la décoction des écorces de racines et des feuilles d'*A. schweinfurthii* est utilisée pour le traitement du paludisme, pour le traitement de la douleur, blessure et pour le traitement des maladies inflammatoires (**Burkill, 1995 ; Christophe et al., 2015**). Au Congo, la décoction des écorces de *A. schweinfurthii* est utilisée pour traiter la hernie (**Schmelzer, 2008**). Au Cameroun, *A. schweinfurthii* communément appelé “*Bopolopolo*” en langue Douala et “*Betbreu*” en langue Medumba, est utilisée pour ses vertus galactogènes, pour le traitement des problèmes ovariens. La décoction des écorces d'*A. schweinfurthii* est utilisée pour le traitement des infections sexuellement transmissibles, pour le traitement des désordres gastro-intestinaux, des ulcères gastriques, des douleurs abdominales (**Adongo et al. 2012 ; Christophe et al., 2015**). Au Nigeria, *Anthocleista djalonensis* est utilisé en médecine traditionnelle pour soigner le cancer du sein (**Gbadamosi et al., 2016**).

I-5-2-3) Etudes phytochimiques antérieures et activités biologiques d'*A. schweinfurthii*

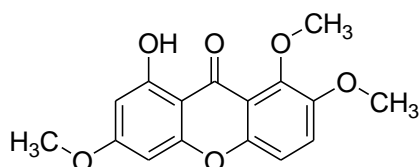
Très peu d'études phytochimiques ont été menées sur l'espèce *A. schweinfurthii*. Néanmoins, une étude phytochimique réalisée par **Mbouangouere et al. (2007)** a permis d'isoler et d'identifier dans l'extrait de dichlorométhane/méthanol des racines de *A. schweinfurthii* un nouveau stéroïde, la schweinfurthiine (**1**), deux composés connus, la bauérénone (**2**), le bauerénol (**3**) et les xanthones.



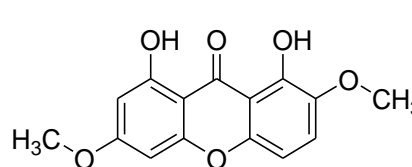
Bauérérol



Bauérénone



8-Hydroxy-1,2,6-trimethoxyxanthone



1,8-Dihydroxy-3,7-dimethoxyxanthone-9-one

Djeussi et al. (2016) ont évalué les propriétés antibactériennes de l'extrait méthanolique d'*A. schweinfurthii*; les effets vasoconstricteurs et inotropes induits par les extraits d'écorce de racine d'*A. schweinfurthii* ont été étudiés par **Ngombe et al. (2010)**. La toxicité aiguë et subaiguë de l'extrait aqueux d'écorces de *A. schweinfurthii* a été étudiée par **Christophe et al. (2015)**.

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

II-1) MATERIEL

II-1-1) Matériel Végétal

Le matériel végétal utilisé dans ce travail, a été sélectionné sur la base de leur utilisation en médecine traditionnelle camerounaise pour le traitement des maladies inflammatoires et certaines infections. Les composés précédemment isolés et caractérisés contenus dans les données bibliographiques ont motivé davantage le choix de ces plantes. Le matériel végétal était constitué des feuilles et des écorces appartenant aux familles des Ochnaceae et des Loganiaceae : *O. schweinfurthiana*, arbre mature (Figure 17) a été récoltée en matinée dans la région de l'Adamaoua en septembre 2014 plus précisément à Gadabidun, petite localité située à 15 km de Ngaoundéré (Cameroun) et identifiée par M. Nana à l'Herbier National par comparaison avec les spécimens ayant les codes d'identification ci-après : 4017HNC, 39377HNC.

A. schweinfurthii, arbre mature (Figure 18) a été récoltée dans la région du Littoral, précisément dans l'arrondissement de Loum-Cameroun en Août 2016 et identifiée à l'Herbier National par Ngansop Eric, Jumban blaise et Ekwa Wonono en comparant avec le spécimen dont le code d'identification est le suivant : 52349HNC.



Figure 17 : Photographie du tronc (a) et feuille (b) de *O. schweinfurthiana* (**Djova**)



(a)



(a)

Figure 18 : Photographie tronc (a) et feuille de *A. schweinfurthii* (b) (Djova)

II-1-2) Matériel biologique

II-1-2-1) Les animaux expérimentaux

Les animaux expérimentaux sont constitués des rats mâles albinos de souches Wistar âgés de 5 à 7 semaines et de poids compris entre 103 et 190 g. Ces animaux d'expérience ont été fournis par l'Unité de Nutrition du Laboratoire des Sciences des Aliments et Métabolisme de l'Université de Yaoundé I. Les animaux ont été acclimatés aux conditions du laboratoire pendant une semaine avant l'expérience. Ils ont été disposés dans des cuvettes en plastique couvertes de grillage et recevaient quotidiennement une alimentation de composition standard (Annexe 4) et de l'eau du robinet à volonté. La litière était faite de sciure renouvelée tous les deux jours pour assurer de bonnes conditions hygiéniques.

II-1-2-2) Les lignées cellulaires

Les cellules rénales de singes verts Africains (Véro) ont été fournies par le Laboratoire de Pharmacologie et Toxicologie du Département des Sciences Paracliniques de L'Université de Pretoria (Afrique du Sud) où les tests de cytotoxicité y ont été effectués.

Les lignées MDA-MB-361 qui sont des adénocarcinomes des cellules humaines isolées d'un cancer métastatique du sein d'une femme de 40 ans exprimant l'oncogène $wnt7h^+$, localisées au niveau du cerveau. Ces cellules sont les produits de ATCC® HTB-27™ lot N° 60106926 (Informations supplémentaires en Annexe 1) et les lignées MCF-7, qui sont des adénocarcinomes des cellules humaines, isolées d'un cancer métastatique du sein localisées au niveau de l'effusion pleurale chez une femme de 69 ans. Ces cellules sont le produit de ATCC® HTB-22™ (Information supplémentaire en Annexe 2).

II-1-2-3) Les souches bactériennes

Les effets génotoxiques potentiels des feuilles et des écorces de *O. schweinfurthiana* et de *A. schweinfurthii* ont été effectués sur les souches tests TA 98 et TA 100 de *Salmonella typhimurium* fournies par le Laboratoire de Pharmacologie et Toxicologie du Département des Sciences Paracliniques de l'Université de Pretoria en Afrique du Sud. Les souches TA 98 et TA 100 sont utilisées pour les tests de mutagenicité. Ces souches contiennent des mutations différentes dans l'Opéron histidine et sont de ce fait autotrophes à l'histidine. Ces souches contiennent une autre mutation (*rfa*) qui augmente considérablement leur capacité à détecter des mutagènes dans les mélanges comme les extraits de plantes.

La souche TA 98 possède une mutation sur le gène His D3052. Ce gène code pour l'histidinol déshydrogenase. Cette souche permet de détecter les mutagènes qui provoquent la reversion par inversion des bases GC au niveau du gène His D3052. Cette réversion provoquée par le mutagène donne de nouveau à la souche la possibilité de synthèse de l'histidine et de ce fait, la capacité de se multiplier dans un milieu pauvre en histine.

La souche TA 100 possède une mutation sur le gène His G46. Ce gène code pour l'enzyme responsable de la biosynthèse de l'histidine. Cette souche permet de détecter les mutagènes qui provoquent la réversion par substitution du codon GGG (Proline) par GAT (Leucine). Cette réversion provoquée par le mutagène donne de nouveau à la souche la possibilité de synthèse de l'histidine et donc, la capacité de se multiplier dans un milieu pauvre en histine.

II-1-3) Les milieux de culture pour le test de cytotoxicité et le test de génotoxicité

Eagle's Minimum Essential Medium (MEM ; GIBCO 31885) : 1 g/L glucose ; Eagle's Minimum Essential Medium (MEM catalog N° 30-2003) : 0,01 mg/mL insuline recombinant humain + 10 % sérum de veau fœtal ; Roswell Park Memorial Institute (RPMI 1640) medium (PAA) ; ATCC-formulated RPMI 1640, catalog N° 30-2001 + 10 % sérum de veau fœtal ; L-Glutamine ; Pyruvate de sodium 1 mM. Sérum de veau foetal (FBS) ; solutions antibiotiques (gentamicine/pénicilline/streptomycine), acides aminés non essentiels (GIBCO 2183) et la Trypsine, le milieu Oxoid Nutrient (Fluka)

II-1-4) Réactifs et équipements

Pour l'évaluation des activités antioxydantes, le DPPH a été acheté à Sigma Aldrich, avec les caractéristiques suivantes : un poids moléculaire 394,32 ; N° Cas 1898-66-4, formule brute $C_{18}H_{12}N_5O_6$; pureté à 95 %. Le 2,4,6-Tris (2-pyridyl)-S-triazine (TPTZ), produit de

Sigma Aldrich, poids moléculaire de 312,33 ; N° de Cas 3682-35-7, formule brute de $C_{18}H_{12}N_6$. L'ABTS, acheté à Sigma Aldrich, N° 30931-67, formule brute $C_{18}H_{18}N_4O_6S_4$, poids moléculaire de 514,62 g/mol. Le β -carotène acheté à Sigma Aldrich avec les caractéristiques suivantes : C9750-5G, de type I, synthétique ; le pouvoir $\geq 93\%$ (UV) ; lot N° SLBC1996V ; N° de Cas 7235-40-7 ; stocké à $-20\text{ }^\circ\text{C}$; formule brute de $C_{20}H_{56}$; poids moléculaire de 536,87, soluble dans le DMSO à $30\text{ }\mu\text{g/ml}$. L'acide linoléique, produit de Sigma Aldrich, lot SLBB0391V, N° Cas 60-33-3. Le réactif de Folin Ciocalteu F9252 de Sigma Aldrich.

En ce qui concerne l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits étudiés, les réactifs suivants ont été utilisés : La 15-lipoxygénase SRP0410 acquis à Sigma Aldrich, le BSA A2518 acheté à Sigma Aldrich. La caséine nous a été fournie par le Laboratoire de Pharmacologie de l'IMPM.

L'étude analytique des extraits a été réalisé à l'Ecole Normale Supérieure de l'Université de Yaoundé I, en utilisant un appareil de type HPLC/MS de marque Ultimate 3000 (Thermo Fisher, USA). Le spectrophotomètre de marque Jenway 6305 a été utilisé pour la lecture des densités optiques, la centrifugeuse de marque 90-1 a été utilisé pour la centrifugation, le lyophilisateur de marque Biobase du Laboratoire de Pharmacie Galénique et Législation Pharmaceutique (FMSB) de l'Université de Yaoundé I a été utilisé pour l'obtention des lyophilisats, le fractionnement par chromatographie sur colonne sur gel de silice et la purification par chromatographie sur colonne sur gel de séphadex, ainsi que la chromatographie sur couche mince (CCM) ont été réalisées à l'aide de plaques de silica gel 60 F₂₅₄ sur feuille d'aluminium (*Merck*) au Laboratoire de Pharmaco-chimie des Substances Naturelles (LPSN) de l'Université de Yaoundé I.

II-2) Méthodes

II-2-1) Organigramme méthodologique

La Figure 19 ci-dessous représente l'organigramme de la méthodologie expérimentale permettant de comprendre l'ensemble du travail. Après la sélection des plantes sur la base de leur utilisation ethnobotanique et leurs constituants phytochimiques, elles ont été récoltées, traitées pour l'extraction. Ensuite la détermination des activités antioxydantes *in vitro* et *in vivo*, la détermination *in vitro* de l'activité anti-inflammatoire des extraits. Par la suite, les extraits ont été fractionnés puis, l'évaluation de la cytotoxicité des extraits et des fractions sur les cellules MDA-MB-361, MCF-7 et sur la cellule Véro, ainsi que la détermination de leur mutagénicité, enfin les composés purs ont été isolés et identifiés à partir des fractions.

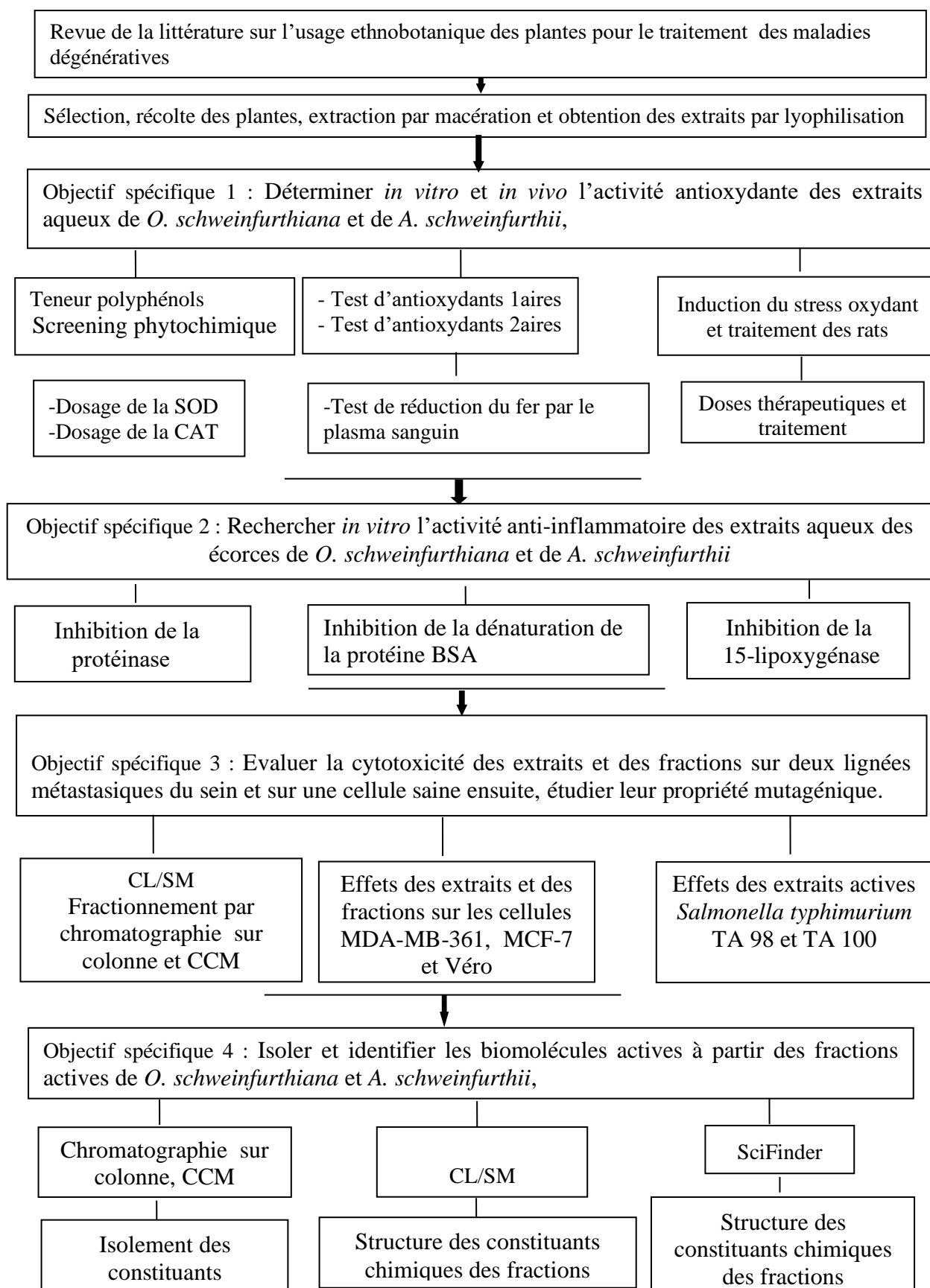


Figure 19 : Schéma de l'organigramme de la méthodologie expérimentale

II-2-1) Méthodes d'extraction

Après la récolte, plusieurs opérations de pré-traitements ont été effectuées sur la matière végétale fraîche à savoir le découpage des écorces en petits morceaux, le séchage des écorces et des feuilles à l'ombre pendant une semaine suivi du broyage pour obtenir la poudre. La poudre des écorces et des feuilles des deux plantes a été macérée à froid dans l'eau distillée. Pour l'obtention des extraits, 400 g de poudre des écorces et des feuilles de *O. schweinfurthiana* (350 g) ont été trempées séparément dans 6,5 L d'eau distillée. En ce qui concerne *A. schweinfurthii*, 200 g de poudre des écorces et 200 g de poudre des feuilles ont été trempées respectivement dans 4,5 L et 8 L d'eau distillée. Après 48 h de macération, le mélange obtenu a été filtré sur papier Whatman No. 1, le filtrat obtenu a été concentré grâce à un lyophilisateur de marque **Biobase** pour obtenir l'extrait aqueux (Figure 20). La macération à l'eau a été répétée deux fois afin de maximiser le rendement. Ce rendement a été calculé en utilisant la formule ci-dessous (**Prakash et al., 2005**).

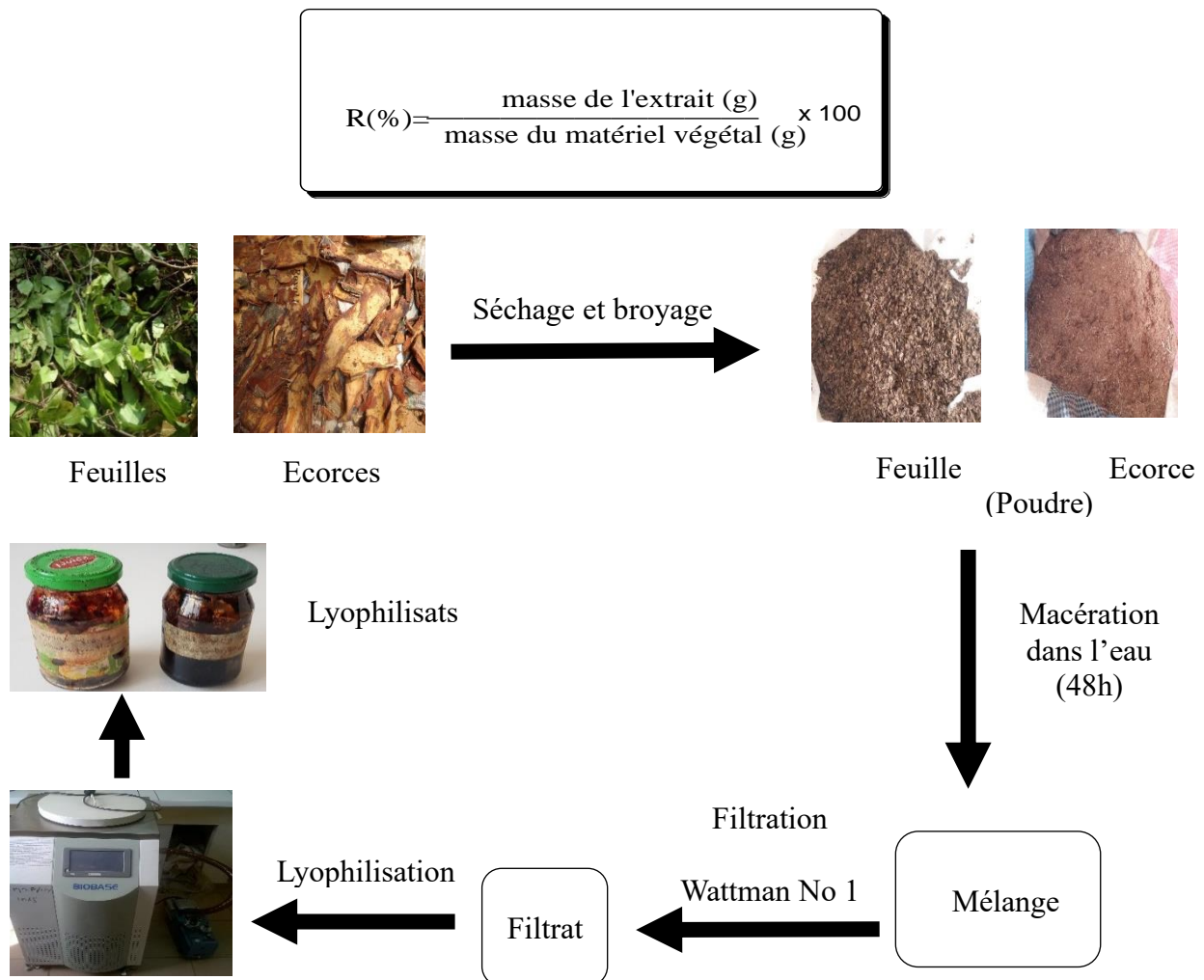


Figure 20 : Protocole d'extraction des extraits aqueux de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii*

II-2-2) Détermination des teneurs en antioxydants totaux

Le réactif de Folin-Ciocalteu de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. Lorsque les antioxydants sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-Ciocalteu en un complexe ayant une couleur bleue constitué d'oxyde de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle au taux des composés antioxydants oxydés.

II-2-2-1) Procédure

Les polyphénols sont évalués suivant la méthode spectrophotométrique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu décrite par **Chew *et al.*, (2009)**. Pour cela, 1817 μL d'eau distillée ont été introduits dans un tube à essai, 115 μL de Folin-Ciocalteu dilués au 1/10 et 345 μL de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 15 % y ont été ajoutés. Les tubes bien agités à l'aide d'un vortex sont incubés pendant 2 heures ; l'absorbance a été mesurée à 765 nm. L'étalonnage a été réalisé à l'aide d'une solution aqueuse fraîchement préparée d'Acide ascorbique et les résultats exprimés en mg EAA/g extrait.

La réaction mise en jeu est traduite par l'équation suivante :



$3\text{H}_2\text{O}-\text{P}_2\text{O}_5-13\text{WO}_3-5\text{MoO}_3-10\text{H}_2\text{O}$ (réactif de molybdophosphotungstique: Mo (VI))

II-2-2-2) Détermination de la teneur des antioxydants primaires et secondaires

Utiliser la densité optique de l'extrait qui a permis d'obtenir la SC_{50} à partir de DPPH et ABTS pour la détermination de la teneur en antioxydants primaires ou à partir de FRAP et β -carotène pour la détermination des antioxydants secondaires ; laquelle est projetée sur la courbe de piégeage en fonction de la concentration de l'Acide ascorbique pour déterminer la concentration en Acide ascorbique correspondante. Par la suite cette concentration est divisée par la concentration de l'extrait pour avoir la concentration en équivalence d'acide ascorbique par gramme d'extrait sec (EAA/g extrait).

II-2-3) Screening phytochimique

Le criblage phytochimique a permis de connaître les différentes familles de composés présents dans les extraits obtenus. Les méthodes standards décrites par **Harborne (1998)** ont été utilisées.

II-2-3-1) Test des phénols et polyphénols

Une solution de 3 mL de chlorure ferrique à 5 % fraîchement préparée pendant 5 min et a été ajoutée à 0,5 g d'extrait dissout dans 2 mL d'eau. Après homogénéisation, quelques gouttes d'une solution de ferricyanure de potassium ont été ajoutées. L'observation d'un précipité vert (phénol) ou bleu (polyphénol) indique une réaction positive et révèle la présence de ces composés.

II-2-3-2) Test des tanins

L'extrait (500 mg) est ajouté à 5 mL d'eau distillée. Le mélange est chauffé au bain marie pendant 5 min, puis filtré après refroidissement. Ensuite, quelques gouttes de chlorure ferrique 3 % ont été ajoutées au filtrat. La présence des tanins se traduit par l'apparition de la coloration noire bleue (bleu sombre).

II-2-3-3) Test des triterpènes et des stéroïdes

Une masse de 50 mg d'extrait est dissoute dans 20 mL de chlorure de méthylène. A cette solution, 4 gouttes d'anhydride acétique et d'acide sulfurique ont été successivement ajoutées. La présence des triterpènes s'est manifestée par un changement de couleur en rouge violacée, alors que la couleur bleue verdâtre était caractéristique des stéroïdes.

II-2-3-4) Test des saponines

L'extrait (500 mg) a été ajouté dans 5 mL d'eau distillée. Après homogénéisation, le mélange a été chauffé pendant 5 min jusqu'à ébullition. La présence des saponines se traduit par l'apparition d'une mousse persistante après 1 min.

II-2-3-5) Test des flavonoïdes

L'extrait (500 mg) est dissout dans 5 mL de NaOH 1 N. La décoloration de la couleur jaune obtenue après addition d'acide chlorhydrique 1 N indique la présence des flavonoïdes.

II-2-3-6) Test des alcaloïdes

L'extrait (500 mg) est chauffé dans 10 mL d'acide sulfurique 1 % pendant 2 à 3 min, puis filtré. A 1 mL du filtrat, on ajoute quelques gouttes du réactif de Mayer. L'obtention d'un précipité blanc indique la présence des alcaloïdes.

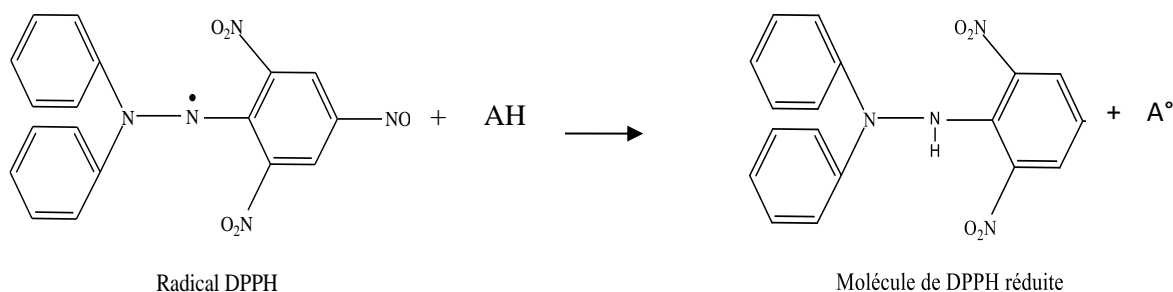
II-2-4) Evaluation des activités antiradicalaires des extraits

II-2-4-1) Test du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazile (DPPH)

Le test de DPPH décrit par **Brand-Williams *et al.* (1995)** a été utilisé dans ce travail. Ce test est basé sur la mesure de la capacité des extraits à réduire *in vitro* le radical DPPH° (2,2-diphényl-1-picrylhydrazile) en DPPH-H (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine) dont l'équation bilan de la réaction est :



Le mécanisme réactionnel de cette équation bilan est le suivant :



L'incubation (mélange DPPH° + extrait + solvant) a été réalisée à l'obscurité. L'absorbance du milieu réactionnel a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre de marque **Jenway 6305** à 515 nm toutes les 30 min pendant 2 h. Les expériences ont été réalisées en triplicate.

-Etude cinétique, mise au point des conditions d'étude :

Au tout début de l'évaluation, nous avons réalisé une étude cinétique de la réactivité du DPPH avec les différents extraits suivant la méthode décrite par **Nyegue (2006)**. Elle a consisté à suivre la réactivité du DPPH au cours du temps avec les différents extraits à tester en effectuant une mesure de l'absorbance toutes les 30 minutes pendant 120 minutes.

Préparation des solutions

-Préparation de la solution de DPPH 0,04 g/L

Le réactif de DPPH (10 mg) a été dissout dans 25 mL de méthanol. De cette solution, 5 mL sont prélevés et dissoutes dans 45 mL de méthanol. Tout ceci s'est fait à l'obscurité.

-Préparation de la gamme d'étalonnage

Les différentes concentrations ont été préparées à partir d'une concentration mère de 4 mg/mL ; en effectuant une série de dilutions avec le méthanol, les concentrations suivantes ont été obtenues : 2 mg/mL ; 1 mg/mL ; 0,5 mg/mL ; 0,25 mg/mL et 0,125 mg/mL.

Après les différentes solutions préparées, 1950 μL de solution de DPPH ont été pipetées et introduites dans les tubes et 50 μL d'extrait pour chaque concentration y ont été ajoutés pour un volume final de 2 mL par tube. Les concentrations réelles de l'extrait ayant réagi avec le DPPH dans 2 mL ont été déterminées : 0,1 mg/mL ; 0,05 mg/mL ; 0,025 mg/mL ; 0,0125 mg/mL ; 0,00625 mg/mL ; 0,0031 mg/mL. Les tests ont été effectués en triplicate et à l'obscurité. La densité optique a été mesurée après 30 min d'incubation pendant 120 min à une longueur d'onde de 515 nm.

-Préparation de la solution de référence (Acide ascorbique)

L'antioxydant de référence utilisé est l'Acide ascorbique, il a été préparé selon la méthode décrite précédemment. L'absorbance a été lue à 515 nm. L'activité antioxydante des extraits est exprimée par comparaison à celle de l'Acide ascorbique. Le pourcentage de piégeage du DPPH est calculé selon la formule de **Brand-Williams *et al.* (1995)** ci-après :

$$\%I = \frac{A_{\text{Ref}} - A_{(\text{mes})}}{A_{\text{Ref}} - A_{(100)}} \times 100$$

A_{Ref} = Absorbance à $t=120$ min du témoin (solution de DPPH sans antiradicalaire)

A_{mes} = Absorbance à $t=120$ min de la solution de DPPH contenant l'antiradicalaire

A_{100} = Représente l'absorbance en fin de réaction.

La concentration en antiradicalaire permettant de piéger 50 % de radicaux libres (SC_{50}) s'obtient à partir du graphe représentant le pourcentage de piégeage en fonction des concentrations testées (mg/mL). A partir de la valeur de SC_{50} , on accède à ce moment à deux types de résultats.

a) Concentration efficace : EC_{50}

La concentration efficace de l'extrait exprimée en mg Ex/g de DPPH est celle qui permet de piéger 50 % de DPPH ; elle est obtenue en appliquant la formule suivante :

$$EC_{50} = \frac{SC_{50}}{C_{\text{DPPH}}}$$

b) Pouvoir antiradicalaire

Le pouvoir anti-radicalaire noté PA permet de mesurer l'efficacité de l'antiradicalaire. Plus le PA est élevé, plus l'anti-radicalaire est efficace. Il est obtenu en faisant l'inverse de la concentration efficace :

$$PA = \frac{1}{EC_{50}}$$

II-2-4-2) Test de l'acide 2,2-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique (ABTS)

La méthode utilisée est celle décrite par **Re et al. (1999)**. Elle est basée sur la réduction du radical cationique, ABTS de coloration bleu-verte, par les antioxydants donneurs d'hydrogènes. Elle se traduit par une diminution de l'absorbance à 734 nm de longueur d'onde.

-Mode opératoire

L'étude des capacités antioxydantes a été faite par un essai de décoloration du radical ABTS, Pour cela, nous avons tout d'abord préparé 7 mM de solution stock du radical cationique ABTS en dissolvant 8 mg de poudre d'ABTS dans 1 mL d'eau distillée (solution A). Ensuite la solution B a été préparée à partir de 13,2 mg de persulfate de potassium dissouts dans 10 mL d'eau distillée. Nous avons mélangé 0,5 mL de la solution A à 0,5 mL de la solution B et conservé à la température ambiante et à l'obscurité pendant 16 h. Dans ces conditions les concentrations d'ABTS et de persulfate de potassium sont respectivement de 7 mM et 2,45 mM et la stabilité est d'au moins deux jours. Le jour de l'analyse, nous avons dilué la solution stock avec de l'eau distillée jusqu'à une absorbance de 0,7 ($\pm 0,02$) à 734 nm au spectrophotomètre de marque **Jenway 6305**. La solution stock ainsi diluée constituait la solution de travail. Dans chaque tube, 20 μ L d'extrait dilué 10 fois ont été introduit puis, 2 mL de la solution de travail d'ABTS ont été ajoutées et après 30 minutes d'incubation, l'absorbance a été lue à 734 nm contre un blanc dans lequel l'extrait a été remplacé par 20 μ L d'eau. Les essais ont été réalisés en triplicate et la molécule de référence utilisée est l'acide ascorbique. Le pourcentage d'inhibition a été calculé en utilisant la formule suivante :

$$\%I = \frac{AB - AA}{AB} \times 100$$

Avec AB : l'absorbance du témoin et AA : l'absorbance de l'extrait

La concentration en antiradicalaire permettant de piéger 50 % de radicaux libres (SC_{50}) s'obtient à partir du graphe représentant le pourcentage de piégeage en fonction des concentrations testées (mg/mL). A partir de la valeur de SC_{50} , on accède à ce moment à deux types de résultats.

a) Concentration efficace : EC₅₀

La concentration efficace de l'extrait exprimée en mg Ex/g de l'ABTS est celle qui permet de piéger 50 % de l'ABTS ; elle est obtenue en appliquant la formule suivante :

$$EC_{50} = \frac{SC_{50}}{C_{ABTS}}$$

b) Pouvoir antiradicalaire

Le pouvoir anti-radicalaire noté PA permet de mesurer l'efficacité de l'antiradicalaire. Plus le PA est élevé plus l'anti-radicalaire est efficace. Il est obtenu en faisant l'inverse de la concentration efficace :

$$PA = \frac{1}{EC_{50}}$$

II-2-5) Evaluation de l'activité réductrice

II-2-5-1) Test du *Ferric Reducing Antioxydant Power Assay* (FRAP)

-Principe

Il est basé sur la réduction du complexe ferrique tripyridyltriazine (Fe³⁺-TPTZ) en complexe ferreux tripyridyltriazine (Fe²⁺-TPTZ) en présence d'un antioxydant. L'intensité de la coloration bleue traduit cette réduction dont l'absorbance est mesurée à une longueur d'onde maximale de 593 nm.



-Procédure

Le test de réduction ferrique décrit par **Benzie et Strain (1999)** a été utilisé dans cette étude. Pour cela, 1950 µL de solution de FRAP ont été pipetées et introduites dans les tubes puis, 50 µL d'extrait à différentes concentrations y ont été ajoutés. Les tests ont été réalisés en triplicate, le mélange a été incubé pendant 30 min à l'obscurité et la densité optique a été mesurée à 593 nm grâce au spectrophotomètre de type **Jenway 6305**. La solution de FRAP a été préparée de la manière suivante : 14,1 mg de TPTZ ont été dilués dans 9 mL de HCL à 40 mM ensuite, le chlorure ferrique (FeCl₂) à 20 mM et le tampon acétate 300 mM à pH 3,6 ont été respectivement mélangés à la proportion 1 : 1 : 10 pour former la solution de FRAP. Quant

aux extraits, différentes concentrations de ceux-ci ont été obtenues à partir d'une concentration mère de 4 mg/mL par une série de dilutions avec de l'eau distillée et du méthanol 1/1 ; les concentrations réelles des extraits ont été obtenues dans 2 mL à savoir 0,1 mg/mL; 0,5 mg/mL ; 0,025 mg/mL ; 0,0125 mg/mL ; 0,00625 mg/mL et 0,0031 mg/mL.

-Expression des résultats de FRAP

La droite de régression de la courbe de l'absorbance en fonction de la concentration de l'Acide ascorbique permet d'exprimer l'équivalence des extraits en mg/g d'Acide ascorbique. La moyenne du rapport des équivalences des concentrations en Acide ascorbique sur des différentes concentrations des extraits a permis de trouver l'équivalence en mg d'acide ascorbique/g de matière sèche (mg EAA/g d'extrait).

II-2-5-2) Test du blanchiment de β -carotène couplé à l'auto-oxydation de l'acide linoléique

-Principe

Dans le test du blanchiment du β -carotène, la présence de 11 paires de doubles liaisons rend le β -carotène extrêmement sensible aux ERO dérivés d'hydroperoxydes qui sont formés à partir de l'oxydation de l'acide linoléique dans un système d'émulsion aqueuse dont en résulte le blanchiment du β -carotène. La présence des antioxydants comme les polyphénols réduisent l'ampleur de la destruction du β -carotène en neutralisant les hydroperoxydes et d'autres espèces radicalaires formées à l'intérieur de ce système.

-Expression des résultats du β -carotène

Le test du blanchiment du β -carotène utilisé dans cette étude est celui décrit par **Moure et al., (2001)**. Une quantité de 2 mg de β -carotène est dissoute dans 10 mL de chloroforme. On prélève 1 mL de cette solution dans une fiole contenant préalablement 200 mg de Tween 20 et 20 μ L d'acide linoléique. Cette solution est évaporée par évaporateur rotatif jusqu'à disparition de l'odeur du chloroforme. Puis, un volume de 100 mL de l'eau oxygénée diluée est ajouté dans la fiole et le mélange résultant est agité vigoureusement. Dans des tubes à vis, l'émulsion β -carotène/acide linoléique de 4 mL est additionnée à 200 μ L des solutions méthanoliques de l'extrait de l'Acide ascorbique à différentes concentrations. Après une agitation proprement dite, l'absorbance est mesurée immédiatement à 470 nm ce qui correspond à $t = 0$ min contre le blanc contenant l'émulsion sans β -carotène. Les tubes bien fermés sont placés dans un bain marie à 50 °C pendant 120 minutes. Ensuite, l'absorbance de chaque extrait est mesurée à 470 nm à $t = 120$ min. Pour le contrôle positif, l'échantillon est

remplacé par l'Acide ascorbique. Le contrôle négatif est constitué de 200 µL de méthanol à la place de l'extrait ou de l'antioxydant de synthèse. Tous les échantillons sont répétés en trois essais. L'activité antioxydante des extraits est évaluée en termes de blanchiment de β-carotène en employant la formule suivante :

$$\% I = \frac{A_x - A_{(mes)}}{A_{(mes)}} \times 100$$

Légende : Ax représente l'absorbance en présence de l'extrait (antioxydants) à 120 min, A_(mes) le témoin.

La droite de régression de la courbe de l'absorbance en fonction de la concentration de l'acide ascorbique permet d'exprimer l'équivalence des extraits en mg/g d'Acide ascorbique. La moyenne du rapport des équivalences des concentrations en acide ascorbique sur des différentes concentrations des extraits a permis de trouver l'équivalence en mg d'Acide ascorbique/g de matière sèche (EAA/g d'extrait).

II-2-6) Evaluation de l'activité antioxydante *in vivo*

II-2-6-1) Groupage d'animaux

L'expérience a été effectuée sur 28 rats : soit 7 lots de 4 rats. Le témoin négatif a été traité avec l'eau distillée ; le stress oxydatif a été induit aux six autres lots par administration orale d'1 mL/Kg de H₂O₂ dans l'huile de maïs (1:5 v/v) par gavage à l'aide d'une sonde gastrique, parmi lesquels 2 ont servi de lots expérimentaux et ont été traités avec 100 mg/kg et 250 mg/kg des extraits des écorces de *O. schweinfurthiana* (OSE) et *A. schweinfurthii* (ASE), 50 mg/Kg pour le lot référence traité avec l'Acide ascorbique et le dernier lot témoin positif, après induction du stress oxydant, aucun traitement n'a été administré à ce dernier.

Le lot 1 ou lot témoin positif était constitué de 4 rats ayant respectivement des poids de 173 g, 170 g, 171 g, et 174 g, le poids moyen du lot témoin positif était de 172 g. Les rats du lot témoin positif ont reçu une administration orale du peroxyde d'hydrogène pendant trois jours par gavage à l'aide d'une sonde gastrique, une alimentation quotidienne normale et de l'eau de robinet à volonté durant les 14 jours après induction du stress oxydatif.

Le lot 2 ou lot témoin négatif avait les rats ayant les poids de 150 g, 147 g, 151 g et 145 g pour un poids moyen de 148,25 g. Les rats du lot témoin négatif ont reçu une administration orale d'eau distillée pendant trois jours, une alimentation complète et de l'eau à robinet à volonté durant les 14 jours de l'expérience.

Le lot 3 ou lot référence était constitué des rats ayant des poids de 103 g, 103 g, 104 g et 105 g pour un poids moyen de 103,75 g. Les rats du lot référence ont subi une induction du stress oxydatif par administration orale du peroxyde d'hydrogène pendant 3 jours, puis traitement par administration orale avec de l'Acide ascorbique, une alimentation complète quotidienne normale et de l'eau de robinet à volonté pendant 14 jours.

Le lot 4 ou lot OSE 100 mg/kg était constitué des rats de 128 g, 128 g, 126 g et 125 g pour un poids moyen de 126,75 g. Les rats du lot OSE 100 mg/kg, après induction du stress oxydatif par administration orale du peroxyde d'hydrogène pendant trois jours, ont reçu un traitement avec l'extrait aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* (OSE) à 100 mg/kg, une alimentation quotidienne complète et de l'eau de robinet à volonté pendant 14 jours.

Le lot 5 ou lot OSE 250 mg/kg est constitué des rats de 126 g, 125 g, 127 g et 130 g pour un poids moyen de 127 g. Les rats de lot OSE 250 mg/kg, après induction du stress oxydatif par administration orale du peroxyde d'hydrogène pendant trois jours, ont reçu un traitement avec l'extrait aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* à 250 mg/kg, une alimentation quotidienne complète et de l'eau de robinet à volonté pendant 14 jours.

Le lot 6 ou lot ASE 100 mg/kg est constitué des rats de 157 g, 153 g, 154 g et 155 g pour un poids moyen de 154,75 g. Les rats de lot ASE 100 mg/kg, après induction du stress oxydatif par administration orale du peroxyde d'hydrogène pendant trois jours, ces rats ont reçu un traitement avec l'extrait aqueux des écorces de *A. schweinfurthii* à 100 mg/kg, une alimentation quotidienne complète et de l'eau de robinet à volonté pendant 14 jours.

Le lot 7 ou lot ASE 250 mg/kg est constitué des rats de 147 g, 149 g, 150 g et 148 g pour un poids moyen de 148,5 g. Les rats de lot ASE 250 mg/kg, après induction du stress oxydatif par administration orale du peroxyde d'hydrogène pendant trois jours, ont reçu un traitement avec l'extrait aqueux des écorces de *A. schweinfurthii* à 250 mg/kg, une alimentation de composition standard (Annexe 4) quotidienne complète et de l'eau de robinet à volonté pendant 14 jours.

II-2-6-2) Induction du stress oxydatif

Le stress oxydatif a été induit aux rats de lot témoin positif, lot OSE 100 mg/kg, lot OSE 250 mg/kg, lot ASE 100 mg/kg, ASE 250 mg/kg et au lot référence 50 mg/kg par administration orale d'1 mL/Kg de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) 10 volumes à 3 %, dans l'huile de maïs (1:5 v/v) à l'aide d'une sonde gastrique, ceci pendant trois jours, l'huile de maïs a servi de véhicule.

Le H₂O₂ est l'ERO endogène la plus abondante. Le peroxyde d'hydrogène est une espèce non radicalaire et possède un faible potentiel oxydant. Cela ne l'empêche pas de causer des dommages oxydatifs aux protéines qui possèdent un groupement thiol. La propriété la plus intéressante du peroxyde d'hydrogène réside en sa capacité à diffuser librement dans le cytoplasme et au travers des membranes du fait de sa stabilité.

Les systèmes de défenses enzymatiques impliqués dans la défense de l'organisme contre le stress oxydatif impliquent la détoxification active suite à une surproduction des ERO ou une prévention par désactivation de certaines molécules endogènes de l'organisme (Fe³⁺, Cu²⁺). L'eau oxygénée (H₂O₂) est un radical libre secondaire ; sa surproduction dans l'organisme fait intervenir un ensemble d'enzyme dont le superoxyde dismutase (SOD) et la catalase qui interviennent à différents niveaux avec le H₂O₂ contre la production du radical hydroxyle (HO[•]), l'espèce oxygénée la plus réactive avec une vitesse de réactivité de l'ordre de 10⁹-10¹⁰ M⁻¹.S⁻¹. Lorsque le HO[•] réagit avec les lipides de la membrane plasmique, ils produisent le radical peroxyde (RCOO[•]) responsable de la lipoperoxydation lipidique. La SOD empêche la production de HO[•] en désactivant le Fe³⁺ en Fe²⁺ suivant la réaction ci-dessous :



Sans cette désactivation du fer ferrique en fer ferreux par la SOD, il se formerait le radical hydroxyle à partir du fer ferrique et l'eau oxygénée telle que démontré par la réaction de Fenton ci-dessous :



La catalase est l'une des enzymes de défense anti-oxydante actives de l'organisme contre les radicaux libres ; son rôle est de métaboliser l'eau oxygénée en eau et en oxygène suivant la réaction ci-dessous :



Ainsi, la SOD et la catalase interviennent mutuellement contre la production du radical hydroxyle à partir de l'eau oxygénée suivant la réaction ci-dessous :



II-2-6-3) Préparation des doses thérapeutiques

Les solutions tests de *O. schweinfurthiana*, *A. schweinfurthii* ont été préparées aux doses de 100 mg/kg et 250 mg/kg de poids corporel et l'Acide ascorbique à 50 mg/kg de

poids corporel. Les doses ont été choisies sur la base de l'estimation des doses thérapeutiques à partir des résultats des tests antioxydants *in vitro* obtenus. En considérant que le poids biologique moyen d'un être humain adulte est de 70 kg, et que le volume sanguin est de 6 L et connaissant les concentrations inhibitrices obtenues dans les tests antioxydants *in vitro* 0,153 mg/mL pour l'extrait des écorces de *A. schweinfurthii* et 0,131 mg/mL pour les écorces de *O. schweinfurthiana*. Ainsi donc, le traitement chez l'homme consiste en l'ingestion quotidienne d'environ 13,11 mg/kg de poids corporel. Les valeurs de SC₅₀ ont été multipliées par 8 afin de pallier à une différence de biodisponibilité éventuelle existant entre l'homme et les rats de laboratoire, soit une valeur obtenue de 104,91 mg/kg de poids corporel pour une dose normale. Afin d'élargir la gamme de doses thérapeutiques, cette valeur a été divisée par 2 et multipliée par 2 puis majorée, pour obtenir les doses 50 mg/kg pour l'Acide ascorbique, 100 et 250 pour l'extrait aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii*.

II-2-6-4) Préparation des volumes des solutions d'essai

L'extrait a été dissout dans de l'eau distillée, puis le mélange a été homogénéisé par agitation (5-10 minutes). La solution obtenue a été conservée dans un bocal fermé et conservé avant chaque séance d'administration orale de l'extrait aux animaux. Le volume de solution à administrer aux animaux a été calculé en utilisant la formule ci-dessous :

$$V = \frac{D \times P}{C}$$

Avec : V = volume de solution à administrer (mL), D = dose (mg/kg), P = poids de l'animal (kg) et C = concentration de la solution à administrer (mg/mL).

L'observation de la couleur du Pélage des animaux montre une nette différence entre les rats du lot témoin positif et les rats du témoin négatif (Photo en Annexe 4).

La Figure 21 ci-dessous résume l'ensemble des traitements réalisés avant l'obtention des échantillons sanguins.

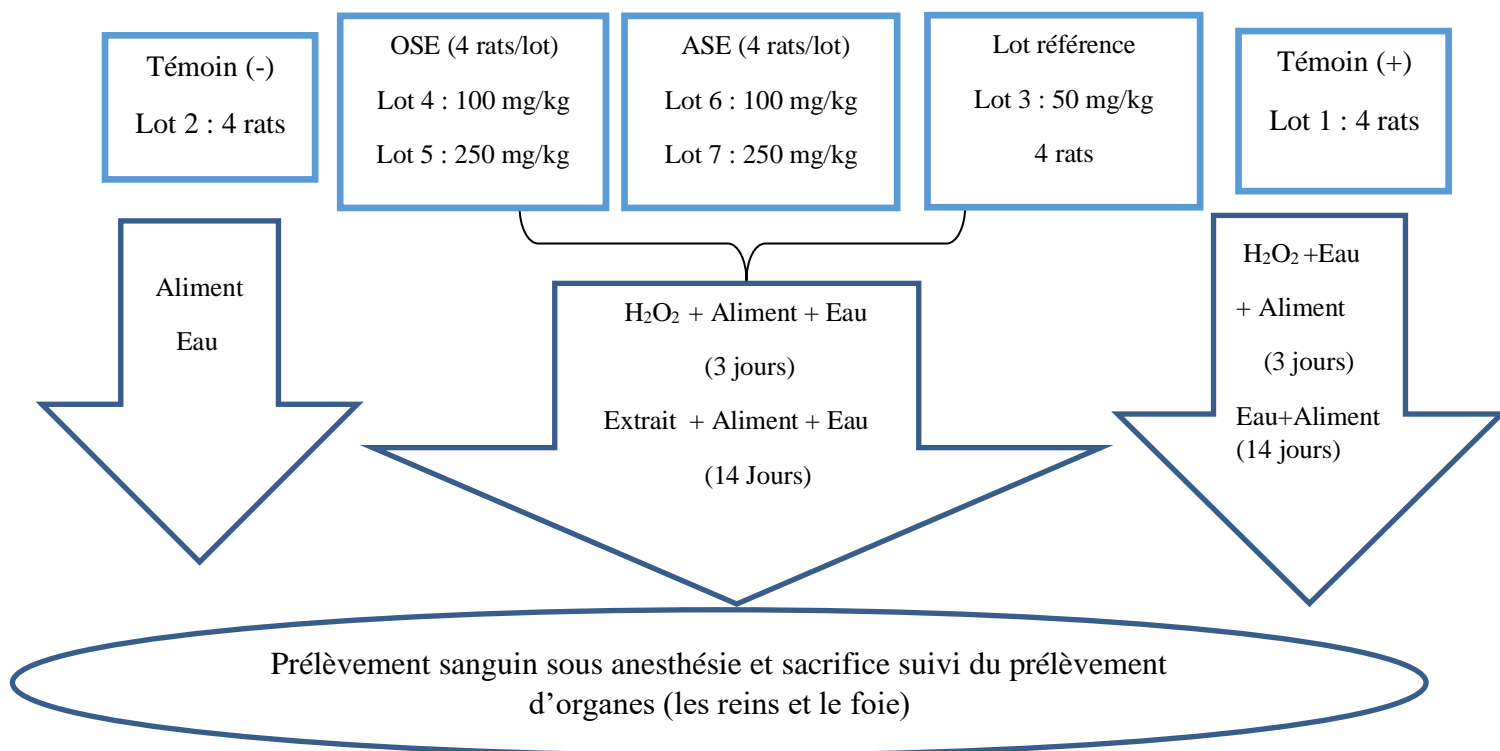


Figure 21 : Protocole expérimental schématisé pour l'obtention des échantillons pour les tests antioxydants *in vivo*

Vingt quatre heures après l'administration de la dernière dose, tous les animaux ont été anesthésiés par administration intramusculaire de Kétamine (50 mg/kg) + Diazépam (10 mg/kg). Le sang a été prélevé sur la patte postérieure et mis dans différents tubes (EDTA et sec) ; ensuite les animaux ont été sacrifiés. Pour l'obtention du plasma, le sang a été prélevé dans les tubes EDTA, après centrifugation à 3000 tr/min pendant 15 minutes avec une centrifugeuse de marque centrifuge 90-1 (photo en Annexe 4), le plasma qui est le surnageant a été recueilli (photo en Annexe 4), puis conservé dans les eppendorf à -20 °C.

Pour l'obtention des érythrocytes, le sang a été prélevé dans les tubes secs, après centrifugation à 3000 tr/min pendant 15 minutes avec une centrifugeuse de marque 90-1 (Photo en Annexe 4). Deux phases ont été obtenues : le surnageant qui est le sérum et le culot constitué du sang coagulé. Le culot contenant les érythrocytes est lavé 3 fois avec l'eau physiologique à 0,9 %, ensuite les cellules ont été lysées par addition de l'eau distillée glacée et incubée pendant 15 minutes dans la glace. Après centrifugation à 5000 tr/min pendant 5 minutes avec une centrifugeuse de marque centrifuge 90-1, le surnageant constitué des érythrocytes est recueilli puis conservé dans les eppendorfs à -20 °C pour le dosage de la catalase et la SOD.

Pour le dosage de la catalase et la SOD dans les reins et dans le foie, 1 mg de chaque organe a été pesé puis broyé dans un mortier, le mélange obtenu a été centrifugé à 3000 tr/min pendant 10 minutes, puis le surnageant a été récupéré et conservé dans les eppendorfs à -20 °C.

II-2-7) Evaluation *in vivo* de l'activité antioxydante

II-2-7-1) Méthode de réduction du fer par le plasma sanguin

La réduction du fer ferrique par le plasma a été évaluée par la méthode décrite par **Benzie et Strain (1999)** avec des légères modifications. Pour cela, 1950 µL de solution de FRAP ont été pipetés et introduits dans les tubes puis 50 µL d'extrait à différentes concentrations y ont été ajoutés. La solution de FRAP a été préparée de la manière suivante : 14,1 mg de TPTZ ont été dilués dans 9 mL de HCl à 40 mM. Ensuite, le chlorure ferrique (FeCl₂) à 20 mM et le tampon acetate 300 mM à PH 3,6 ont été respectivement mélangés aux proportions 1; 1; 10 pour former la solution de FRAP. Une solution de FRAP (1,95 mL) fraîchement préparée a été mélangée à 50 µL de l'échantillon plasmatique. Les tests ont été réalisés en triplicate ; le mélange a été incubé pendant 30 min à l'obscurité. L'absorbance à 593 nm développée suite à un changement de coloration à la couche organique a été mesurée grâce au spectrophotomètre de type **Jenway 6305** à une température de 37 °C.

II-2-7-2) Dosage de la catalase

L'activité de la catalase a été déterminée dans les erythrocytes, les reins et dans le foie en utilisant la méthode décrite par **Aebi (1984)** avec quelques modifications. Une solution de 50 µL de lysat est ajoutée à 2 mL du tampon phosphate à pH 7,2 (préparation du tampon phosphate en Annexe 5) dans une cuvette contenant 1 mL de 30 mM H₂O₂. L'activité de la catalase a été mesurée à 240 nm après une minute de réaction à l'aide du spectrophotomètre de marque **Jenway 6035**. L'activité de la catalase, exprimée en unités par minute par mg de protéine (U/min/mg P) est calculée en utilisant la formule d'**Aebi (1984)** suivante :

$$K = \frac{2,303}{T} \times \log \frac{A_1}{A_2}$$

Légende : T= intervalle de temps en min ; A₁ l'absorbance au temps Zéro ; A₂ l'absorbance après une minute

II-2-7-3) Dosage de la superoxyde dismutase SOD

-Principe

En milieu acide, la molécule de pyrogallol est stable, mais lorsqu'elle est placée en milieu basique (pH>7), elle se dégrade et produit alors des anions superoxydes qui vont oxyder le pyrogallol ; on parle d'auto-oxydation du pyrogallol. Cette auto-oxydation du pyrogallol conduit à la formation de la purpugalline, lorsque la SOD est active, l'autooxydation du pyrogallol est inhibée par la dismutation de l'anion superoxyde.

La méthode décrite par **Mccord et Fridovich (1969)** a été utilisée dans cette étude. L'activité de la SOD est estimée dans le lysat d'érythrocytes préparé à partir de la suspension de 5 % de RBC, dans le tissu rénal et dans le tissu hépatique. A 50 µL du lysat, on ajoute 75 mM de tampon Tris-HCl (pH 8,2 préparations du tampon Tris-HCl en Annexe 6), 30 mM EDTA et 2 mM de pyrogallol. L'absorbance est enregistrée à 420 nm pendant 2 min à l'aide d'un spectrophotomètre de marque **Jenway 6035**. Une unité d'activité enzymatique est une inhibition de 50 % du taux d'auto-oxydation du pyrogallol, déterminée par le changement d'absorbance/minute à 420 nm. L'activité de la SOD est exprimée en unités/min/ mg de protéine et calculée par la formule de **Mccord et Fridovich (1969)** ci-dessous :

$\Delta DO (\text{min}) = DO_{2\text{min}} - DO_{1\text{min}}$, de cette formule, on calcule le pourcentage d'inhibition d'auto-oxydation du pyrogallol en utilisant la formule suivante :

$$\% I = \frac{\Delta DO_{\text{extrait}}}{DO \text{ blanc}} \times 100$$

50% correspond à 1 unité de SOD

II-2-8) Evaluation de l'activité anti-inflammatoire de *O. schweifurthiana* et *A. schweinfurthii*

II-2-8-1) Oxydation ferreuse-xylénol orange (Fox) ou inhibition de la 15-Lipoxygenase

Le test a été effectué selon une procédure décrite précédemment par **Pinto et al. (2007)** et **Delong et al. (2002)** avec de légères modifications. Le test est basé sur la mesure de la formation du complexe Fe^{3+} /xylénol orange par un spectrophotomètre à 560 nm. La 15-LOX provenant de Glycine max a été incubée avec des extraits ou un inhibiteur standard à 25 °C pendant 5 minutes. Ensuite, de l'acide linoléique (concentration finale, 140 mM) dans le tampon Tris-HCl (50 mM, pH 7,4) a été ajouté et le mélange a été incubé à 25 °C pendant 20 minutes à l'obscurité. La réaction a été terminée par l'addition de 100 mL de réactif FOX DJOVA Steve Valdi/thèse de *Doctorat/Ph.D* de l'Université de Yaoundé I

constitué d'acide sulfurique (30 mM), d'orange de xylénol (100 mM), de sulfate de fer (II) dans le méthanol/eau (9 : 1). Pour le contrôle, seule la solution de LOX et le tampon ont été pipetés dans les puits. Les blancs contenaient l'enzyme LOX pendant l'incubation, mais le substrat (acide linoléique) a été ajouté après le réactif FOX. L'activité inhibitrice de LOX a été évaluée en calculant le pourcentage d'inhibition de la production d'hydroperoxyde à partir des changements des valeurs d'absorbance à 560 nm après 30 minutes d'incubation à 25 °C.

$$\%I = \frac{DO_{\text{control}} - DO_{\text{blanc}}}{DO_{\text{échantillon}} - DO_{\text{blanc}}} \times 100$$

Légende : La Do control est l'absorbance du contrôle positif, la Do du blanc est l'absorbance du blanc et la Do de l'échantillon est l'absorbance de l'extrait testé.

II-2-8-2) Test de dénaturation du sérum albumine bovine (BSA)

L'inhibition de la dénaturation des protéines a été réalisée comme décrite par **Sakat *et al.* (2010)** avec de légères modifications. Une solution d'essai consistant en 1 mL de différentes concentrations de préparation d'extraits allant de 1000-50 µg/mL ou de Sodium Diclofénac 100 et 200 µg/mL a été mélangée avec 1 mL de solution d'albumine d'oeuf (1 mM) et incubée à 27 ± 1° C pendant 15 minutes. La dénaturation a été induite en maintenant le mélange réactionnel à 70 °C dans un bain d'eau chaude pendant 10 minutes. Après refroidissement, la turbidité a été mesurée en utilisant le spectrophotomètre **Jenway 6305** à 660 nm. Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation a été calculé à partir du blanc où aucun extrait ou médicament n'a été ajouté. Chaque expérience a été faite en triple et la moyenne a été prise.

$$\%I = \frac{DO_{\text{extrait}} - DO_{\text{blanc}}}{DO_{\text{extrait}}} \times 100$$

Légende : La Do du blanc est l'absorbance du blanc et la Do de l'échantillon est l'absorbance de l'extrait testée.

II-2-8-3) Test d'inhibition de la protéinase

L'activité anti-protéinase des extraits a été déterminée en utilisant la méthode décrite par **Oyedepo *et al.* (1995)** avec de légères modifications. Le mélange réactionnel contenant 0,06 mg de trypsine, 1 mL de 20 mM du tampon tris HCl (pH 7,4), la protéine caséine à 0,08 % (W/V) et 1 mL d'échantillons à tester à différentes concentrations variant de 1-250 µg/mL. Le mélange réactionnel a été incubé à 37 °C pendant 20 min, 2 mL de 70 % de l'acide perchlorique a été ajouté pour terminer la réaction. La solution obtenue a été centrifugée à 3000tr/min pendant 10 min ; le surnageant a été récupéré et l'absorbance mesurée à 210 nm contre le tube blanc. L'expérience a été menée en triple et le pourcentage d'inhibition a été calculé en utilisant la formule ci-dessous :

$$\%I = \frac{DO_{\text{extrait}} - DO_{\text{blanc}}}{DO_{\text{extrait}}} \times 100$$

Légende : La Do du blanc est l'absorbance du blanc et la Do de l'échantillon est l'absorbance de l'extrait testée.

II-2-9) Procédure de fractionnement

II-2-9-1) Méthode de partition

Les extraits aqueux des écorces des deux plantes ont été solubilisés séparément dans le système de solvants méthanol/eau distillée (80-20) puis le partage a été effectué avec l'hexane pour éliminer les huiles et la chlorophylle et l'épuisement de la phase résiduelle MeOH/H₂O à l'acétate d'éthyle a donné la fraction à l'acétate d'éthyle avec une masse de 1033 mg pour *O. schweinfurthiana* et 918 mg pour *A. schweinfurthii*.

II-2-9-2) Procédure LC/MS

Les fractions à l'acétate d'éthyle ont été analysées par la LC couplée à la spectroscopie de masse suivant la méthode décrite par **Abay *et al.* (2015)** avec des légères modifications. Les spectres de masse à haute résolution ont été obtenus à l'aide d'un spectromètre OTOF (Bruker, Allemagne) équipé d'une source HESI. Le spectromètre a été utilisé en mode positif (plage de masse : 100-1000, avec une vitesse de 1,00 Hz) avec contrôle automatique pour fournir des mesures de masse de haute précision avec un écart de 2 ppm en utilisant du formate de sodium comme agent d'étalonnage. Le spectromètre a été relié à un système HPLC constitué d'une pompe LC, un détecteur de barrette de diodes (DAD) ($\lambda = 260$ nm), un échantillonneur automatique (volume d'injection de 5 µL). Les analyses MS ont été effectuées

en mode de surveillance des réactions multiples (MRM) en mesurant les produits de fragmentation des ions pseudomoléculaires protonés des extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* et leurs standards internes dans trois fenêtres de fragmentation différentes. La tension ESI a été fixée à 4,5 kV. Les paramètres ont été optimisés par injection des formes de rétention extrême, évaluation des pics et formes. Un four à colonne en phase inverse C₁₈ (30 °C) a été utilisé. La phase mobile isocratique était composée de deux solvants eau/AcN à différentes concentrations eau/AcN 95:5 et eau/AcN 90:10. Le point de départ a été utilisé pour l'équilibrage de la colonne. L'azote était utilisé comme gaz à 40 psi. Le débit de gaz sec a été réglé à 8 L/min et la température capillaire à 200 °C.

II-2-9-3) Le fractionnement par chromatographie sur colonne

L'analyse par LC-MS des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* a permis de voir les constituants phytochimiques ainsi que les propriétés physico-chimiques des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii*. Ceci a permis de choisir les systèmes solvants et proportions appropriés pour le fractionnement par chromatographie sur colonne en utilisant la méthode décrite par **Lhuillier et al. (2007)**. La colonne de gel de silice (63-200 µm, photo en Annexe 3) a été remplie par voie humide avec la silice et avec le chlorure de méthylène. La pression atmosphérique a été appliquée pour vérifier le bon remplissage de la colonne. Pour la préparation de l'amalgame, 1033 g de la fraction à l'acétate d'éthyle (pour l'extrait aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana*) et 918 mg (extrait aqueux des écorces de *A. schweinfurthii*) a été fixé à la silice. Après 24 h de séchage, le mélange (la fraction à l'acétate d'éthyle fixé à la silice) a été introduit dans la colonne. L'élution s'est réalisée avec un système de solvants (chlorure de méthylène/méthanol) de polarités croissantes.

La portion acétate d'éthyle de l'extrait aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* (1033 mg) a mis en évidence la présence des composés 9, 10, 13, 14, 15 et 17 dans l'extrait d'écorce de *O. schweinfurthiana*. Cette partie a été soumise à une chromatographie sur gel de silice, en éluant avec des gradients (50 ; 50/1 ; 35/1 ; 20/1 ; 10/1 ; 5/1 et 1/1) de CH₂Cl₂/MeOH pour produire 75 fractions de 350 mL, combinées sur la base de leurs profils CCM en 3 sous-fractions. A (96 mg; 1-25), B (160 mg; 26-50) et C (200 mg; 51-75).

La portion à l'acétate d'éthyle de l'extrait aqueux des écorces de *A. schweinfurthii* (918 mg) met en évidence la présence des composés 3, 4, 8, 11, 13, 17, 20 et 21. Elle a été soumise à une chromatographie sur colonne sur gel de silice, en éluant avec les gradients (10/1 et 5/1)

de CH₂Cl₂/MeOH pour produire 15 fractions de 45 mL combinées sur la base de leurs profils de CCM en une grande sous-fraction nommée D (105 mg).

-Principe

Il s'agit d'une séparation par élution gravitationnelle résultant de deux forces à savoir la force d'absorption qui dépend de l'affinité des composés à séparer dans la phase stationnaire et la force d'élution qui est fonction de la solubilité des composés à séparer dans la phase mobile.

II-2-10) Test de cytotoxicité

II-2-10-1) Test de cytotoxicité par le MTT

-Mode opératoire

Le test MTT [bromure de 3- (4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényltétrazolium] décrit par **Mosmann, (1983)** a été utilisé pour évaluer la viabilité des cellules après leur exposition aux substances à tester. Les extraits aqueux actifs des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii*, la fraction A, la fraction B et la fraction C ont été testés pour la cytotoxicité contre la lignée cellulaire Vero (rein de singe africain), MCF-7 et MDA-MB-361. Les cellules Vero ont été cultivées dans un milieu essentiel minimal stérile (MEM, Sigma) additionné de 0,1 % de gentamicine (Virbac) et 5 % de sérum de veau fœtal (FCS, Sigma) dans un flacon de 75 cm² incubé à 37 °C dans 5 % de CO₂. Les cellules MCF-7 ont été cultivées dans le milieu essentiel minimal stérile (MEM) supplémenté de 0,01 mg/mL d'insuline recombinant humain et 10 % de sérum de veau fœtal dans un flacon incubé à 37 °C dans 5 % de CO₂. Les cellules MDA-MB-361 ont été cultivées dans le milieu ATCC-formulé RPMI 1640 + 10 % sérum de veau fœtal dans un flacon incubé à 37 °C dans 5 % de CO₂. Après une semaine d'incubation, le milieu a été décanté et les cellules adhérant au fond du ballon ont été lavées deux fois avec 20 mL de solution saline tamponnée au phosphate (PBS, Sigma). Après l'étape de lavage, la trypsine (3 mL) a été ajoutée aux cellules qui ont ensuite été incubées à 37 °C pendant 20 minutes pour permettre le détachement des cellules du flacon. Lorsque les cellules se sont détachées du flacon, du MEM contenant du FCS a été ajouté pour arrêter l'action enzymatique de la trypsine. Les cellules ont été versées dans des tubes de centrifugation et centrifugées pendant 2 minutes à 200 g. Les cellules ont été remises en suspension à une concentration de 5 x 10⁴ cellules/mL et 100 µL ont été ajoutés à chaque puits des colonnes 2 à 11 de plaques de microtitrage à 96 puits. Du milieu essentiel minimal (200 µL) a été ajouté aux puits des colonnes 1 et 12 pour maintenir l'humidité. Les microplaques ont été incubées pendant une

nuit à 37 °C dans un incubateur à 5 % de CO₂ jusqu'à ce que les cellules soient dans la phase de croissance exponentielle, pour permettre la fixation des cellules au fond des microplaques. Les cellules attachées dans des microplaques à 96 puits ont été utilisées pour l'essai de cytotoxicité. Les extraits de plantes bioactifs ont été remis en suspension dans de l'éthanol/DMSO jusqu'à une concentration de 80 µg/mL et stérilisés par filtration avant d'être dilués dans du MEM frais aux concentrations requises. Les concentrations testées variaient de 80 à 2,5 µg/mL. Les dilutions de l'extrait végétal (100 µL) ont été pipetées dans les puits des microplaques en quadruple. Les microplaques ont été incubées à 37 °C dans un incubateur à 5 % de CO₂ pendant 48 h. Après incubation avec des extraits d'essai, les cellules ont été examinées en utilisant un microscope inversé pour détecter les effets cytopathiques (CPE). Le milieu essentiel minimal contenant des extraits de plantes a été retiré et chaque puits a été rincé immédiatement avec du PBS, et du MEM frais (200 µL) a été ajouté aux puits. Une concentration de 5 mg/mL de MTT dans du PBS a été préparée, et 30 µL de la solution ont ensuite été ajoutés à chaque puits, ensuite les plaques ont été incubées pendant 4 h supplémentaires à 37 °C. Le milieu a été retiré des puits après 48 h d'incubation et 50 µL de DMSO ont été ajoutés à chaque puits pour dissoudre les cristaux de formazan. Les plaques ont été doucement agitées jusqu'à dissolution avant la lecture. La quantité de réduction de MTT a été évaluée en mesurant l'absorbance à une longueur d'onde de 570 nm (longueur d'onde de référence de 630 nm) dans un lecteur de microplaque. Les puits sans cellules qui ne contenaient que le milieu ont été utilisés comme control. Le pourcentage de viabilité cellulaire a été calculé en utilisant la formule de **Mosmann (1983)** suivante :

$$\text{Pourcentage de viabilité} = \frac{\text{DO}_{\text{extrait}}}{\text{DO}_{\text{control}}} \times 100$$

Légende : DO_{extrait} : l'absorbance de l'extrait, DO_{control} : l'absorbance du control.

A partir de la courbe du pourcentage de viabilité cellulaire en fonction de la concentration, les concentrations létales (LC₅₀) qui permettent de tuer 50 % des cellules sont calculées en utilisant la droite de regression $y = ax + b$.

II-2-10-2) Détermination de l'indice de sélectivité

L'indice de sélectivité des extraits aqueux de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* a été calculé d'une part pour comparer l'effet pharmacologique et l'effet délétère de ces extraits sur la cellule Véro en utilisant la formule ci-dessous :

$$I_s = \frac{LC_{50} \frac{\mu g}{mL}}{IC_{50} \frac{\mu g}{mL}}$$

Légende : Dans cette formule, la LC₅₀ représente la dose létale qui tue 50 % des cellules et la IC₅₀ est la concentration inhibitrice des tests d'inhibition de la 15-lipoxygénase et de l'ABTS.

Pour voir la cytotoxicité sélective des extraits et des fractions testés sur les cellules cancéreuses MDA-MB-361 et MCF-7 utilisés dans ce travail ; dans la formule précédente, la IC₅₀ a été remplacée par la LC₅₀ obtenue après l'exposition des extraits et fractions sur la cellule MDA-MB-361 et sur la cellule MCF-7.

II-2-10-3) Etude de l'effet des extraits et fractions sur la cinétique de viabilité des cellules MDA-MB-361 et MCF-7

A l'issue de l'évaluation de la cytotoxicité des extraits actifs ainsi que les fractions, les extraits et fractions ayant présenté une toxicité sélective sur les cellules MDA-MB-361 et MCF-7 ont été sélectionnés pour suivre leur effet sur la cinétique de croissance des cellules testées. Elle a été mise en évidence par la méthode modifiée décrite par **Mosmann, (1983)**. La dose létale a été utilisée pour déterminer cette cinétique de viabilité.

Le test a consisté à suivre la cinétique de viabilité des lignées cellulaires MDA-MB-361 et MCF-7 en fonction du temps. La mesure de l'absorbance (570 nm) a été faite à des intervalles de temps suivant : 0 min, 6 h, 12 h et 24 h pour lesdites cellules. Les pourcentages de viabilité cellulaire ont été calculés à chaque intervalle de temps ; ce qui a permis de représenter le pourcentage de viabilité cellulaire en fonction du temps.

II-2-11) Test de génotoxicité

Les effets génotoxiques potentiels des feuilles et des écorces de *O. schweinfurthiana* et de *A. schweinfurthii* ont été étudiés à l'aide des souches mutantes TA 98 et TA 100 de *Salmonella typhimurium* (**Maron et Ames, 1983**).

Brièvement, 0,1 mL de solution stock bactérienne à la concentration de 1x10⁹ cellules/mL a été incubée dans 20 mL de bouillon Oxoid Nutrient (Fluka) pendant 16 h à 37

°C sur un agitateur rotatif. A cette culture d'une nuit, 0,1 mL a été ajouté à 2 mL d'Agar supérieur (contenant des traces de biotine et d'histidine) avec 0,1 mL de solution d'essai (échantillon d'essai, témoin de solvant ou témoin positif) et 0,5 mL de tampon phosphate. Le mélange d'agar supérieur a été versé sur la surface d'une plaque d'agar minimale et incubé pendant 48 h à 37°C. Après incubation, les colonies révertantes (mutants) ont été comptées. Les témoins négatifs utilisés dans cette étude étaient le 4- nitroquinoline 1-oxyde (4-NQO) (Sigma) à des concentrations de 2 et 1 µg/mL pour *Salmonella typhimurium* TA 98 et TA 100 respectivement et l'eau. Toutes les cultures ont été faites en triple (à l'exception du contrôle du solvant où cinq répétitions ont été faites).

II-2-12) Méthode d'isolement et d'identification des composés purs

II-2-12-1) Isolement par chromatographie sur colonne

L'analyse par LC-MS des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* a permis de voir les constituants phytochimiques ainsi que les propriétés physico-chimiques des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii*. Ceci a permis de choisir les systèmes solvants et proportions appropriés pour l'isolement des composés par chromatographie sur colonne remplie par voie humide avec le gel de séphadex en utilisant la méthode décrite par **Lhuillier et al. (2007)**. L'élution s'est réalisée avec un système de solvants (chlorure de méthylène/méthanol) de polarités croissantes.

La sous-fraction D (CH₂Cl₂/MeOH; 30/1) a été purifiée par chromatographie sur colonne de séphadex LH-20 avec des gradients (CH₂Cl₂/MeOH; 30/1 et 20/1) pour donner le composé 17 (25 mg).

La sous-fraction B (CH₂Cl₂/MeOH; 20/1) a été purifiée par chromatographie sur colonne de gel de séphadex LH-20 avec des gradients (CH₂Cl₂/MeOH; 20/1; 10/1 et 8/1) pour donner les composés 13 (7,24 mg); 14 (61 mg) et 15 (2,5 mg).

La sous-fraction A (CH₂Cl₂/MeOH; 5/1) a été purifiée par chromatographie sur colonne de gel de séphadex LH-20 MeOH (Photo en Annexe 3) avec un gradient (CH₂Cl₂/MeOH; 5/1) pour donner les composés 9 (74 mg) et 10 (13,6 mg).

La sous-fraction C (CH₂Cl₂/MeOH 10/1) a été purifiée par chromatographie sur colonne de gel de séphadex LH-20 MeOH avec des gradients (CH₂Cl₂/MeOH 10/1, 5/1) pour donner le composé 3 (15 mg) et le composé 4 (17 mg).

-Principe

Il s'agit d'une séparation par élution gravitationnelle résultant de deux forces à savoir la force d'absorption qui dépend de l'affinité des composés à séparer dans la phase stationnaire et la force d'élution qui est fonction de la solubilité des composés à séparer dans la phase mobile.

-Calcul de la masse relative des composés dans les extraits

La LC/MS est une technique qui permet de mener une étude minutieuse sur l'analyse qualitative et quantitative des constituants d'un mélange. Ainsi, dans le cadre de cette étude, nous avons déterminé la masse relative des différents composés constituant les extraits étudiés. La formule ci-dessous a été utilisée pour déterminer cette masse.

$$\% \text{ composé} = \frac{W_{\text{composé}}}{\sum W_{\text{composés}}} * 100$$

Où $W_{\text{composé}}$ est l'aire du composé

Le pourcentage de chaque composé calculé permet de déterminer la masse relative de chaque composé en utilisant la masse de l'extrait injectée dans la colonne (0,05 mg). Les résultats sont présentés en Annexe 7 pour *O. schweinfurthiana* et en Annexe 8 pour *A. schweinfurthii*.

II-2-12-2) Chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince est utilisée pour suivre le fractionnement (les différentes fractions sont regroupées selon l'allure des tâches sur les plaques CCM) et pour se rassurer de la pureté des composés isolés. Ces plaques sont ensuite plongées dans des cuves chromatographiques, remplies à environ 0,5 cm avec une phase mobile, qui était dans le cadre de cette étude un mélange binaire de solvants MeOH et CH₂Cl₂, selon le type de séparation recherchée.

Par la suite, la révélation a été effectuée sur chaque plaque développée selon le même ordre, à savoir :

- Observation de l'extinction de la fluorescence à 254 nm
- Observation de la fluorescence à 366 nm
- Révélation par pompage de l'acide sulfurique puis chauffage de la plaque CCM par une plaque chauffante.

La procédure d'isolement est résumée par les Figures 22 et 23 ci-dessous :

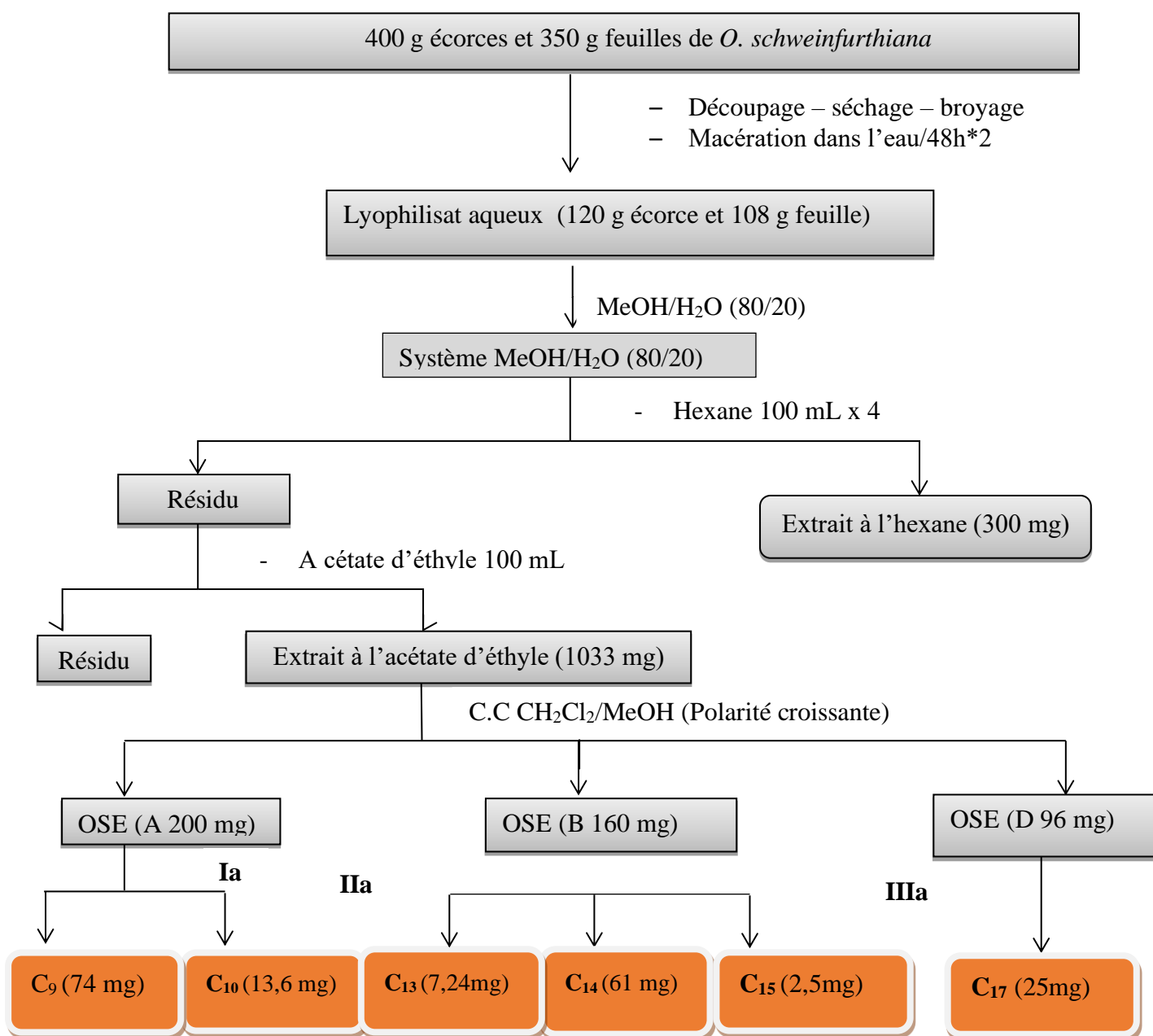


Figure 22 : Protocole d'extraction et d'isolement des composés des écorces de *O. schweinfurthiana*

Légende :

(Ia) : C.C gel de silice (CH₂Cl₂/MeOH : 5/1)

(IIa) : C.C gel de silice (CH₂Cl₂/MeOH : 20/1)

(IIIa) : C.C gel de silice (CH₂Cl₂/MeOH : 30/1 et 20/1)

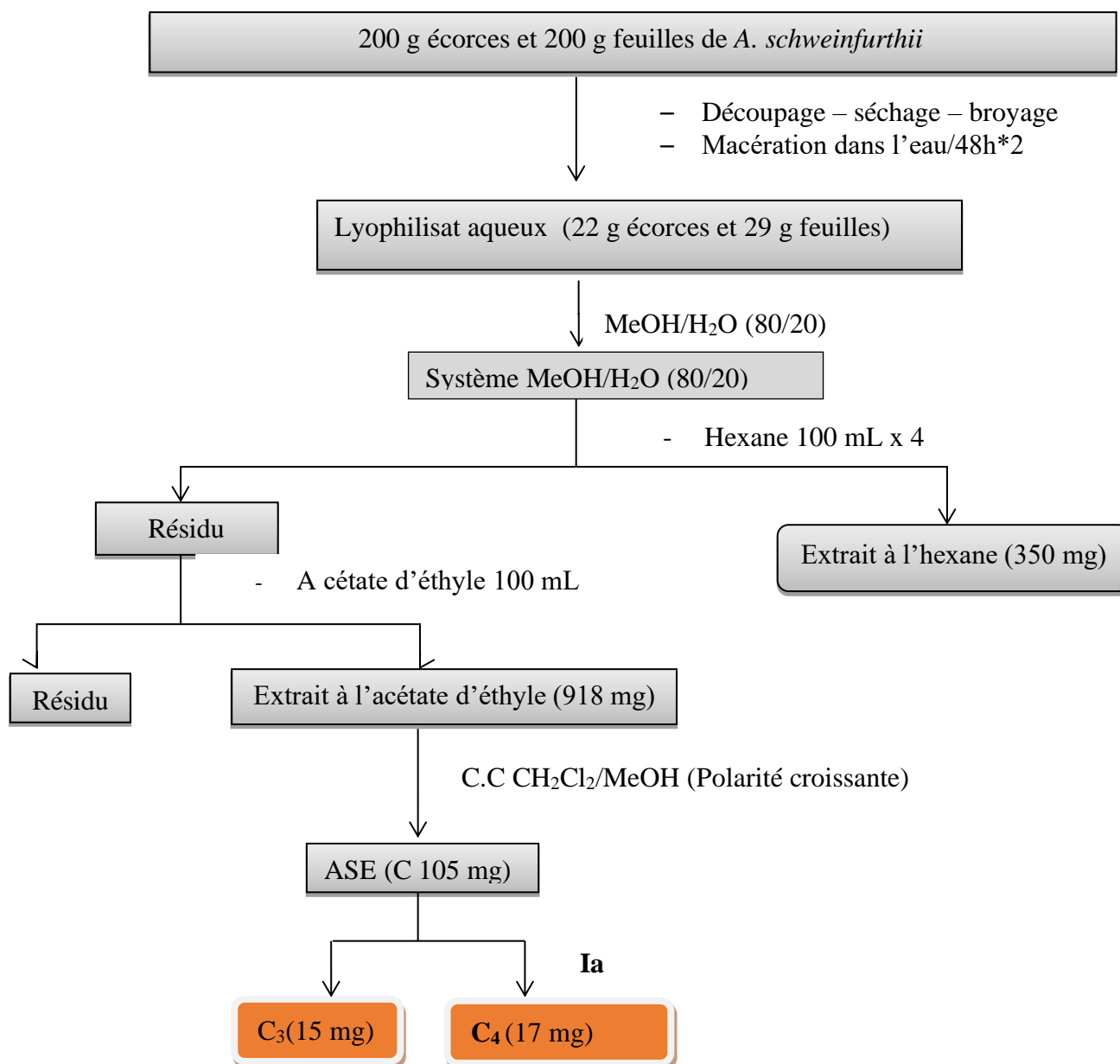


Figure 23 : Protocole d'extraction et d'isolement des composés des écorces de *A. schweinfurthii*

Légende :
(Ia) : C.C gel de silice (CH₂Cl₂/MeOH : 10/1 ; 5/1 et 1/1)

Les composés isolés ont été identifiés en comparant avec les données de la revue de la littérature en utilisant la base de données SciFinder.

II-2-12-3) Identification des composés purs isolés

Les composés isolés ont été identifiés en utilisant la LC couplée à la spectroscopie de masse suivant la méthode décrite par **Abay *et al.* (2015)**, et aussi grâce à la base de données SciFinder et par comparaison avec les données de la revue de la littérature.

II-2-13) Analyses statistiques et représentations graphiques des courbes

Les représentations graphiques ont été obtenues en utilisant le Tableur Windows Microsoft Excel 2013 et le logiciel GraphPad/Prism 7, et les analyses statistiques ont été effectuées en utilisant les logiciels GraphPad/Prism 7 et ANOVA SPSS 23, student t-test, avec un seuil de significativité $p < 0,05$.

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

III-1-1) Rendement d'extraction des extraits aqueux de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii*

Le Tableau I ci-dessous récapitule les résultats des rendements d'extraction obtenus à partir des extraits aqueux des feuilles et des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii*.

Tableau I : Rendements d'extraction

Extraits bruts	Masse sèche (g)	Masse d'extraits (g)	Rendement d'extraction (%)
Ecorce <i>O. schweinfurthiana</i>	200	29	14,5
Feuille <i>O. schweinfurthiana</i>	200	22	11
Ecorce <i>A. schweinfurthii</i>	400	120	24
Feuille <i>A. schweinfurthii</i>	350	108	30,85

Les rendements d'extraction obtenus variaient entre 11-30,85 % avec 11 et 14,5 % respectivement pour les extraits aqueux des feuilles et des écorces de *A. schweinfurthii* et 24 et 30,85 % respectivement pour les extraits aqueux des feuilles et écorces de *O. schweinfurthiana*.

III-1-2) Screening phytochimique

Les différents tests effectués selon la méthode standard décrite par **Harborne, (1998)** ont permis d'identifier les différentes familles de composés présents dans les écorces et feuilles de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* (Tableau II). Il ressort de ce tableau, que les tanins catéchiques sont abondants dans les extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana*, mais aussi que les flavonoïdes, les stéroïdes et les triterpènes y sont présents dans ceux-ci. Les extraits aqueux des écorces et feuilles de *A. schweinfurthii* sont riches en alcaloïdes, on note la présence des saponines, les triterpènes et les stéroïdes dans ces extraits.

Tableau II : Récapitulatif du screening phytochimique

Classes de composés	<i>O. schweinfurthiana</i>		<i>A. schweinfurthii</i>	
	écorce	feuille	écorce	feuille
Phénols	-	+	+	-
Polyphénols	+	-	-	-
Flavonoïdes	+	+	-	+
Tanins C.	++	++	++	-
Stéroïdes	+	+	+	+
Saponines	-	++	+	+
Alcaloïdes	+	-	++	++
Triterpènes	+	+	+	+

Légende : (+) Présence du composé; (++) Abondance du composé; (-) Absence du composé

III-1-3) Evaluation *in vitro* et *in vivo* de l'activité antioxydante de *Ochna schweinfurthiana* et *Anthocleista schweinfurthii*

III-1-3-1) Evaluation de l'activité antioxydante *in vitro*

L'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* des extraits a commencé par le dosage de la teneur en polyphénols avec la méthode spectrophotométrique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. A l'issue de ce dosage, les teneurs en antioxydants primaires ou antioxydants curatifs et en antioxydants secondaires ou antioxydants préventifs ont été déterminées et résumées dans le Tableau III ci-dessous.

Tableau III : Récapitulatif de la teneur des polyphénols dans les extraits étudiés

Echantillons	Q _{Antioxydants}	Antioxydants	Antioxydants
	Antioxydant	Primaires	Secondaires
	(mg EAA/g extrait)	(mg EAA/g extrait)	(mg EAA/g extrait)
Ecorce <i>A. schweinfurthii</i>	985 ± 32 ^a	84.513 ± 9,112 ^a	681,91 ± 25,68 ^a
Feuilles <i>A. schweinfurthii</i>	260 ± 10 ^d	13,52 ± 2,47 ^c	113,49 ± 2,47 ^d
Ecorces <i>O. schweinfurthiana</i>	771 ± 28 ^b	61 ± 4 ^b	537 ± 32 ^b
Feuilles <i>O. schweinfurthiana</i>	371 ± 22 ^c	17,2 ± 5,1 ^c	171,62 ± 14,5 ^c

Légende : Les valeurs de la même colonne ayant la même lettre sont statistiquement identiques alors que celles ayant des lettres différentes sont statistiquement différents avec $p < 0,05$.

Il ressort de ce tableau que les extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* possèdent les plus fortes teneurs en antioxydants respectivement de 771 ± 28 mg

EAA/g extrait et 985 ± 32 mg EAA/g extrait ; de même, ces extraits sont majoritairement constitués des antioxydants secondaires avec les teneurs de 537 ± 32 mg EAA/g extrait et $681,91 \pm 25,68$ mg EAA/g extrait respectivement pour les extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et les extraits aqueux des écorces de *A. schweinfurthii*.

III-1-3-1-1) Test du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazile (DPPH)

Au tout début de l'évaluation de l'activité antiradicalaire avec le test de DPPH, la Figure 24 montre l'étude cinétique de la réactivité du DPPH avec les extraits des feuilles et des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii*. Elle a consisté à suivre la réactivité du DPPH au cours du temps avec les différents composés à tester en effectuant une mesure de l'absorbance toutes les 30 minutes pendant 120 minutes. L'ensemble de cette étude est résumé dans le Tableau IV ci-dessous.

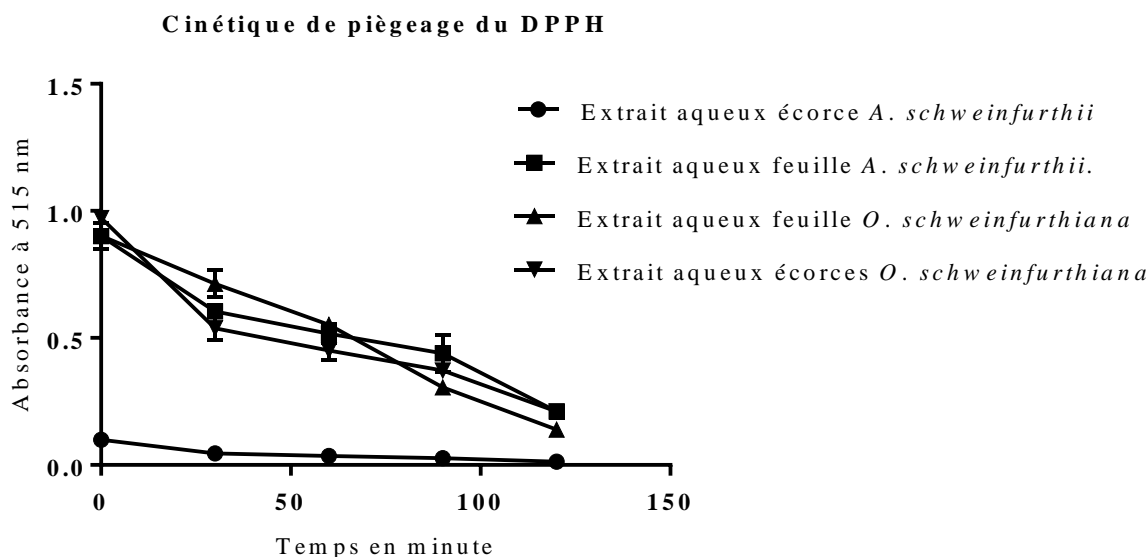


Figure 24 : Cinétique de piègeage du DPPH par les extraits aqueux des écorces et des feuilles de *A. schweinfurthii* et *O. schweinfurthiana*

Tableau IV : Cinétique de piègeage des radicaux libres des extraits aqueux des feuilles et des écorces

Echantillons	<i>A. schweinfurthii</i>		<i>O. schweinfurthiana</i>	
	écorce	feuille	écorce	feuille
Cinétique	lente	lente	lente	lente

En se référant aux travaux de Nyegue (2006) qui a défini trois types de cinétiques, la cinétique rapide dont la décoloration du DPPH est quasi instantanée et l'état stationnaire est

atteint après 10 minutes de réaction avec le DPPH ; la cinétique intermédiaire, donc l'état stationnaire est atteint au bout de 20 minutes et la cinétique lente correspondant à des réactions de 120 min environ avec le DPPH. Nous remarquons que les extraits étudiés ont une cinétique lente, dont l'état stationnaire est atteint après 120 minutes de réaction avec le DPPH.

Les Figure 25 et 26 ci-dessous représentent respectivement le pourcentage de piégeage du radical DPPH en fonction des concentrations des extraits et le pourcentage de piégeage du DPPH en fonction des concentrations des molécules de références à savoir l'acide ascorbique et le BHT.

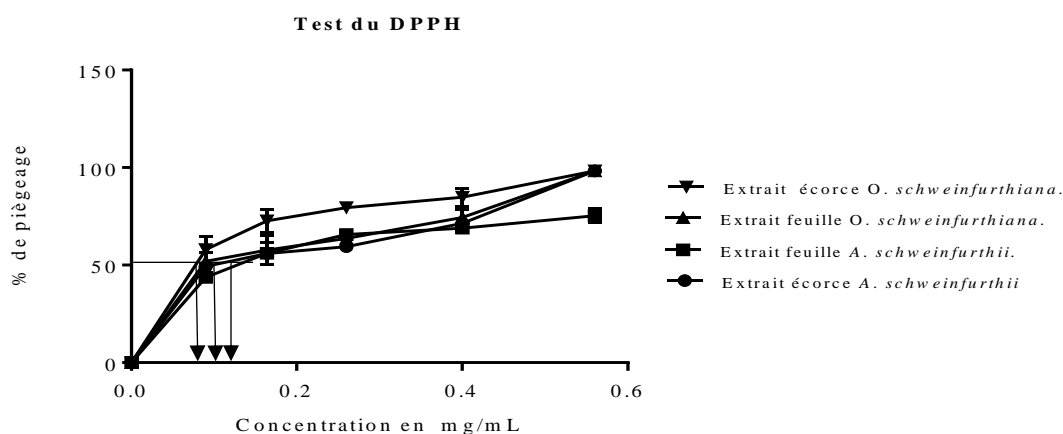


Figure 25 : Variation du pourcentage de piégeage du DPPH en fonction de la concentration des extraits aqueux des écorces et des feuilles de *A. schweinfurthii* et *O. schweinfurthiana*

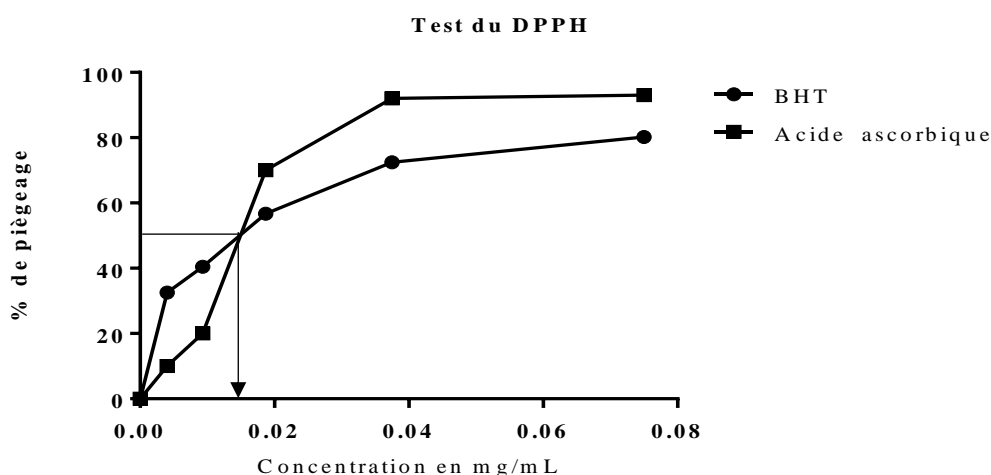


Figure 26 : Courbe de variation du pourcentage de piégeage du DPPH en fonction de la concentration de l'acide ascorbique et du BHT

A partir de ces courbes, les concentrations des extraits qui permettent d'inhiber 50 % des radicaux de DPPH (SC_{50}) ont été déterminées par projection graphique et en utilisant l'équation de la droite de régression $y = ax + b$, à partir de la SC_{50} , la concentration efficace qui permet de piéger $1/2$ de la quantité de DPPH (CE_{50} exprimée en mg Ex/g de DPPH) ainsi que le pouvoir antiradicalaire (PA) ont été déterminés et résumés à des fins comparatives dans le Tableau V ci-dessous.

Tableau V : Récapitulatif des résultats de l'activité antiradicalaire *in vitro* par le DPPH

Substances testées	SC_{50} en mg/mL	CE_{50} en mg Ex/g de DPPH	PA
Extrait aqueux feuille <i>A. schweinfurthii</i> .	$0,17 \pm 0,015^c$	4250 ± 381^c	$0,2 \pm 0,02^b$
Extrait aqueux écorce <i>A. schweinfurthii</i>	$0,172 \pm 0,011^b$	3000 ± 288^b	$0,3 \pm 0,03^b$
Extrait aqueux écorce <i>O. schweinfurthiana</i>	$0,171 \pm 0,005^c$	4275 ± 367^c	$0,23 \pm 0,02^b$
Extrait aqueux feuille <i>O. schweinfurthiana</i>	$0,191 \pm 0,012^b$	4775 ± 412^c	$0,209 \pm 0,01^b$
Acide Ascorbique	$0,019 \pm 0,0008^a$	$483,33 \pm 38,18^a$	$2,1 \pm 0,09^a$
BHT	$0,002 \pm 0,015^a$	$483,33 \pm 28,86^a$	$2,1 \pm 0,07^a$

Légende : Les valeurs qui ont les mêmes lettres dans une même colonne, sont statistiquement identiques tandis que celles qui ont des lettres différentes sont statistiquement différentes avec un seuil de significativité $P < 0,05$.

L'analyse de ce tableau montre que les extraits aqueux des feuilles et écorces d'*Anthocleista schweinfurthii* possèdent la même activité antiradicalaire, statistiquement identique avec respectivement des pouvoirs antiradicalaires de $0,2 \pm 0,02$ et $0,3 \pm 0,03$; de même les extraits aqueux des feuilles et des écorces de *Ochna schweinfurthiana* possèdent une activité antiradicalaire statistiquement identique, avec les PA respectifs de $0,23 \pm 0,01$ et $0,209 \pm 0,01$. Nous remarquons que l'activité des extraits testés est inférieure à celle des molécules de référence à l'occurrence l'Acide ascorbique donc le PA est $0,21 \pm 0,0$ et le BHT dont le PA est $0,21 \pm 0,07$.

III-1-3-1-2 Test radical 2,2-Azino-bis(3-ethylbenzo-thiazoline)-6-sulfonic (ABTS⁺)

L'activité antiradicalaire évaluée par le test d'ABTS est exprimée en terme de concentration de l'extrait qui permet de piéger 50 % du radical d'ABTS (SC_{50}), la concentration Efficace CE_{50} (exprimée en mg Ex/g d'ABTS) et le pouvoir antiradicalaire PA. Les Figures 27 et 28 ci-dessous représentent respectivement les courbes de piégeage de l'ABTS en fonction de la concentration des extraits testés et la courbe de piégeage de l'ABTS en fonction de la concentration de l'acide ascorbique et du BHT.

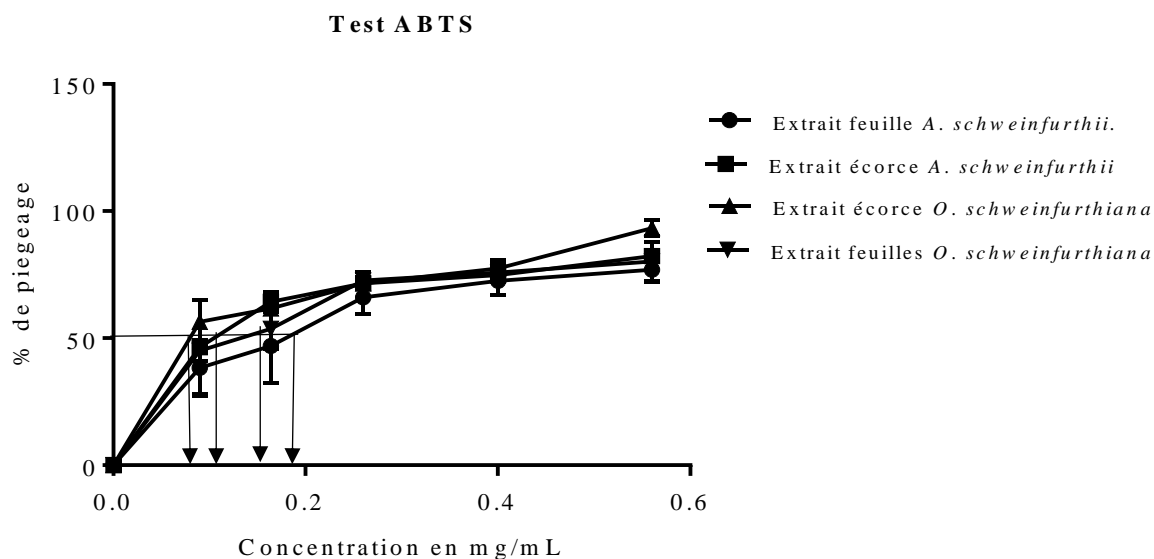


Figure 27 : Courbe de variation du pourcentage de piégeage de l'ABTS en fonction de la concentration des extraits aqueux des écorces et des feuilles de *A. schweinfurthii* et *O. schweinfurthiana*

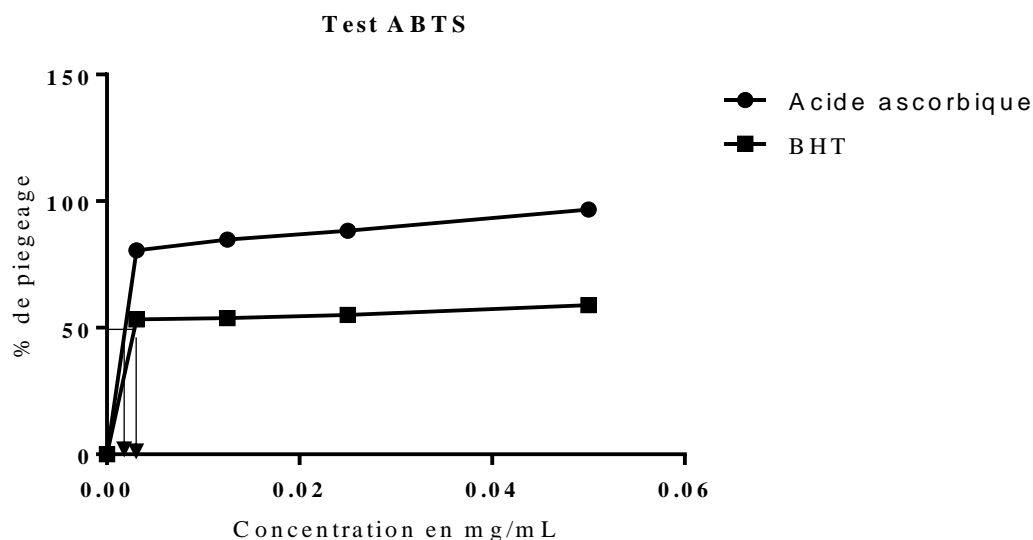


Figure 28 : Courbe de variation du pourcentage de piégeage de l'ABTS en fonction de la concentration de l'acide ascorbique et du BHT

A partir de ces courbes les SC_{50} ont été obtenues et la EC_{50} et le PA ont été déterminés et rassemblés dans le Tableau VI ci-dessous.

Tableau VI : Récapitulatif de l'activité antiradicalaire des extraits des deux plantes

Echantillons	SC ₅₀ en mg/mL	CE ₅₀ en mg Ex/g d'ABTS	PA
Extrait aqueux écorce <i>A. schweinfurthii</i>	0,153 ± 0,0033 ^{*c}	42,476±3,45 ^c	23,542±1,203 ^c
Extrait aqueux feuille <i>A. schweinfurthii</i>	0,1850 ± 0,002 ^{*d}	51,360± 4,22 ^d	19,47±2,120 ^b
Extrait aqueux feuille <i>O. schweinfurthiana</i>	0,190 ± 0,024 ^{*d}	52,748± 4,78 ^d	18,958±2,2 ^b
Extrait aqueux écorce <i>O. schweinfurthiana</i>	0,131 ± 0,021 ^{*b}	36,368±2,013 ^b	27,496±0,51 ^d
Acide ascorbique	0,0014 ± 0,00009 ^a	0,388±0,01 ^a	2,577±0,012 ^a .10 ³
BHT	0,0011 ± 0,00006 ^a	0,305±0,12 ^a	3,278±0,02 ^a . 10 ³

Légende : Les valeurs qui ont les mêmes lettres sont statistiquement identiques tandis que celles qui ont des lettres différentes sont statistiquement différentes avec un seuil de significativité $*P < 0,05$.

Il ressort de ce tableau que l'extrait aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et l'extrait aqueux des écorces de *A. schweinfurthii* possèdent la meilleure activité antiradicalaire avec des valeurs de PA respectifs de 27,496±0,51 et 23,542±1,203. Nous constatons que l'extrait aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* possède la plus forte activité antiradicalaire statistiquement supérieure à celle que l'extrait aqueux des écorces de *A. schweinfurthii*. Egalement les deux extraits ont une activité antiradicalaire inférieure aux deux molécules de référence à savoir l'acide ascorbique avec un PA = 2,577±0,012.10³ et le BHT dont le PA est 3,278±0,02^a.10³.

Le Tableau VII ci-dessous résume le pouvoir antiradicalaire des tests de DPPH et ABTS.

Tableau VII : Recapitulatif du test antiradicalaire

Echantillons	PA/DPPH	PA/ABTS
Extrait aqueux écorce <i>A. schweinfurthii</i>	0,2 ± 0,02 ^b	23,542±1,203 ^c
Extrait aqueux feuille <i>A. schweinfurthii</i>	0,3±0,02 ^b	19,47±2,120 ^b
Extrait aqueux feuille <i>O. schweinfurthiana</i>	0,23±0,02 ^b	18,958±2,2 ^b
Extrait aqueux écorce <i>O. schweinfurthiana</i>	0,209±0,01 ^b	27,496±0,51 ^d
Acide ascorbique	2,1±0,09 ^a	2,577±0,012 ^a .10 ³
BHT	2,1±0,07 ^a	3,278±0,02 ^a . 10 ³

Légende : Les valeurs qui ont les mêmes lettres sont statistiquement identiques tandis que celles qui ont des lettres différentes sont statistiquement différentes avec un seuil de significativité $P < 0,05$.

Statistiquement, l'acide ascorbique et le BHT ont les mêmes activités antiradicalaires et une activité supérieure aux quatre extraits évalués. Par contre, on constate que les extraits aqueux des écorces de *A. schweinfurthii* et *O. schweinfurthiana* ont présenté la meilleure activité antiradicalaire statistiquement identique à travers le test de DPPH. Pourtant avec le

test d'ABTS, l'extrait aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* possède une activité antiradicalaire supérieure à celle des écorces de *A. schweinfurthii*.

III-1-3-2) Capacité réductrice de *A. schweinfurthii* et *O. schweinfurthiana*

III-1-3-2-1) Test de la Capacité Réductrice Ferrique d'Antioxydant (FRAP)

La courbe d'étalonnage (Annexe 21) a permis de déterminer les pouvoirs réducteurs obtenus après les tests de FRAP. Les résultats sont résumés dans le Tableau VIII ci-dessous.

Tableau VIII : Récapitulatif de l'activité réductrice par le test de FRAP

PR en mg EAA/g extrait (FRAP)	
Echantillons	
Extrait aqueux écorce <i>A. schweinfurthii</i>	0,185 ± 0,003 ^a
Extrait aqueux feuille <i>A. schweinfurthii</i>	0,153 ± 0,002 ^b
Extrait aqueux écorce <i>O. schweinfurthiana</i>	0,191 ± 0,011 ^a
Extrait aqueux feuille <i>O. schweinfurthiana</i>	0,123 ± 0,001 ^a

Légende : Les valeurs de la même colonne ayant la même lettre sont statistiquement identiques alors que celles ayant des lettres différentes sont statistiquement différentes avec $p < 0,05$.

Dans ce test, nous remarquons également que les extraits aqueux des écorces possèdent une activité chélatrice de métaux supérieure à celle des extraits aqueux des feuilles. Par ailleurs, l'extrait aqueux des feuilles de *A. schweinfurthii* avec un pouvoir réducteur de $0,153 \pm 0,002$ possède une activité chélatrice de métaux lourds statistiquement ($p < 0,05$) supérieure à celle de l'extrait des feuilles de *O. schweinfurthiana* dont le pouvoir réducteur est $0,123 \pm 0,001$. Les extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* possèdent les plus fortes activités chélatrices des métaux. L'extrait aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* avec un pouvoir réducteur de $0,191 \pm 0,011$ mg EAA/g extrait, possède une activité réductrice statistiquement supérieure à celle des extraits aqueux de *A. schweinfurthii* avec un pouvoir réducteur de $0,185 \pm 0,003$ EAA/g extrait.

III-1-3-2-2) Test de blanchissement du β -carotène

La Figure 29 ci-dessous représente la courbe du pourcentage de piégeage du β -carotène en fonction de la concentration des différents extraits testés. Grâce à cette courbe, les pouvoirs réducteurs ont été déterminés et résumés dans le Tableau IX ci-dessous.

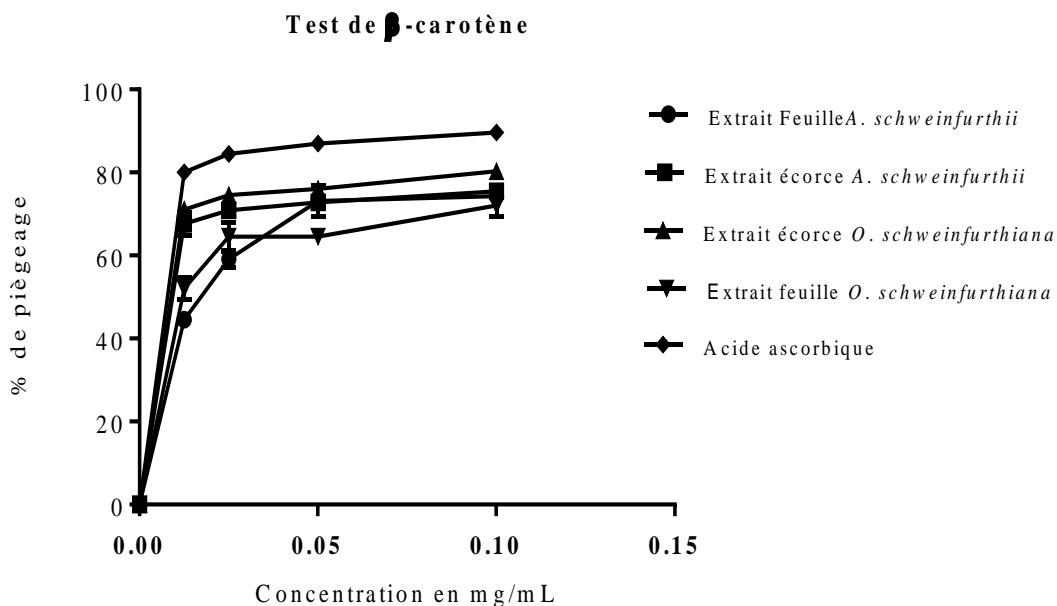


Figure 29 : Courbe de variation du pourcentage de piègeage du β -carotène en fonction de la concentration des extraits aqueux des écorces, des feuilles de *A. schweinfurthii*

Tableau IX : Récapitulatif de l'activité réductrice par le test de β -carotène

Echantillons	PR en mg EAA/g extrait
Extrait aqueux écorce <i>A. schweinfurthii</i>	$3,251 \pm 0,015^b$
Extrait aqueux feuille <i>schweinfurthii</i>	$2,123 \pm 0,012^a$
Extrait aqueux écorce <i>O. schweinfurthiana</i>	$2,541 \pm 0,003^a$
Extrait aqueux feuille <i>O. schweinfurthiana</i>	$1,231 \pm 0,015^a$

Légende : Les valeurs qui ont les mêmes lettres sont statistiquement identiques tandis que ceux qui ont des lettres différentes sont statistiquement différentes avec un seuil de significativité $P < 0,05$.

Avec le test du blanchissement du β -carotène, la capacité désactivatrice de l'oxygène activée est mesurée. Il ressort du Tableau IX que les extraits aqueux des écorces sont les plus actifs. L'extrait aqueux des écorces de *A. schweinfurthii* a un pouvoir réducteur de $3,251 \pm 0,015$ mg EAA/g extrait, statistiquement supérieur au pouvoir réducteur de l'extrait aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* dont le pouvoir réducteur est $2,541 \pm 0,012$ mg EAA/g extrait.

A l'issue de l'évaluation de l'activité réductrice des extraits aqueux des écorces et des feuilles de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* à travers le test de FRAP et de β -carotène, par comparaison des résultats obtenus, nous pouvons conclure que l'activité des extraits des

écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* est supérieure à celle des feuilles de ces plantes (Tableau X). Ces extraits sont riches en antioxydants secondaires ; ils ont présenté la meilleure activité antiradicalaire et réductrice *in vitro* par conséquent, ont été sélectionnés pour la suite du travail à savoir l'évaluation de leur activité antioxydante *in vivo* et leur activité anti-inflammatoire *in vitro*.

Tableau X : Récapitulatif des tests de réduction, FRAP et β -carotène

Echantillons	PR en mg EAA/g extrait (FRAP)	PR en mg EAA/g extrait (β -carotène)
Extrait aqueux écorce <i>A. schweinfurthii</i>	0,185 \pm 0,003 ^a	3,251 \pm 0,015 ^b
Extrait aqueux feuille <i>A. schweinfurthii</i>	0,153 \pm 0,002 ^b	2,123 \pm 0,012 ^a
Extrait aqueux écorce <i>O. schweinfurthiana</i>	0,191 \pm 0,011 ^a	2,541 \pm 0,003 ^a
Extrait aqueux feuille <i>O. schweinfurthiana</i>	0,123 \pm 0,001 ^a	1,231 \pm 0,015 ^a

Légende : Les valeurs de la même colonne ayant la même lettre sont statistiquement identiques alors que celles ayant des lettres différentes sont statistiquement différentes avec $p < 0,05$.

III-1-4) Résultat des tests antioxydants *in vivo*

III-1-4-1) Etude des effets de l'induction du stress sur les organes de détoxification

-Comparaison de la masse relative des reins entre les différents lots

La Figure 30 ci-dessous représente la courbe de comparaison de la masse des reins des rats des différents lots. Les résultats sont consignés dans le Tableau XI ci-dessous.

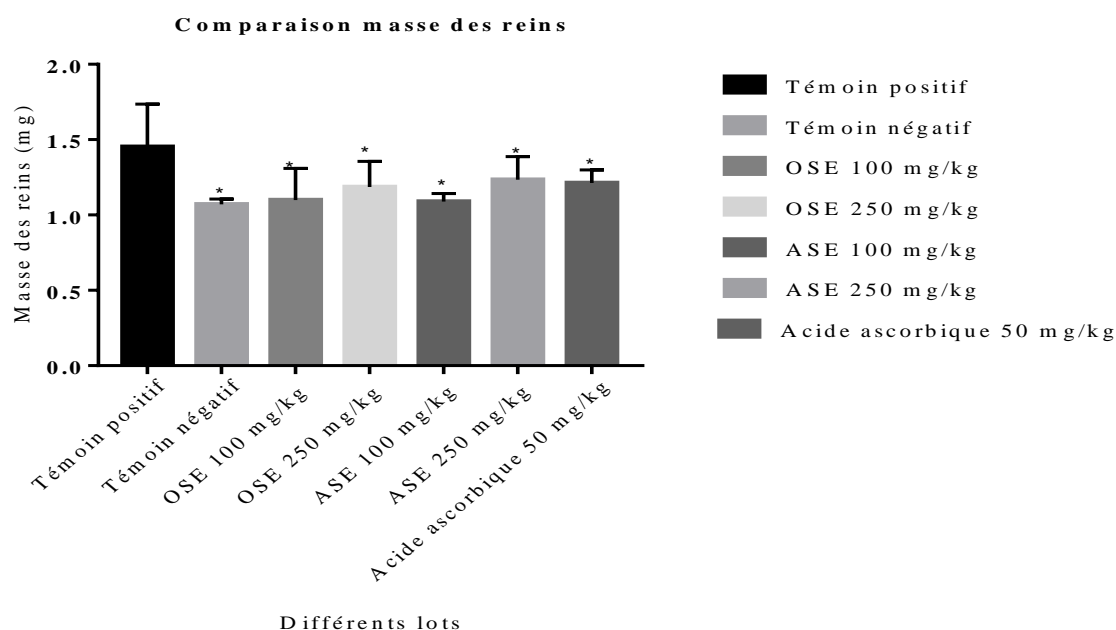


Figure 30 : Courbe de comparaison de la masse relative des reins des différents lots

Tableau XI : Masse des reins des différents lots

Echantillons des lots	Masse en mg
Témoin positif	1,451 ± 0,284
Témoin Négatif	1,0713 ± 0,034*
OSE 100 mg/kg	1,1 ± 0,209*
OSE 250 mg/kg	1,185 ± 0,170*
ASE 100 mg/kg	1,088 ± 0,054*
ASE 250 mg/kg	1,234 ± 0,152*
Acide ascorbique 50 mg/kg	1,212 ± 0,087*

Légende : Pas de différence significative entre la masse des reins entre les lots témoin positif et les autres lots
*P=0,1485

Il ressort de ce tableau, qu'il n'y a pas de différence significative entre la masse des reins des rats des lots témoins positifs (lot dont le stress a été induit sans aucun autre traitement) et la masse des reins des rats des lots expérimentaux et du témoin négatif.

-Comparaison de la masse relative du foie entre les différents lots

La Figure 31 ci-dessous est la courbe de comparaison de la masse du foie des rats des différents lots. Les résultats sont regroupés dans le Tableau XII ci-dessous.

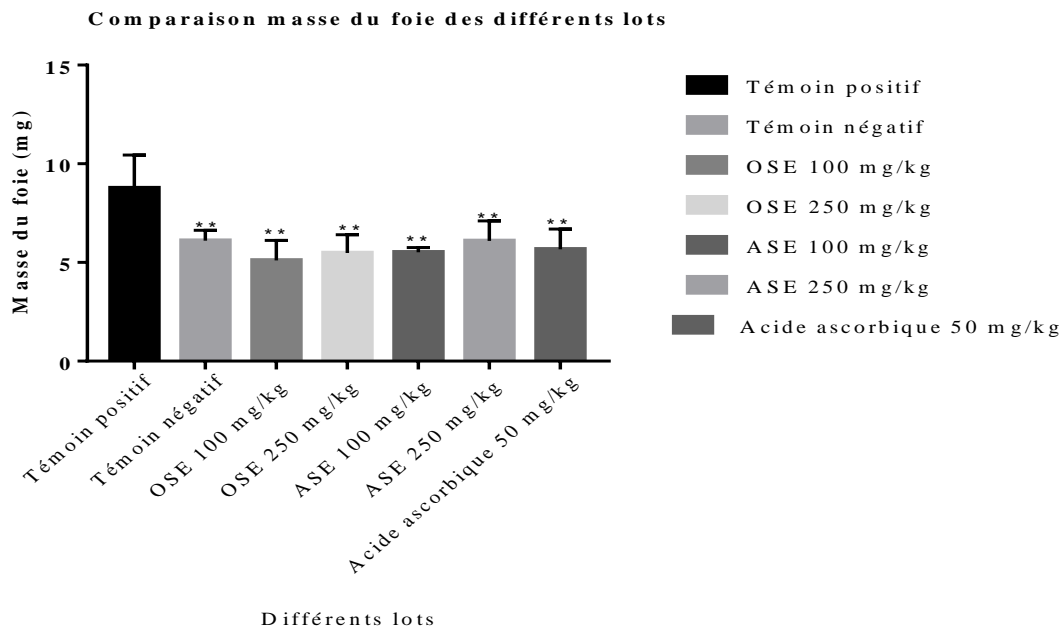


Figure 31 : Courbe de comparaison de la masse relative du foie des différents lots

Tableau XII : Masse du foie des différents lots

Echantillons des lots	Masse en mg
Témoin positif	8,77 ± 1,67
Témoin Négatif	6,10 ± 0,52**
OSE 100 mg/kg	5,10 ± 1,01**
OSE 250 mg/kg	5,48 ± 0,91**
ASE 100 mg/kg	5,51 ± 0,23**
ASE 250 mg/kg	6,09 ± 1,01**
Acide ascorbique 50 mg/kg	5,67 ± 1,02**

Légende : Différence significative entre la masse du foie entre le lot témoin positif et les autres lots (** $P < 0,0099$).

Les rats de lot positif ont une masse relative du foie de $8,77 \pm 1,67$ mg. Cette masse est significativement supérieure à la masse des autres lots. La masse élevée du foie chez les rats du lot témoin positif s'expliquerait par une hyperactivité des cellules hépatiques pour métaboliser le peroxyde d'hydrogène administré aux rats.

III-1-4-2) Résultat de la réduction du fer par le plasma sanguin

La Figure 32 ci-dessous est la représentation des concentrations inhibitrices des différents lots obtenues dans le test de réduction du fer par le plasma sanguin. Les résultats sont résumés dans le Tableau XIII ci-dessous.

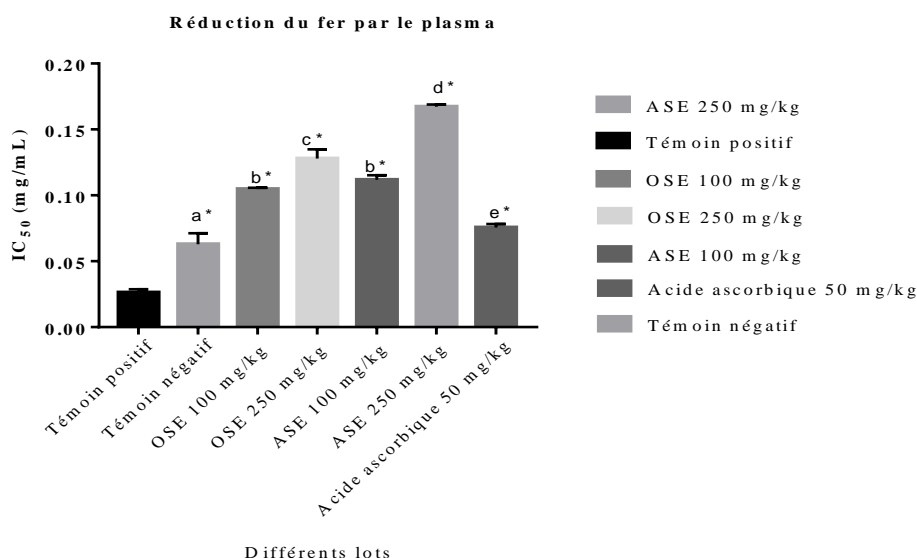


Figure 32 : Comparaison des concentrations inhibitrices en fonction des différents lots

Tableau XIII : Récapitulatif du test de réduction du fer par le plasma

Echantillons des lots	Pouvoir réducteur en mg/mL
Témoin positif	0,026 ± 0,001
Témoin Négatif	0,0630 ± 0,004 ^{a*}
OSE 100 mg/kg	0,104 ± 0,001 ^{b*}
OSE 250 mg/kg	0,128 ± 0,002 ^{c*}
ASE 100 mg/kg	0,111 ± 0,001 ^{b*}
ASE 250 mg/kg	0,167 ± 0,001 ^{d*}
Acide ascorbique 50 mg/kg	0,075 ± 0,002 ^{e*}

Légende : Les valeurs de la même colonne ayant la même lettre sont statistiquement identiques alors que celles ayant des lettres différentes sont statistiquement différentes avec $*p < 0,0001$.

Les résultats du Tableau XIV montrent que l'extrait aqueux des écorces de *A. schweinfurthii* testés à la dose de 250 mg/kg possède l'activité réductrice *in vivo* la plus élevée avec une IC_{50} de $0,167 \pm 0,001$ mg/mL significativement supérieure à l'activité des différents extraits testés à différentes doses et de l'acide ascorbique testé à la dose 50 mg/kg. Les différents lots traités y compris le lot témoin négatif possèdent une activité réductrice significativement supérieure à celle du lot témoin positif (lot dont le stress oxydatif a été induit sans aucun traitement).

III-1-4-3) Résultat activité de la catalase

La Figure 33 ci-dessous est la représentation de l'activité de la catalase des rats des différents lots en fonction des érythrocytes, reins et foie.

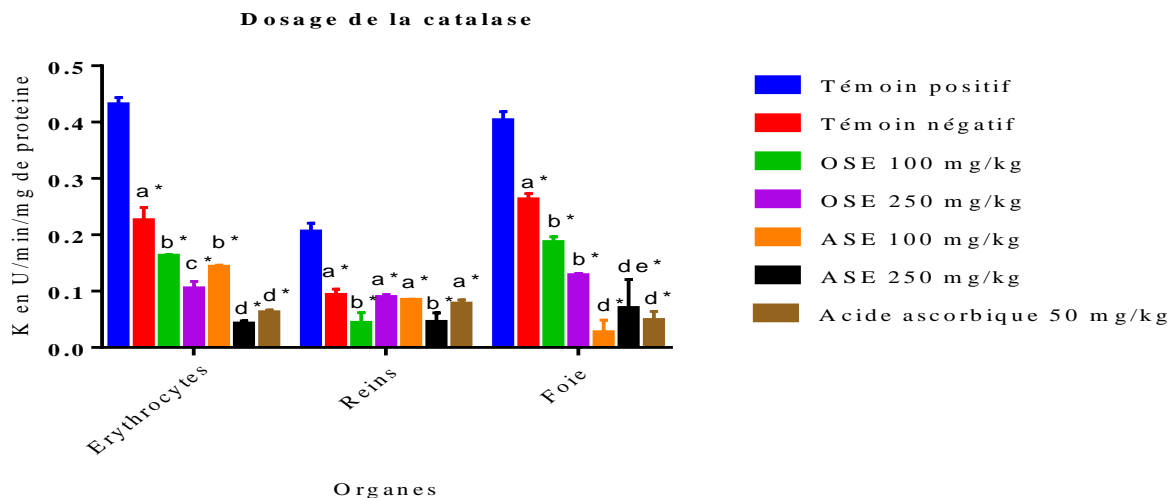


Figure 33 : Représentation de l'activité de la catalase dans les différents lots en fonction des érythrocytes, reins et foie

Les résultats résumés dans le Tableau XII ci-dessous mettent en évidence une activité élevée de la catalase dans les érythrocytes, reins et dans le foie. De même, ces résultats montrent que l'activité de la catalase est significativement inférieure dans les reins, comparée à celle des érythrocytes et du foie.

Tableau XIV : Récapitulatif dosage de la catalase

Echantillons des lots	K en U/min/mg P	K en U/min/mg P	K en U/min/mg P
	Erythrocyte	Reins	Foie
Témoin positif	0,431 ± 0,007	0,205 ± 0,008	0,401 ± 0,008
Témoin Négatif	0,225 ± 0,01 ^{a*}	0,093 ± 0,006 ^{a*}	0,262 ± 0,006 ^{a*}
OSE 100 mg/kg	0,162 ± 0,001 ^{b*}	0,043 ± 0,0106 ^{b*}	0,187 ± 0,009 ^{b*}
OSE 250 mg/kg	0,105 ± 0,007 ^{c*}	0,0892 ± 0,002 ^{a*}	0,128 ± 0,003 ^{c*}
ASE 100 mg/kg	0,143 ± 0,001 ^{b*}	0,0843 ± 0,001 ^{a*}	0,026 ± 0,001 ^{c*}
ASE 250 mg/kg	0,042 ± 0,002 ^{d*}	0,045 ± 0,009 ^{b*}	0,06 ± 0,002 ^{c*}
Acide ascorbique 50 mg/kg	0,06 ± 0,002 ^{d*}	0,077 ± 0,007 ^{a*}	0,048 ± 0,007 ^{c*}

Légende : Les valeurs de la même colonne ayant la même lettre sont statistiquement identiques alors que celles ayant des lettres différentes sont statistiquement différentes avec $*p < 0,0001$.

Les résultats du dosage de l'activité de la catalase exprimée en unité par minute par mg de protéine (U/min/mg P) montrent que le lot témoin positif possède une forte activité de la catalase statistiquement supérieure ($p < 0,0001$) à l'activité de la catalase dosée dans les différents lots traités ; l'activité de la catalase est significativement faible dans les reins, comparée à celles des érythrocytes et du foie. ASE testé à 100 mg/kg pc et l'acide ascorbique testé à 50 mg/kg pc ont induit la plus faible activité de la catalase de l'ordre de 0,143±0,001 U/min/mg P ; 0,0843±0,001 U/min/mg P et 0,026±0,001 U/min/mg P respectivement dans les érythrocytes, les reins et dans le foie pour ASE et 0,06±0,002 U/min/mg P ; 0,077±0,007 U/min/mg P et 0,048±0,007 U/min/mg P, respectivement dans les érythrocytes, les reins et le foie pour l'acide ascorbique.

III-1-4-4) Résultat activité de la SOD

La Figure 34 ci-dessous est la représentation de l'activité de la SOD des rats des différents lots dans les érythrocytes, les reins et le foie

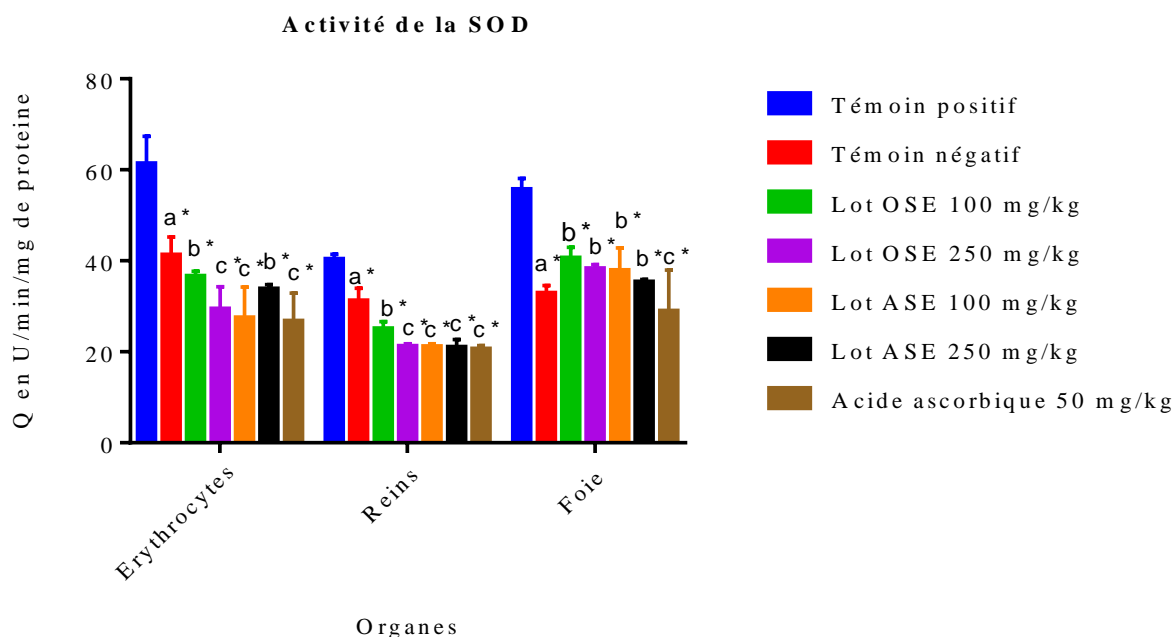


Figure 34 : Représentation de l'activité de la SOD dans les différents lots en fonction des Erythrocytes, Reins et Foie.

L'activité de la SOD est très forte dans le lot témoin positif dans les érythrocytes, reins et foie. Egalement l'activité de la SOD est faible dans les reins comparée à celles des érythrocytes et du foie. Les résultats sont regroupés dans le Tableau XV ci-dessous. Il ressort de ce tableau, que l'extrait aqueux de *A. schweinfurthii* à la dose de 100 mg/kg et l'Acide ascorbique, ont induit l'activité de la SOD la plus faible statistiquement identique dans les érythrocytes et dans les reins.

Tableau XV : Récapitulatif dosage de la SOD

Echantillons des lots	K en U/min/mg P		
	Erythrocyte	Reins	Foie
Témoin positif	61,26 ± 3,7	40,31 ± 0,65	55,6 ± 1,44
Témoin Négatif	41,2 ± 4,01 ^{a*}	31,13 ± 1,61 ^{a*}	32,84 ± 1 ^{a*}
OSE 100 mg/kg	36,56 ± 0,64 ^{b*}	25,03 ± 0,09 ^{b*}	40,58 ± 1,38 ^{b*}
OSE 250 mg/kg	29,38 ± 2,85 ^{c*}	21,03 ± 0,035 ^{c*}	38,23 ± 0,52 ^{b*}
ASE 100 mg/kg	31,25 ± 2,01 ^{c*}	21,13 ± 0,35 ^{c*}	40,23 ± 0,52 ^{b*}
ASE 250 mg/kg	35,71 ± 4,51 ^{b*}	20,1 ± 0,015 ^{c*}	34,3 ± 1,19 ^{b*}
Acide ascorbique 50 mg/kg	23,33 ± 2,4 ^{c*}	22,33 ± 1,8 ^{ac*}	24,46 ± 0,86 ^{c*}

Légende : Les valeurs de la même colonne ayant la même lettre sont statistiquement identiques alors que celles ayant des lettres différentes sont statistiquement différentes avec $*p < 0,0001$.

Concernant le dosage de l'activité de la SOD, le lot témoin positif possède une forte activité de la SOD statistiquement supérieure ($p < 0,0001$) à l'activité de la SOD dosée dans les différents lots traités. ASE testé à 100 mg/kg pc et l'acide ascorbique testé à 50 mg/kg pc ont induit la plus faible activité de la SOD de l'ordre de $31,71 \pm 2,01$ U/min/mg P ; $21,13 \pm 0,35$ U/min/mg P et $40,23 \pm 0,52$ U/min/mg P respectivement dans les érythrocytes, les reins et dans le foie pour ASE et $23,33 \pm 2,4$ U/min/mg P ; $22,33 \pm 1,8$ U/min/mg P et $24,46 \pm 0,86$ U/min/mg P, respectivement dans les érythrocytes, les reins et le foie pour l'acide ascorbique.

La réduction du fer ferrique en fer ferreux par les antioxydants en circulation dans le plasma des rats traités avec les extraits, ainsi que l'induction de la faible activité des enzymes antioxydants actifs tels que la catalase et la SOD, mettent en évidence la capacité antioxydante *in vivo* des extraits étudiés. Ainsi étant donné que le stress oxydatif et l'inflammation vont souvent de pair, il était intéressant de voir l'action de ces extraits sur les enzymes clés de l'inflammation.

III-1-5) Discussion partielle

Les rendements d'extraction obtenus variaient entre 11-30,85 % avec 11 et 14,5 % respectivement pour les extraits aqueux des feuilles et des écorces de *A. schweinfurthii* et 24-30,85% respectivement pour les extraits aqueux des feuilles et écorces de *O. schweinfurthiana*. A l'issue de cette extraction, nous constatons que les rendements d'extraction sont élevés. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que les extraits sont riches en composés polaires qui ont une forte solubilité dans l'eau, qui facilite leur extraction par rapport aux composés apolaires qui ont une faible affinité avec l'eau par conséquent peu soluble dans l'eau. Ce résultat est en accord avec les travaux de **Bruneton (1999)** qui a montré que les solvants polaires étaient appropriés pour l'extraction des biomolécules polaires dans les différentes parties d'une plante.

Les résultats du criblage phytochimique réalisé avec la méthode standard, mettent en évidence les familles de composés telles que les alcaloïdes, stéroïdes tanins catéchiques, flavonoïdes, saponines et triterpènes dans les différents extraits aqueux des feuilles et des écorces des deux plantes. Ces résultats corroborent ceux de la littérature, en effet, **Rao et al., (1997)**; **Pegnemb et al., (2003)** ; **Anuradha et al., (2006)**, **Messi et al. (2016)** et **Nyegue et al. (2016)** ont montré que l'espèce *O. schweinfurthiana* est riche en composés tels que les flavonoïdes, anthroïdes, stéroïdes, terpenoïdes, alcaloïdes tandis **Mbouangouere et al. (2007)** a montré que *A. schweinfurthii* est principalement constitué d'alcaloïdes et xanthonnes.

L'étude préventive du stress oxydant a été réalisée à travers l'évaluation *in vitro* et *in vivo* de l'activité antioxydante des extraits aqueux des feuilles et des écorces de *O. schweinfurthiana* et de *A. schweinfurthii*. Elle a débuté par le dosage des polyphénols ; ensuite la détermination de la teneur en antioxydants primaires ou antioxydants curatifs et la teneur en antioxydants secondaires ou antioxydants préventifs dans ces extraits. Les résultats obtenus montrent que les extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et de *A. schweinfurthii* possèdent les plus fortes teneurs en polyphénols avec des teneurs de 771 mg EAA/g extrait et 985 mg EAA/g extrait respectivement pour les extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et de *A. schweinfurthii*. Les antioxydants primaires possèdent de nombreux groupements hydroxyles attachés à un ou plusieurs benzènes capables de piéger les radicaux libres par transfert d'un atome d'hydrogène, tandis que les antioxydants chélateurs ont une forte capacité d'isomérisation et donc peuvent transmettre leurs électrons sur l'oxygène activé et les métaux lourds pour prévenir l'oxydation (**Oukalha et al., 2018**). Ces résultats montrent que les extraits des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* sont plus riches en polyphénols par rapport aux extraits aqueux des feuilles, de même nous remarquons que les deux extraits sont plus riches en antioxydants secondaires. En effet, par leurs propriétés chélatrices de métaux lourds ou désactivatrices de l'oxygène actif, les antioxydants secondaires sont préventifs et agissent sur les autres facteurs d'oxydation pour empêcher la propagation de la cascade en chaîne de la réaction radicalaire (**Gulsen et al., 2015**). Ainsi les extraits des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* auraient une forte capacité préventive du stress oxydant car la teneur en antioxydants secondaires est plus élevée que la teneur en antioxydants primaires.

Il existe plusieurs méthodes pour déterminer l'activité antioxydante d'une molécule ou d'un extrait de plante. Dans le cadre de cette étude, l'activité antioxydante *in vitro* a été déterminée par quatre méthodes complémentaires à savoir les méthodes de DPPH et ABTS pour l'évaluation de l'activité antiradicalaire. Les tests de DPPH et ABTS sont des méthodes les plus classiques couramment utilisées ; elles sont rapides et simples à réaliser à un faible coût. Ces deux méthodes mesurent l'habilité d'une molécule ou d'un extrait à agir comme un donneur de proton pour piéger les radicaux libres. Par ailleurs les tests de DPPH et l'ABTS ne mesurent pas la capacité d'une molécule ou d'un extrait de plante à réduire l'oxygène actif ou à chélater les métaux lourds, pour cette raison, les méthodes de FRAP et de β -carotène sont ajoutées comme méthodes complémentaires (**Gulsen et al., 2015**).

L'activité antiradicalaire a été évaluée à travers les tests de DPPH et celui d'ABTS. Tout d'abord le test de DPPH a permis de faire une étude de la cinétique de piégeage du radical libre par des extraits. Nyegue (2006) a défini trois types de cinétiques à savoir la cinétique rapide dont l'état stationnaire est atteint après moins de 10 minutes, il s'agit d'une décoloration instantanée du DPPH qui vire au jaune après ajout de l'échantillon, ensuite la cinétique intermédiaire dont l'état stationnaire est atteint après environ 20 min et enfin la cinétique lente donc l'état stationnaire est atteint après environ 120 minutes de réaction avec le réactif de DPPH. A l'issue de cette étude cinétique, tous les échantillons étudiés présentent une cinétique lente. En effet, la courbe de réactivité des extraits avec le radical libre de DPPH en fonction du temps, montre une réactivité donc l'état stationnaire est atteint après 120 minutes d'incubation.

Les résultats de l'étude de la cinétique de réactivité des extraits aqueux de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* suggèrent qu'il est important de laisser au moins une bonne heure d'incubation entre le radical de DPPH et l'échantillon à tester ; ceci pour permettre que l'état stationnaire soit atteint. En effet, il est à noter que la plupart du temps dans la littérature, le temps d'incubation est généralement de 30 minutes, or à ce temps, l'état stationnaire n'est pas encore atteint pour un échantillon qui possède une cinétique lente, ceci peut amener à tirer une mauvaise conclusion sur l'activité de l'échantillon testé.

Les extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* possèdent la meilleure activité antiradicalaire avec les tests de DPPH et ABTS. Statistiquement ($p > 0,05$), ces extraits possèdent la même activité antiradicalaire avec des pouvoirs antiradicaux de 0,3 et 0,2 respectivement avec le test de DPPH. Pourtant l'évaluation de l'activité antiradicalaire avec la méthode d'ABTS montre que l'extrait aqueux des extraits des écorces de *O. schweinfurthiana*, avec un PA de 27,496 possède une activité antiradicalaire statistiquement supérieure ($p < 0,05$) à celle des extraits des écorces de *A. schweinfurthii* donc le PA est 23,542. L'activité antiradicalaire des extraits peut se justifier par la présence des biomolécules identifiées comme l'amentoflavone, l'agathisflavone qui appartient à la famille des flavonoïdes dans ces extraits (Firuzi, 2005). En effet, ces molécules sont constituées de nombreux groupements OH et donc, peuvent agir comme de potentiels donneurs d'hydrogène car elles peuvent facilement induire la délocalisation des électrons dans la structure de la molécule et stabiliser la structure du radical phenoxy (Soobrattee *et al.*, 2013).

La différence d'activité observée entre les extraits dans le test de DPPH et le test d'ABTS pourrait s'expliquer par le fait que le DPPH est le plus souvent solubilisé dans le méthanol et l'éthanol, les extraits aqueux possèdent une faible solubilité dans la solution de DPPH alors que l'ABTS a l'avantage d'être soluble dans les solvants organiques et aqueux par conséquent, est très usuel pour évaluer les activités antiradicalaires des extraits aqueux, contrairement à la méthode de DPPH qui est plus indiquée pour évaluer l'activité antiradicalaire des extraits obtenus avec un solvant organique (**Emad et al., 2013**).

L'évaluation de l'activité antioxydante a consisté également à évaluer l'activité réductrice des extraits en utilisant deux tests à savoir le test de FRAP qui mesure la capacité d'une molécule ou d'un extrait à chelater les métaux lourds et le test du β -carotène qui évalue l'habilité d'une molécule à désactiver l'oxygène activé. A l'issue du test de FRAP, statistiquement ($P > 0,05$), on constate que les extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* possèdent la même activité chélatrice avec des pouvoirs réducteurs respectifs de 0,191 mg EAA/g extrait et 0,185 mg EAA/g extrait dans le test de FRAP. Pourtant, dans la méthode de β -carotène, l'extrait aqueux des écorces de *A. schweinfurthii* avec un pouvoir réducteur de 3,251 mg EAA/g extrait possède une activité réductrice statistiquement supérieure ($p < 0,05$) à celle de l'extrait aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana*, dont le pouvoir réducteur est de 2,541 mg EAA/g extrait. D'après **Soobrattee et al., (2013)**, les biflavonoïdes possèdent de nombreux groupements aromatiques riches en électrons, ainsi que des groupements carboxyles insaturés de nature β et α qui augmentent leur capacité antioxydante car peuvent facilement chélater des métaux lourds ou désactiver l'oxygène actif par transfert d'un électron et une isomérisation rapide afin de stabiliser la structure du radical formé.

Les tests antiradicalaires de DPPH et ABTS mesurent la capacité curative des extraits c'est-à-dire la capacité des extraits à stopper complètement une réaction en chaîne d'oxydation jusqu'à ce que les radicaux soient totalement consommés : cette propriété est corrélée à la teneur des antioxydants vrais ; il y'a donc un effet quantitatif déterminant (**Sayre et al., 2008, Bruneton, 1999**). Pourtant les tests de FRAP et de β -carotène mesurent la capacité préventive des extraits testés, c'est-à-dire agissent sur les autres facteurs d'oxydation. Ce type d'antioxydant prévient la formation des radicaux libres et peut intervenir par différents mécanismes. Certains chélatent les ions métalliques réduisant l'effet prooxydant des ions. Cette activité antioxydante est attribuée à la propriété que possèdent les biopolymères à former des complexes avec les métaux de transition (**Kamil et al., 2002 ; Kadkhodace et al.,**

2007). Les réducteurs d'oxygène : dans ce groupe figurent l'acide ascorbique, les composés phénoliques capables de régénérer les antioxydants tels que les tocophérols ou le β -carotène qui désactivent l'oxygène singulet formé par photosensibilisation (**Kadkhodace et al., 2007**).

Les résultats obtenus dans le cadre de cette thèse montrent que les extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* possèdent les meilleures activités antioxydantes *in vitro*. Ces extraits possèdent une teneur en antioxydants secondaires plus élevée que celle des antioxydants primaires ; ceci justifie leur pouvoir réducteur (3,251 mg EAA/g extrait pour l'extrait aqueux des écorces de *A. schweinfurthii* et 2,541 mg EAA/g extrait pour l'extrait aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana*) plus grand que leur pouvoir antiradicalaire (0,3 pour l'extrait aqueux des écorces de *A. schweinfurthii* et 0,23 pour l'extrait aqueux des écorces). Ces extraits se comporteraient comme des antioxydants agissant en tant que piègeurs des ERO en prévenant et en réparant les dommages causés par les ERO et pourraient donc renforcer la défense immunitaire et réduire le risque de cancer et de maladies dégénératives. Ainsi, les extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* ont été sélectionnés pour la suite du travail à savoir la détermination *in vivo* de leur propriété antioxydante.

Dans l'organisme, il existe deux principaux systèmes de défense de l'organisme contre les ERO. On a tout d'abord, la détoxification passive ou préventive au cours de laquelle les ERO sont neutralisés par les antioxydants non enzymatiques tels que les vitamines C, les caroténoïdes, le glutathion et les composés phénoliques (**Valko et al., 2007**). Ces antioxydants non enzymatiques de type hydrophile, sont localisés et agissent principalement dans le plasma sanguin. Ces antioxydants sont facilement dosables en routine par les méthodes spectrophotométriques (**Pincemail et al., 2001**). Ensuite la détoxification active suite à une attaque oxydante, repose sur trois principales enzymes à savoir le superoxyde dismutase, la catalase et le glutathion peroxydase. Ces enzymes sont localisés à l'intérieur des cellules comme les érythrocytes et abondantes à l'intérieur des cellules des organes détoxifiant tels que le foie et les reins (**Miller, 2012**).

L'activité antioxydante *in vivo* des extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* a été évaluée par trois méthodes à savoir la réduction du fer par le plasma sanguin, le dosage de l'activité de la catalase et le dosage de l'activité de la SOD dans les érythrocytes, les reins et le foie. Les résultats du test de réduction du fer par le plasma sanguin indiquent une diminution très hautement significative ($p < 0,0001$) du pouvoir réducteur chez le lot témoin positif (lot dont le stress oxydatif a été induit sans traitement) par rapport aux DJOVA Steve Valdi/thèse de Doctorat/Ph.D de l'Université de Yaoundé I

différents autres lots. De même, le lot traité par l'extrait aqueux des écorces de *A. schweinfurthii* à la dose 250 mg/kg, possède un pouvoir réducteur de 0,128 mg/mL, statistiquement supérieur ($P < 0,05$) au lot référence, l'Acide ascorbique testé à la dose 50 mg/kg avec un pouvoir réducteur est 0,075 mg/mL. Ce résultat s'expliquerait par le fait que les antioxydants issus des extraits administrés aux rats en circulation dans le plasma sanguin, auraient chélaté le fer ferrique en fer ferreux. Ce résultat confirme d'avantage les résultats antioxydants *in vitro* qui montraient que les extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* sont constitués majoritairement des antioxydants secondaires et donc possèdent un fort pouvoir réducteur. Ces résultats sont en accord avec ceux de **Soobrattee et al. (2013)** qui a montré que les composés phénoliques principalement les flavonoïdes sont capables de neutraliser les ERO en circulation dans le plasma sanguin. Les travaux de **Smyth et al. (1999)**, montrent que les flavonoïdes, non seulement neutralisent les ERO, mais également peuvent influencer sur les systèmes enzymatiques en association avec le glutathion. Par ailleurs, **Bailli et al. (2009)** a démontré que les espèces du genre *Anthoscleista* sont des sources d'antioxydants. **Pegnyemb et al. (2003)** et **Abdullahi et al. (2010)** ont quant à eux révélé que la famille des Ochnaceae est riche en dimères complexes de flavonoïdes et de chalcones.

L'étude des résultats du dosage de l'activité de la SOD et la catalase est très intéressante, puisqu'elle confirme le résultat obtenu avec le test de réduction du fer par le plasma. En effet, on note une augmentation fortement significative ($P < 0,0001$) de l'activité de la SOD et de la catalase dans le lot témoin positif comparé aux différents lots. L'extrait aqueux des écorces de *A. schweinfurthii* (0,143 U/min/mg P ; 0,0843 U/min/mg P et 0,026 U/min/mg P) testé à la dose 100 mg/kg et l'Acide ascorbique (0,06 U/min/mg P ; 0,077 U/min/mg P ; 0,048 U/min/mg P) à la dose de 50 mg/kg ont induit la plus faible activité de la catalase respectivement dans les érythrocytes, les reins et le foie. La même remarque est observée avec l'activité de la SOD. En effet, l'extrait aqueux des écorces de *A. schweinfurthii* (31,25 U/min/mg P ; 21,13 U/min/mg P et 40,23 U/min/mg P) testé à la dose de 100 mg/kg et l'Acide ascorbique (23,33 U/min/mg P ; 22,33 U/min/mg P et 24,086 U/min/mg P) à la dose de 50 mg/kg ont induit la plus faible activité de la SOD respectivement dans les érythrocytes, les reins et le foie. La SOD et la catalase sont des enzymes antioxydantes en premières lignes de défenses de l'organisme contre les ERO (**Valko et al., 2007**). L'activité de ces enzymes dépend de la teneur des ERO dans l'organisme, une forte teneur en ERO induit une forte activité de celles-ci (**Weydert et Cullen, 2009**). La faible activité de la SOD et la catalase

observée dans les lots traités, peuvent se justifier par le fait que les antioxydants contenus dans les extraits administrés aux rats aux différentes doses auraient piégé le H₂O₂ administré aux rats et donc limité l'activité des enzymes tels que la SOD et la catalase ; ce résultat peut être davantage justifié par les travaux de **Martinez-Tome *et al.* (2001)** qui ont montré que les antioxydants pouvaient neutraliser le H₂O₂ pour empêcher la formation du radical hydroxyle. Les travaux de **Njayou *et al.*, (2008)** ont montré que les extraits issus de *A. schweinfurthii* possèdent une bonne activité antioxydante *in vivo* car inhibent la peroxydation lipidique des microsomes et inhibent la dénaturation de la protéine par la réaction d'oxydation.

III-1-6) Conclusion partielle

L'étude préventive du stress oxydant des extraits aqueux de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* a montré que les extraits aqueux des écorces de ces plantes possèdent les plus fortes teneurs en polyphénols et sont majoritairement constitués d'antioxydants secondaires ou préventifs. La teneur en polyphénols est corrélée à l'activité antioxydante. En effet les extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* ont présenté la meilleure activité anti-radicalaire et réductrice *in vitro*. Le test de réduction du fer par le plasma sanguin montre que les extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* ont la capacité de complexer les métaux lourds et désactiver l'oxygène activé en circulation dans le sang et de prévenir ainsi la formation des ERO. Le modèle expérimental effectué sur les rats de laboratoire montre que les extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* testées à la dose 100 mg/kg et 250 mg/kg ont induit une faible activité de la SOD et de la catalase dans les érythrocytes, le foie et dans les reins. Ce résultat est d'autant plus intéressant avec l'extrait aqueux des écorces de *A. schweinfurthii* testé à la dose 100 mg/kg car, a induit une faible activité de la SOD et la catalase dans les érythrocytes, le foie et dans les reins, statistiquement identique à celle de l'Acide ascorbique testé à 50 mg/kg. L'induction de la faible activité des principales enzymes antioxydantes impliquées dans la défense de l'organisme lors d'une attaque oxydante permet de dire que les extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* sont doués d'activité préventive du stress oxydant car, capables non seulement de piéger les ERO mais empêchent la formation de celles-ci.

III-2) Résultats des activités anti-inflammatoires *in vitro*

III-2-1) Oxydation ferreuse-xylénol orange (Fox)

Les effets des extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* sur l'inhibition de la production des leucotriènes ont été déterminés par l'inhibition de la 15-lipoxygénase. La Figure 35 ci-dessous est la courbe qui représente le pourcentage d'inhibition de la 15-lipoxygénase par les extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* et du standard (la Quercetine).

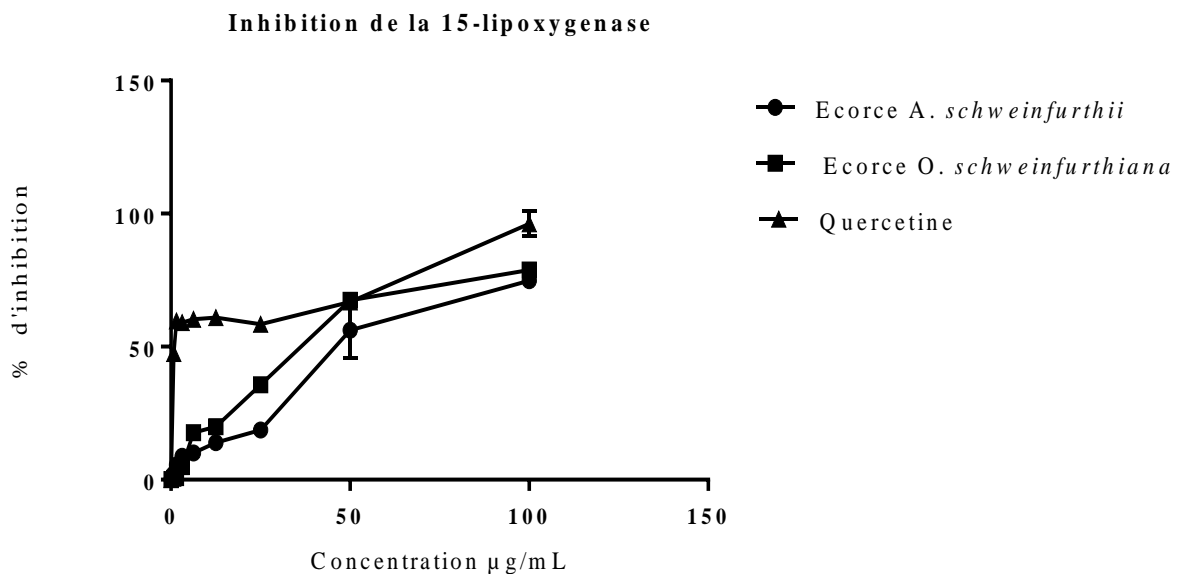


Figure 35 : Pourcentage d'inhibition de la 15-lipoxygénase par les extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana*, *A. schweinfurthii* et la Quercetine

A partir de cette courbe, les concentrations inhibitrices (IC_{50}) ont été déterminées et comparées comme l'illustre la courbe de la Figure 36. L'essentiel des résultats obtenus est consigné dans le Tableau XVI ci-dessous. Ainsi, les extraits ont une IC_{50} statistiquement identique dont les valeurs respectives sont de $32,75 \pm 2,75$ µg/mL et $37,19 \pm 0,54$ pour les extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* ; ces extraits possèdent des IC_{50} significativement ($****P < 0,0001$) ($***P < 0,001$) inférieures à celle du standard, la Quercetine dont la IC_{50} est de $9,38 \pm 0,67$ µg/mL.

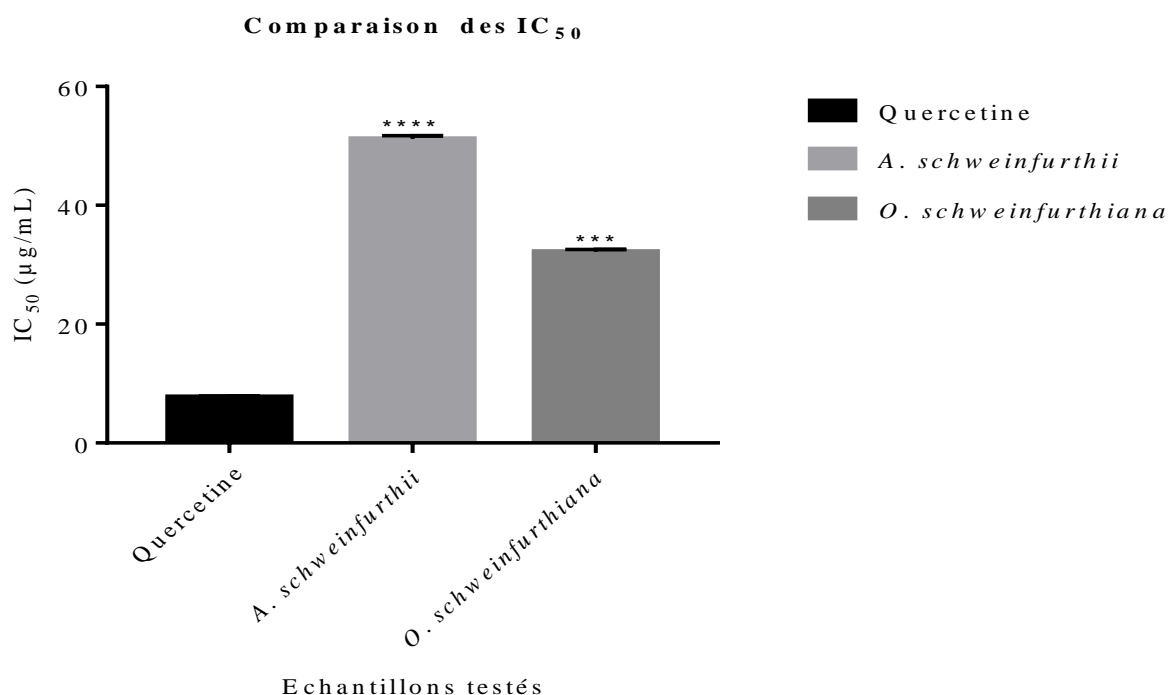


Figure 36 : Comparaison des concentrations inhibitrices des extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana*, *A. schweinfurthii* et Quercetine

Tableau XVI : Récapitulatif test d'inhibition de la 15-lipoxygenase

Echantillons testés	IC ₅₀ (µg/mL)
<i>A. schweinfurthii</i>	37,19±0,54***
<i>O. schweinfurthiana</i>	32,19±0,36****
Quercetine	7,72±0,1931

Légende : Différence significative entre la Quercetine, l'extrait aqueux des écorces de *A. schweinfurthii* et les extraits des écorces de *O. schweinfurthiana* avec (**** $p < 0,0001$; *** $p < 0,001$).

III-2-2) Inhibition de la dénaturation du BSA

Les extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* ont été analysés pour leur activité inhibitrice de la dénaturation de la protéine BSA. La courbe de la Figure 37 représente le pourcentage d'inhibition de la dénaturation du BSA en fonction de la concentration des extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* et le médicament anti-inflammatoire utilisé comme molécule standard à savoir le Diclofenac de sodium.

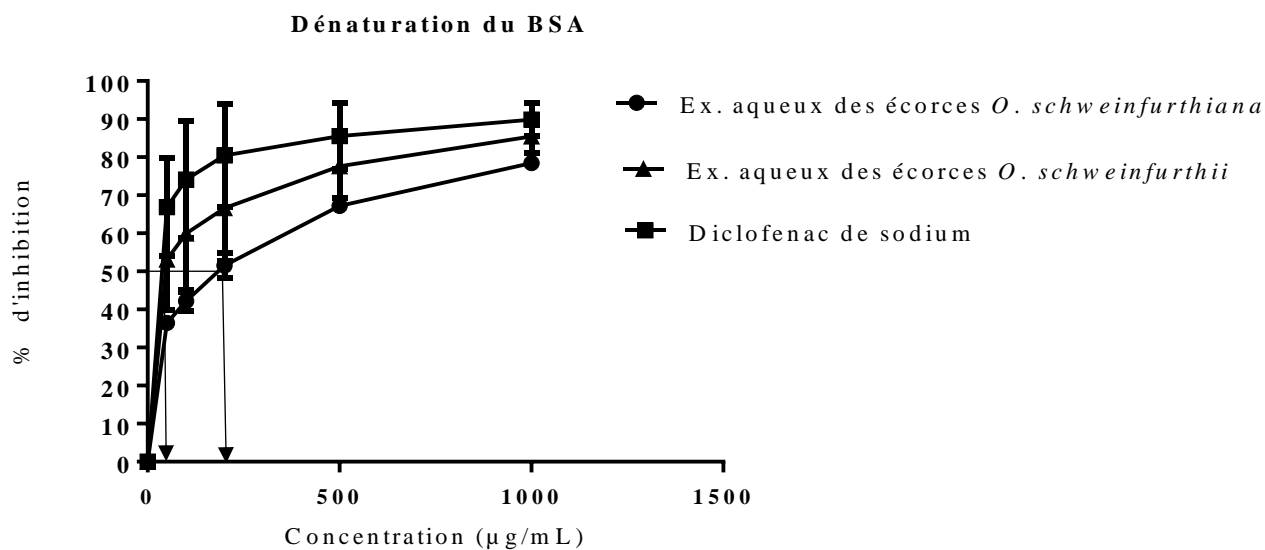


Figure 37 : Pourcentage d'inhibition du BSA par les extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana*, *A. schweinfurthii* et Diclofenac de sodium

A partir de cette courbe, les IC_{50} ont été déterminées et comparées comme la Figure 38 le montre. Les résultats sont résumés dans le Tableau XVII.

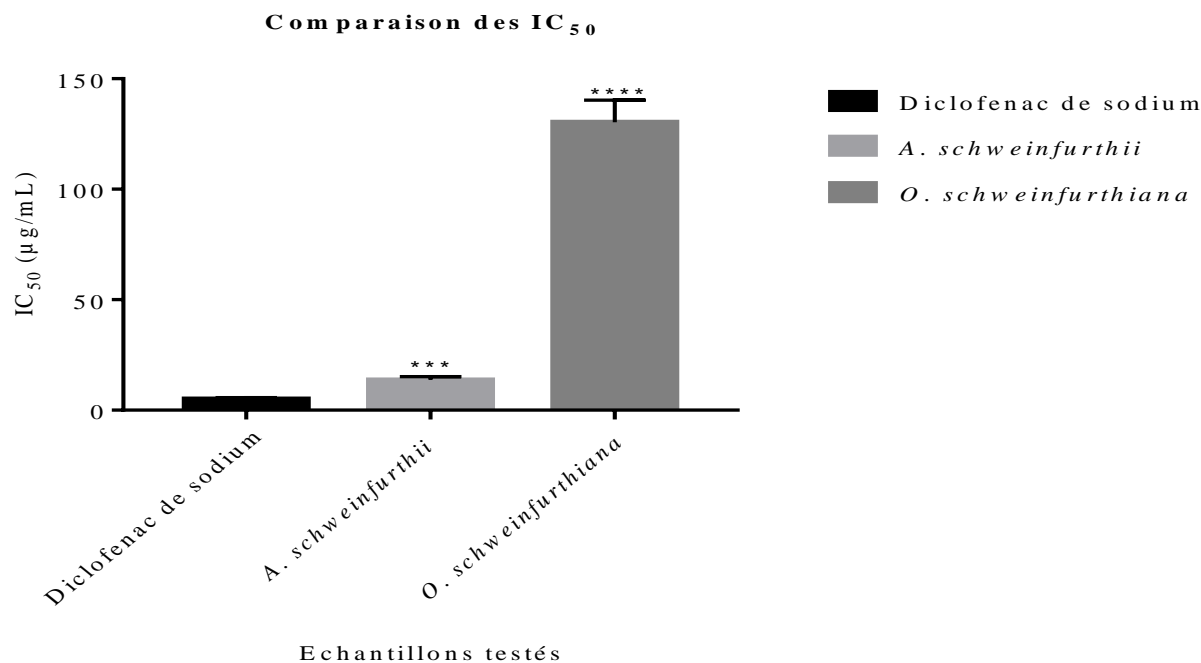


Figure 38 : Comparaison des concentrations inhibitrices des extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* et Diclofenac de sodium

Tableau XVII : Récapitulatif de l'inhibition de la dénaturation du BSA

Echantillons testés	IC ₅₀ (µg/mL)
<i>A. schweinfurthii</i>	13,67±0,88 ^{***}
<i>O. schweinfurthiana</i>	130±5,78 ^{****}
Diclofenac de sodium	4,66±0,33

Légende : Différence significative entre le Diclofenac de sodium, les extraits aqueux des écorces de *A. schweinfurthii* et de *O. schweinfurthiana* avec (^{****} $p < 0,0001$; ^{***} $p < 0,001$).

A partir de ces résultats, on peut affirmer que l'extrait aqueux des écorces de *A. schweinfurthii* avec une IC₅₀ de 13,67±0,88 µg/mL, possède une forte activité inhibitrice de la dénaturation du BSA, statistiquement supérieure à l'activité de l'extrait aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* dont la valeur de l'IC₅₀ est 130±5,78 µg/mL. Notons que les extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* ont une activité inférieure à celle de la molécule de référence le Diclofenac de sodium avec une IC₅₀ de 4,66±0,33 µg/mL.

III-2-3) Inhibition de la protéinase

La Figure 39 ci -dessous représente le pourcentage d'inhibition de la protéinase en fonction de la concentration des extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana*, *A. schweinfurthii* et l'Aspirine.

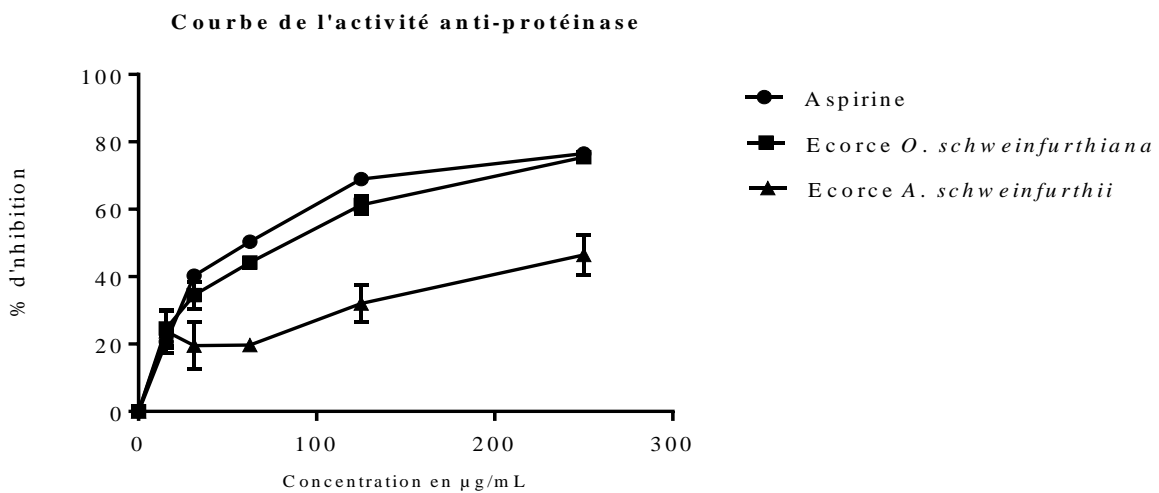


Figure 39 : Pourcentage d'inhibition de la protéinase par les extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana*, *A. schweinfurthii* et l'Aspirine

A partir de cette courbe, les IC_{50} ont été déterminées et la Figure 40 est la courbe de comparaison de ces IC_{50} . Les résultats obtenus sont résumés dans le Tableau XVIII ci-dessous.

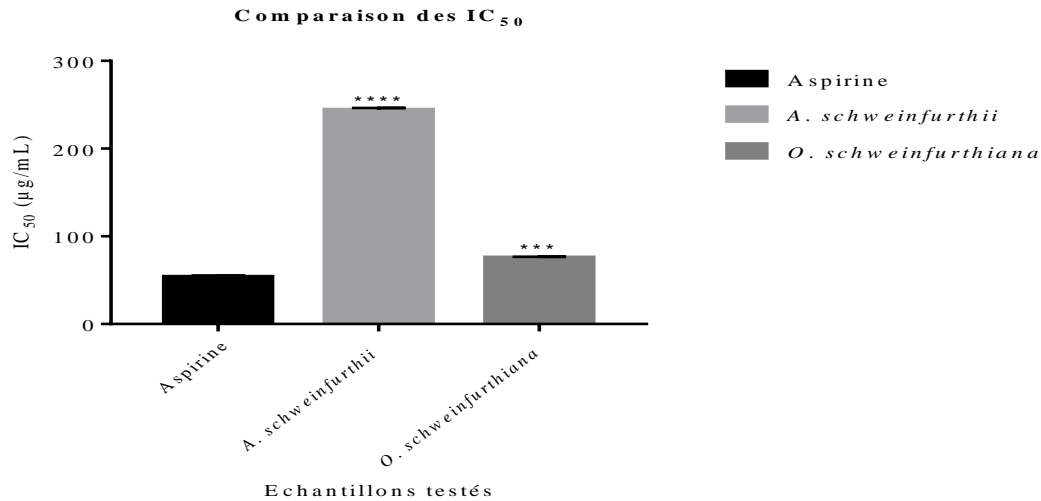


Figure 40 : Comparaison des concentrations inhibitrices des extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana*, *A. schweinfurthii* et Aspirine

Tableau XVIII : Récapitulatif de l'inhibition de la protéinase

Echantillons testés	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
<i>A. schweinfurthii</i>	244,33±2,08****
<i>O. schweinfurthiana</i>	75,63±0,75***
Aspirine	53,7±2,61

Légende : Différence significative entre l'Aspirine, l'extrait aqueux des écorces de *A. schweinfurthii* et les extraits des écorces de *O. schweinfurthiana* avec (**** $p < 0,0001$; *** $p < 0,001$).

L'extrait aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* a une forte capacité inhibitrice de la protéinase avec une IC_{50} de $75,63 \pm 0,75 \mu\text{g/mL}$ comparée à celle du médicament de référence l'Aspirine donc la IC_{50} est de $53,7 \pm 2,61 \mu\text{g/mL}$.

III-2-4) Discussion partielle

Dans la phase terminale du cancer du sein, l'environnement local de la cellule cancéreuse est orchestré par l'inflammation chronique (Pollard, 2004). Dans cet environnement, la dénaturation des protéines est accentuée par l'effet délétère des ERO ; la dénaturation d'une protéine entraîne la perte de sa fonction biologique et il a été démontré que la dénaturation d'une protéine est l'une des causes de l'inflammation (Leelaprakash et

Mahan, 2010 ; Ingle, 2011). L'inhibition de la 15-lipoxygénase et l'inhibition de la dénaturation de la protéine sont considérées comme des cibles thérapeutiques pour prévenir l'inflammation liée au stress oxydant.

Dans le cadre de cette thèse, l'activité anti-inflammatoire des extraits actifs de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* (les extraits aqueux des écorces) a été déterminée à travers trois méthodes à savoir l'inhibition de la 15-lipoxygénase, l'inhibition de la dénaturation de la protéine BSA et l'inhibition de la protéinase. Les extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* ont présenté une bonne activité inhibitrice de la 15-lipoxygénase avec des IC_{50} respectives de 37,19 $\mu\text{g/mL}$ et 32,19 $\mu\text{g/mL}$. Cependant, leur activité est statistiquement ($P < 0,001$) inférieure à l'activité de la Quercétine, avec une valeur de IC_{50} de 9,013 $\mu\text{g/mL}$. L'activité prometteuse anti-lipoxygénase des extraits des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* serait liée à la multiplicité des composés qui constituent leurs extraits. Il a été précédemment démontré que l'inhibition de la 15-lipoxygénase est liée à la présence des alcaloïdes, terpènes et des flavonoïdes (**Mulaudzi et al., 2013**). Les flavonoïdes sont connus pour interférer avec les différentes étapes de la cascade d'arachidonate dans la voie de la lipoxygénase afin de soulager les réponses inflammatoires (**Mulaudzi et al., 2013**). Plusieurs molécules synthétiques ainsi que des composés naturels isolés ont été testés pour l'inhibition des lipoxygénases. Récemment, il a été rapporté que le Δ^9 -tétrahydrocannabinol (Δ^9 -THC), qui est un composant actif extrait du cannabis, montre une inhibition de la 15-lipoxygénase avec une CI_{50} de 2,42 μM (**Takeda et al., 2011**). L'acide nordihydroguaiarétique (NDGA), un antioxydant bien connu, inhibe la 12-lipoxygénase et la 15-lipoxygénase plaquettaires (**Whitman, 2002**). Les résultats obtenus dans le test d'inhibition de la 15-lipoxygénase montrent que les extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* sont une source de potentielles molécules inhibitrices de la 15-lipoxygénase.

Dans le test d'inhibition de la dénaturation de l'albumine sérum bovine (BSA), l'extrait aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* possède une activité modérée avec une IC_{50} de 130 $\mu\text{g/mL}$, significativement inférieure à celle de la molécule de référence le Diclofenac de sodium dont la IC_{50} est de 4,66 $\mu\text{g/mL}$. Les extraits aqueux des écorces de *A. schweinfurthii* ont une forte activité inhibitrice de la dénaturation du BSA avec une IC_{50} de 13,67 $\mu\text{g/mL}$ comparée à celle de la référence. La plupart des études ont révélé que lorsque la protéine BSA est chauffée, elle subit une dénaturation. Pour confirmer ce résultat de l'inhibition de la dénaturation de la protéine BSA, le test d'inhibition de la protéinase a été réalisé. Les résultats obtenus montrent une différence d'activité avec ce test, l'extrait aqueux des écorces de *O.*

schweinfurthiana possède une forte activité inhibitrice de la protéinase avec une valeur de IC_{50} de 75,63 $\mu\text{g/mL}$ comparée à celle de la référence, l'Aspirine dont la IC_{50} est de 53,7 $\mu\text{g/mL}$. L'extrait aqueux des écorces de *A. schweinfurthii* a une activité modérée inhibitrice de la protéinase avec une valeur de la IC_{50} de 244,33 $\mu\text{g/mL}$. Dans l'organisme, la dénaturation d'une protéine ou l'action d'une protéinase sont à l'origine de la production des auto-antigènes qui sont associés à une réaction d'hypersensibilité de type III, ou d'autres maladies auto-immunes comme des polyarthrites rhumatoïdes, l'arthrite (Arya et Patni, 2013). Le mécanisme de la dénaturation implique probablement des altérations des liaisons électrostatiques, hydrogène, hydrophobes et disulfure (Arya et Patni, 2013). D'après les résultats de la présente étude, on peut affirmer que les extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* sont capables de contrôler la production d'auto-antigènes à l'origine d'autres types d'inflammations qui accentuent la douleur dans la phase terminale du cancer du sein.

III-2-5) Conclusion partielle

Au Cameroun, la plupart des patientes ayant un cancer du sein, se rendent à l'hôpital lorsque la douleur devient insupportable ; la douleur causée et maintenue par l'inflammation chronique est le principal symptôme du cancer du sein dans sa phase terminale. L'étude *in vitro* des extraits aqueux de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* a révélé une activité anti-inflammatoire prometteuse. Les extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* possèdent une forte activité inhibitrice de la 15-lipoxygénase avec des IC_{50} de 32,19 $\mu\text{g/mL}$ et 37,19 $\mu\text{g/mL}$. L'extrait aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* a présenté une forte activité inhibitrice de la protéinase avec une IC_{50} de 75,63 $\mu\text{g/mL}$, pourtant l'extrait aqueux de *A. schweinfurthii* a montré une activité spécifique inhibitrice de la dénaturation de la protéine BSA avec une IC_{50} de 13,67 $\mu\text{g/mL}$. Les extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* sont constitués de potentiels agents anti-inflammatoires. L'étude corrobore les utilisations traditionnelles de ces plantes médicinales camerounaises pour le traitement de l'arthrite, des rhumatismes et d'autres pathologies inflammatoires.

III-3) Résultat des tests de cytotoxicité et de génotoxicité

III-3-1) Résultat de la cytotoxicité par le test de MTT

La cytotoxicité des extraits aqueux des écorces des deux plantes, ainsi que celles des fraction A, fraction B et fraction C ont été déterminées en utilisant le test de MTT sur la lignée cellulaire Vero, MDA-MB-361 et MCF-7. La concentration létale (LC_{50}) qui

permet de tuer 50 % des cellules a été calculée à partir de l'équation de droite obtenue sur la courbe du pourcentage de viabilité cellulaire en fonction de la concentration. Les Figures 41 à 45 représentent les courbes du pourcentage de viabilité cellulaire en fonction de la concentration représentées sous forme d'histogrammes.

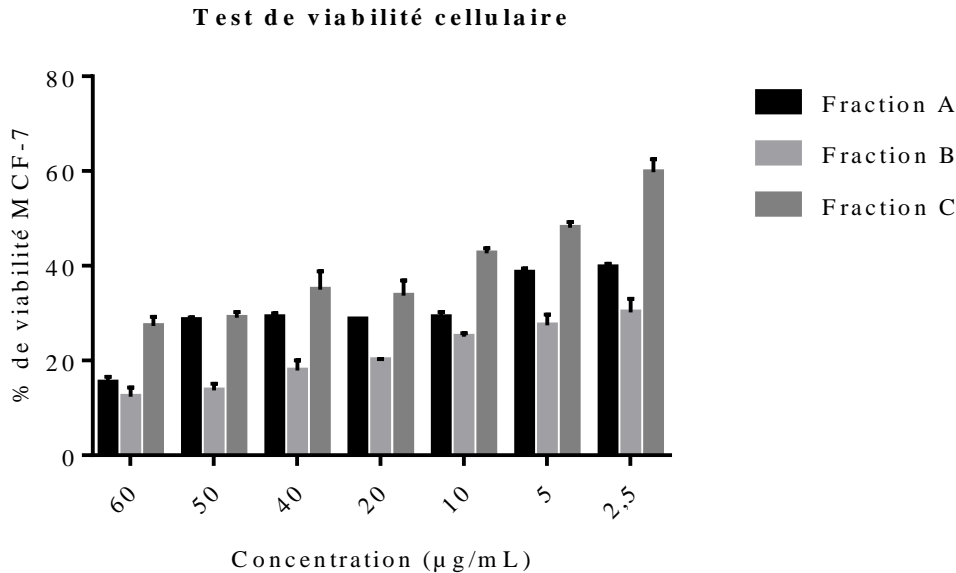


Figure 41 : Viabilité cellulaire (%) des cellules MCF-7 traitées par la fraction A, la fraction B et la fraction C à différentes concentrations

La Figure 41 ci-dessus ressort l'effet des fractions testées sur la viabilité de la cellule MCF-7. Cette figure montre que l'effet de ces fractions sur la croissance de la cellule MCF-7 est concentration dépendante. On constate que, plus la concentration est élevée, plus les fractions ont une forte activité cytotoxique, qui se traduit par un faible pourcentage de viabilité cellulaire. Ainsi la fraction A et la fraction B, des fractions obtenues à partir de l'extrait aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* présentent une cytotoxicité sélective sur la cellule MCF-7 avec des LC_{50} respectives de $2,502 \pm 0,001 \mu\text{g/mL}$ et $3,23 \pm 0,002 \mu\text{g/mL}$. La fraction C, obtenue de l'extrait aqueux des écorces de *A. schweinfurthii* possède une activité cytotoxique modérée sur la cellule MCF-7 avec une LC_{50} de $18,4 \pm 0,1 \mu\text{g/mL}$.

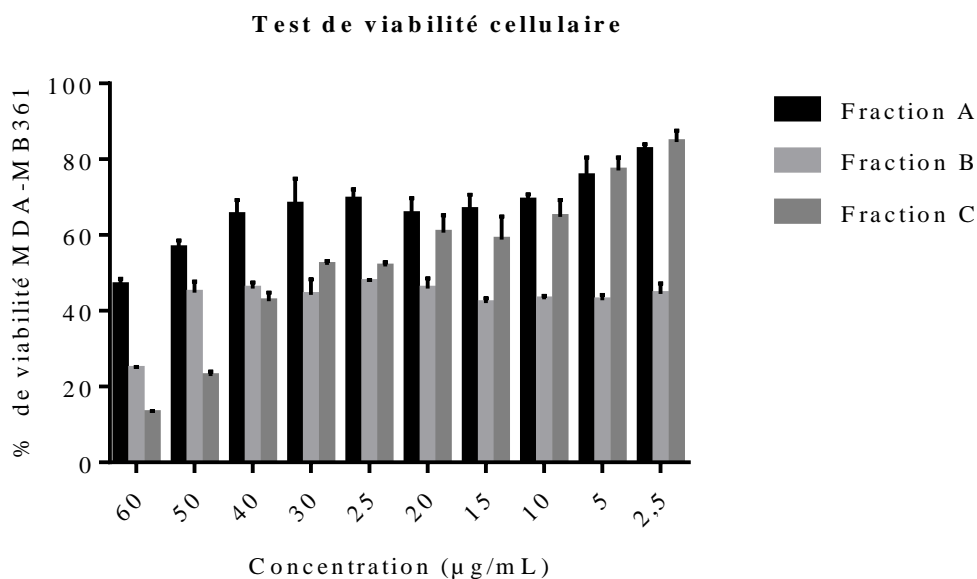


Figure 42 : Viabilité cellulaire (%) des cellules MDA-MB-361 traitées la fraction A, La fraction B et la fraction C à différentes concentrations

La figure 42 met en évidence l'effet des fractions sur la viabilité des cellules MDA-MB-361. La fraction A, la fraction B et la fraction C ont des LC_{50} respectives de $60,23 \pm 1,84$ µg/mL ; $46,1 \pm 0,5$ µg/mL, 37 ± 2 µg/mL. On observe un pourcentage de viabilité cellulaire important, ce qui signifie que ces fractions ont une faible activité cytotoxique sur la cellule MDA-MB-361.

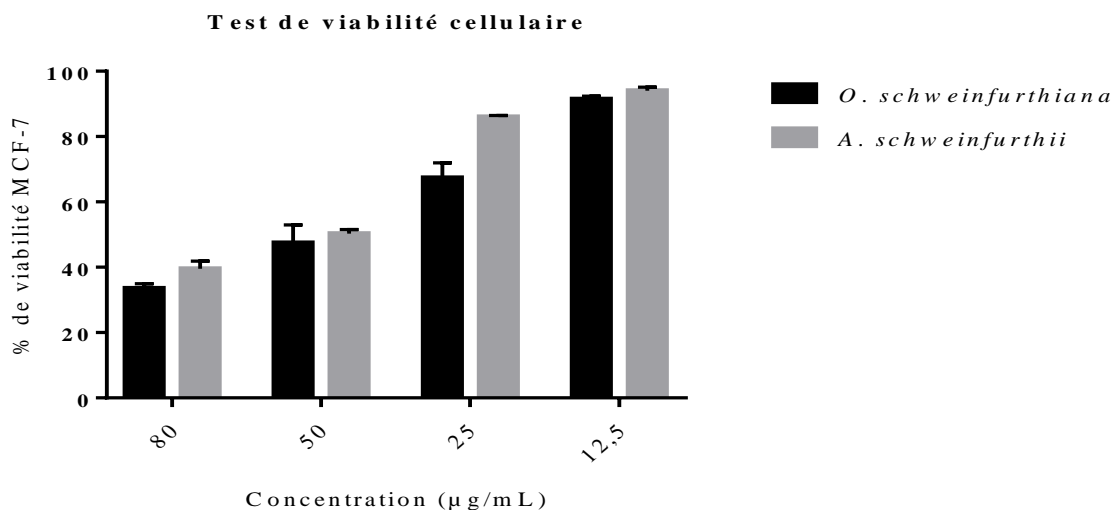


Figure 43 : Viabilité cellulaire (%) des cellules MCF-7 traitées par les extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii*

La figure 43 ci-dessus permet de voir l'effet des extraits aqueux de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* sur la viabilité des cellules MCF-7. Cette figure montre un pourcentage de viabilité de la cellule MCF-7 très élevé, ce qui signifie que ces extraits ont une faible activité cytotoxique sur la cellule MCF-7. Ceci se traduit par leurs LC₅₀ élevées respectivement de 49 ± 1 µg/mL et 48 ± 1,53 µg/mL.

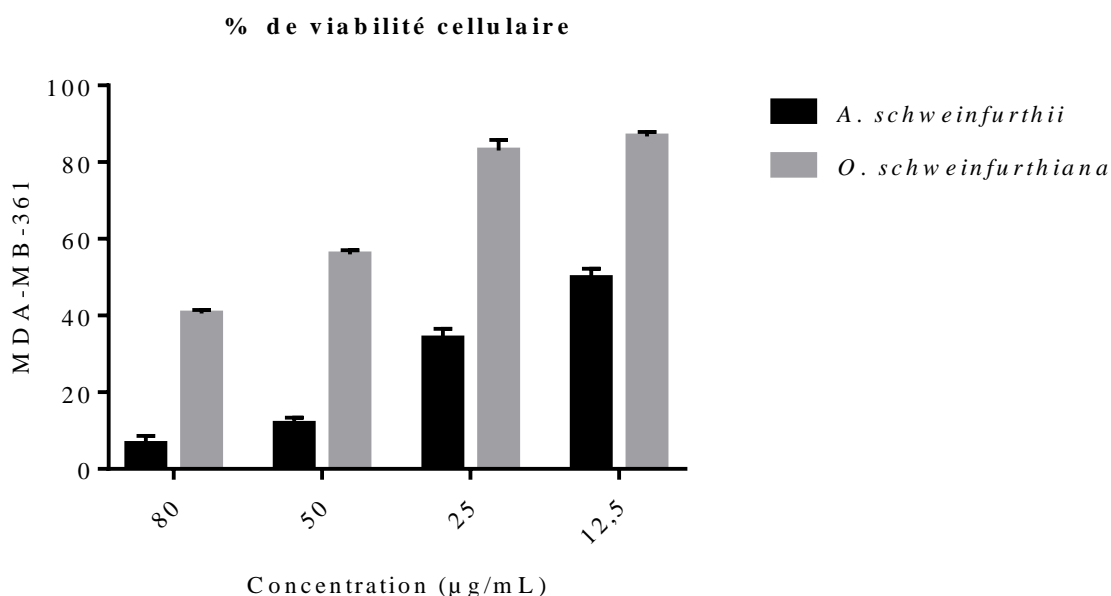


Figure 44 : Viabilité cellulaire (%) des cellules MDA-MB-361 traitées par les extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii*

La Figure 44 ci-dessus montre l'effet des extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* sur la cellule MDA-MB-361. L'extrait aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* a une LC₅₀ de 12,5 µg/mL et l'extrait aqueux des écorces de *A. schweinfurthii* a une LC₅₀ de 12,5 µg/mL.

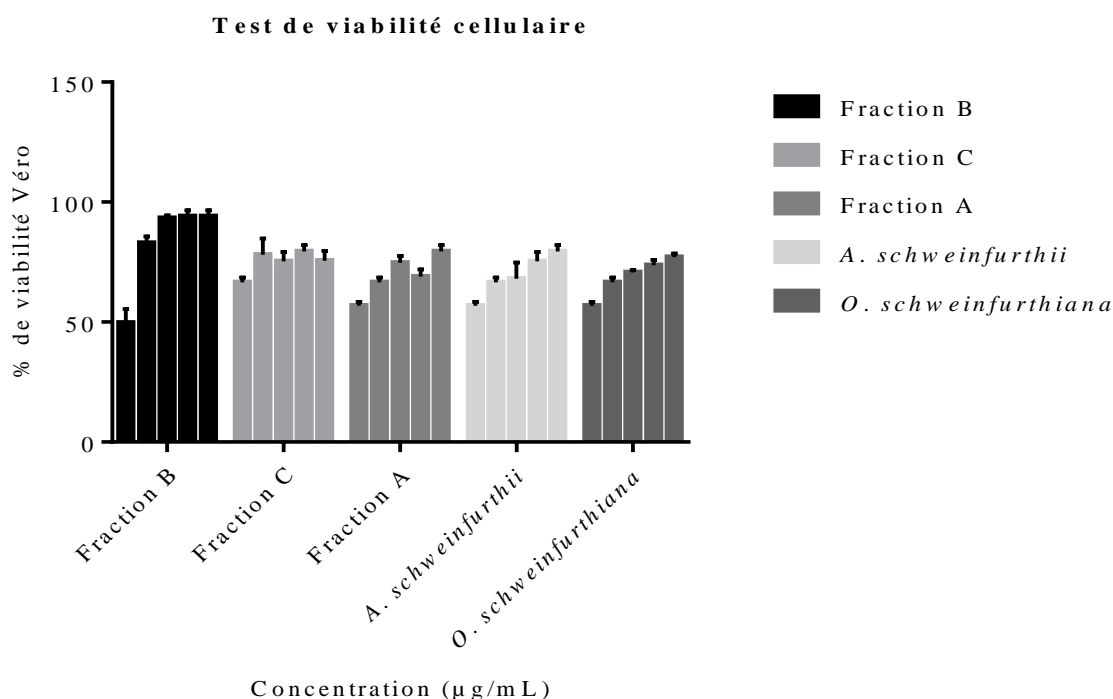


Figure 45 : Viabilité cellulaire (%) des cellules Véro traitées par la fraction A, la fraction B et la fraction C, les extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* à différentes concentrations

La fraction A, la fraction B et la fraction C, les extraits aqueux de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* ont induit un pourcentage de viabilité de la cellule Véro élevé comme le montre la Figure 45 ci-dessus. Les extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana*, les extraits aqueux des écorces de *A. schweinfurthii*, la fraction A, la fraction B et la fraction C ont des LC₅₀ respectives de 50±1 µg/mL; 131± 2 µg/mL ; 90±3 µg/mL ; 67,16±0,64 µg/mL ; 58,79±2,18 µg/mL. Les résultats de la cytotoxicité sont regroupés dans le tableau XIX ci-dessous :

Tableau XIX : Récapitulatif test de cytotoxicité

Echantillons des lots	MDA-MB-361 (µg/mL)	MCF-7 (µg/mL)	Véro (µg/mL)
<i>O. schweinfurthiana</i>	72,75 ± 1,4	49± 1	50±1
<i>A. schweinfurthii</i>	12,5 ± 1,2	48 ± 1,53	131± 2
Fraction A	60,23±1,84	2,502 ± 0,001	90±3
Fraction B	46,1±0,5	3,23 ± 0,002	67,16±0,64
Fraction C	37 ± 2	18,4±0,1	58,79±2,18

D'après le programme de screening des extraits de plantes US (NCI), un extrait de plante est dit cytotoxique lorsque la LC_{50} est $< 20 \mu\text{g/mL}$. Ainsi l'extrait aqueux des écorces de *A. schweinfurthii* avec une LC_{50} de $12,5 \mu\text{g/mL}$, possède une activité cytotoxique sur la cellule MDA-MB-361. La fraction A et la fraction B ont montré une cytotoxicité sélective sur la cellule MCF-7 avec des LC_{50} respectives de $2,502 \pm 0,001 \mu\text{g/mL}$ et $3,23 \pm 0,002 \mu\text{g/mL}$. Tous les échantillons testés sont non cytotoxiques vis-à-vis de la cellule Véro.

III-3-1-1) Indice de sélectivité

L'indice de sélectivité permet d'affirmer que les extraits ont un effet pharmacologique plus important que l'effet délétère sur la cellule saine. Lorsque la valeur de celle-ci est supérieure à 1, l'extrait a un effet pharmacologique plus important que l'effet toxique sur la cellule Véro. Lorsque l'indice est inférieur à 1, l'extrait a un effet délétère sur la cellule, supérieure à l'effet pharmacologique. Les concentrations inhibitrices des extraits obtenues dans le test antiradicalaire obtenu avec le test d'ABTS et les concentrations d'inhibitions obtenues à partir du test 15-lipoxygénase ont été utilisées pour le calcul de cet indice. Ainsi, l'extrait aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* avec des I_s respectives de 0,38 et 1,55 avec le test d'ABTS et les indices de sélectivité de 0,85 et 1,47 avec le test d'inhibition de la 15-lipoxygénase. Ce résultat suggère que les extraits aqueux de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* piègent les radicaux libres avec une toxicité relative sur la cellule Véro d'une part ; ces extraits inhibent la 15-lipoxygénase sans aucun effet toxique pour la cellule saine Véro d'autre part.

Sur la cellule MDA-MB-361, l'extrait aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana*, *A. schweinfurthii*, la fraction A, la fraction B et la fraction C ont des I_s respectives de 0,68 ; 10,48 ; 1,49 ; 1,45 et 1,57 et sur la cellule MCF-7, l'extrait aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana*, *A. schweinfurthii*, la fraction A, la fraction B et la fraction C ont des I_s respectives de 1,02 ; 2,72 ; 35,97 ; 12,84 et 3,19. Hormis l'extrait aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* qui possède une I_s inférieure à 1 ce qui signifie que cet extrait est cytotoxique pour la cellule cancéreuse MDA-MB-361 et pour la cellule saine Véro, tous les échantillons testés ont une toxicité sélective sur la cellule MDA-MB-361 et sur la cellule MCF-7.

III-3-1-2) Cinétique de la viabilité cellulaire

Dans le but d'étudier l'effet cytotoxique des extraits et des fractions sur les cellules MDA-MB-361 et MCF-7, l'absorbance a été mesurée dans un intervalle de temps de 24 h en exposant ces cellules au LC_{50} des différents extraits et fractions. Les Figures 46 et 47 résument l'étude de la cinétique de la viabilité des cellules MDA-MB-361 et MCF-7.

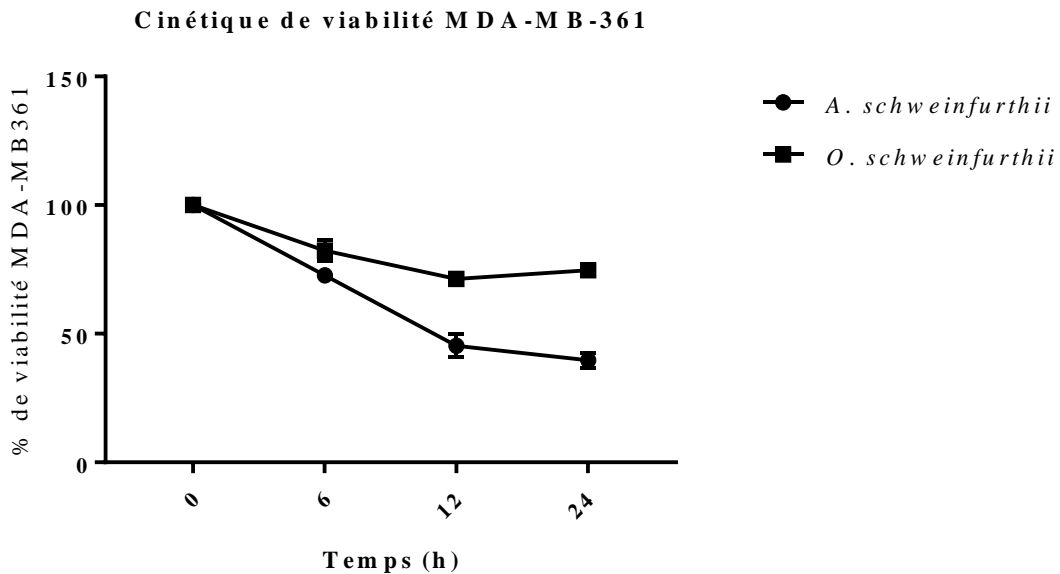


Figure 46 : Cinétique cytotoxique des extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* aux concentrations respectives de 72,75 $\mu\text{g/mL}$ et 12,5 $\mu\text{g/mL}$ sur la lignée cellulaire MDA-MB-361

L'analyse de cette figure montre que l'extrait aqueux des écorces de *A. schweinfurthii* induit une forte activité cytotoxique sur la cellule MDA-MB-361. Le pourcentage de viabilité cellulaire diminue de 50 % après 12 h d'exposition de l'extrait de *A. schweinfurthii* sur la cellule MDA-MB-361. Après 24 h on constate que ce pourcentage varie très peu, ce qui signifierait que l'extrait aqueux de *A. schweinfurthii* posséderait une activité cytotoxique optimum située entre 0 et 12 h d'exposition à la cellule MDA-MB-361. En ce qui concerne l'activité cytotoxique de l'extrait aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* sur la souche MDA-MB-361, on constate que le pourcentage de viabilité cellulaire diminue très peu de 0 jusqu'à 12 h d'exposition de cet extrait avec la cellule MDA-MB-361, de même on remarque qu'après 12 h, le pourcentage de viabilité cellulaire augmente ; ce résultat confirme la faible activité cytotoxique de l'extrait aqueux de *O. schweinfurthiana* sur la souche MDA-MB-361, car l'augmentation du pourcentage de viabilité cellulaire après 12 h d'exposition avec la souche MDA-MB-361 nous laisse croire que cette dernière aurait toléré la présence de

l'extrait d'où la croissance cellulaire qui se traduit par l'augmentation du pourcentage de viabilité.

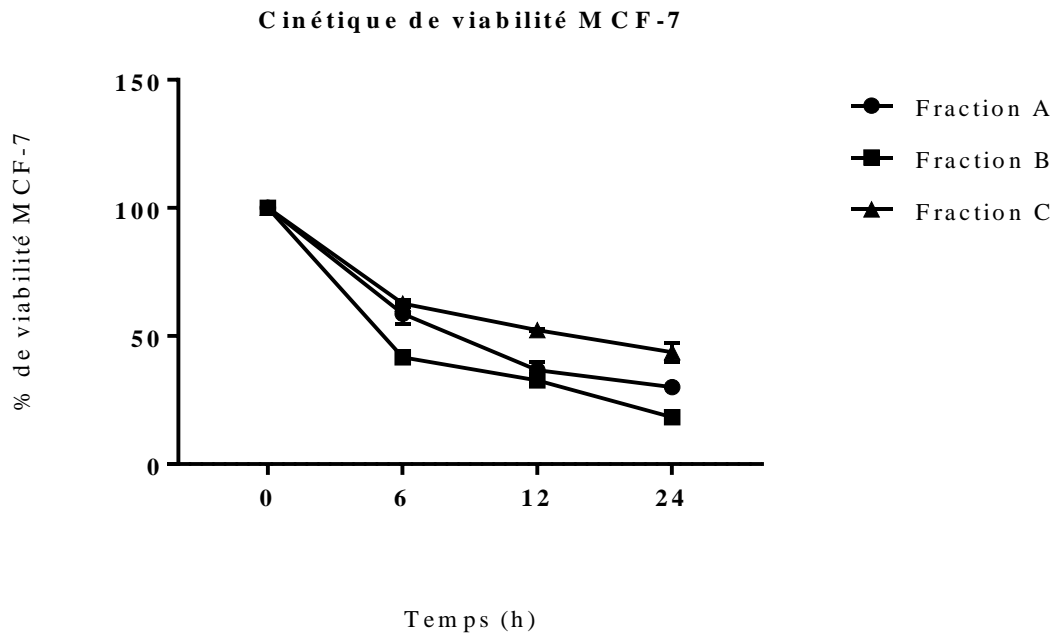


Figure 47 : Cinétique cytotoxique de la la fraction A, la fraction B et la fraction C aux concentrations respectives de 2,5 $\mu\text{g/mL}$ et 3,23 $\mu\text{g/mL}$ et 18,4 $\mu\text{g/mL}$ sur la lignée cellulaire MCF-7

La figure ci-dessus montre que la fraction A, la fraction B et la fraction C possèdent une activité cytotoxique sur la cellule MCF-7 qui est proportionnelle au temps d'exposition. En effet, on constate une diminution du pourcentage de viabilité cellulaire de 0 à 6 h, de 6 h à 12 h et de 12 h à 24 h : ce qui nous amène à tirer la conclusion selon laquelle la fraction A, la fraction B et la fraction C possèdent une activité cytotoxique vis-à-vis de la cellule MCF-7 qui augmente avec le temps d'exposition.

III-3-2) Resultat de la génotoxicité

Le test d'Ames sans activation métabolique est conçu uniquement pour la détection directe des mutagènes. Pour désigner une substance comme mutagène, une réponse positive dans une seule souche bactérienne avec ou sans activation métabolique est suffisante. Le Tableau XX ci-dessous résume les résultats de la génotoxicité.

Tableau XX : Sommaire des tests de génotoxicité

Echantillons	Concentrations (mg/mL)	Souches de <i>Salmonella typhimurium</i>	
		TA 98	TA 100
Extrait aqueux écorces	5	32± 0,000	113±2,60
<i>A. schweinfurthii</i>	0,5	35±0,33	50,33±1,66
	0,005	32±0,33	97,66±2,66
Extrait aqueux feuilles	5	29± 0,01	120±3,40
<i>A. schweinfurthii</i>	0,5	32±0,58	60,33±2,56
	0,005	36±0,33	87,66±1,46
Extrait aqueux des écorces	5	20± 0,57	119±2
<i>O. schweinfurthiana</i>	0,5	18,66±0,33	126,00±2
	0,005	9,33±0,33	131±2,33
Extrait aqueux des feuilles	5	21± 0,77	109±2
<i>O. schweinfurthiana</i>	0,5	19,66±0,43	116,00±2
	0,005	10,43±0,13	121±1,3
4NQO		133±0,57	95,66±0,54
Eau		22,00±0,57	104,00±2,00

Légende : control positif : 4NQO, controle négatif : eau

Les souches bactériennes TA 98 et TA 100 sont souvent utilisées car elles détectent la grande majorité des mutagènes. Les résultats positifs de la souche TA 98 de *Salmonella typhimurium* détectent des mutations par déplacement de trame basées sur la réversion spontanée de *Salmonella typhimurium* de His⁻ à His⁺ causée par des extraits de plantes brutes. Les résultats positifs causés par TA 100 indiquent une substitution de paires de bases. Les extraits évalués doivent présenter une augmentation dose-dépendante du nombre de révertants afin d'être considérés comme génotoxiques. De plus, le nombre de colonies révertantes des extraits doit être supérieur ou égal à deux fois celui du témoin négatif. Cependant, dans cette étude, aucun des extraits testés n'a démontré une augmentation proportionnelle à la dose ou des colonies révertantes dont le nombre était supérieur ou égal au double du nombre de témoins négatifs. Par conséquent, les extraits de plantes testés manquaient de composés génotoxiques directs. Dans tous les cas, les valeurs du contrôle négatif ainsi que du contrôle positif étaient dans les limites normales et conformément à la littérature.

III-3-3) Discussion partielle

En général, les produits naturels sont moins toxiques que les produits synthétiques (Tulay, 2012). La réalité est que les plantes médicinales sont largement utilisées par les populations des pays en voie de développement pour traiter plusieurs pathologies. Bien que les plantes médicinales soient utilisées en thérapies depuis des décennies, cela ne signifie pas pour autant qu'elles sont sans danger, car elles peuvent être dangereuses à long terme. D'ailleurs, dans la plupart des pays, il n'existe pas de système réglementaire universel assurant la sécurité et l'activité des produits naturels et ceux-ci en général, n'ont pas fait l'objet d'une étude analytique ou toxicologique (Valerio et Conzales, 2005). En effet, les plantes médicinales peuvent être potentiellement toxiques pour la santé humaine. Plusieurs études ont démontré le caractère potentiellement toxique, mutagenique et carcinogène des plantes médicinales (Ferreira-Machado *et al.*, 2004).

Dans cette étude, le test d'Ames a été utilisé pour détecter les agents mutagènes dans les extraits sans activation métabolique. Ce test est l'un des tests les plus recommandés pour détecter les agents mutagènes dans les extraits de plantes. Les souches *Salmonella typhimurium* TA 98, TA 100 ont été utilisées à cet effet. D'après la littérature, en présence des extraits bruts de plantes, une transformation de la souche *Salmonella typhimurium* TA 98 de HIS⁻ à HIS⁺ par réversion spontanée entre paire de base GC, met en évidence des résultats positifs ; alors que la substitution d'une paire de base sur la souche *Salmonella typhimurium* TA100 met en évidence les résultats positifs des extraits bruts de plantes. Pour être considéré comme génotoxique, l'augmentation du nombre de révertants doit être proportionnelle à la concentration des extraits testés, ou encore le nombre de colonies obtenues par l'effet génotoxique des extraits testés doit être supérieur ou égal au double du nombre de colonies obtenues par l'effet génotoxique du contrôle négatif (Maron et Ames, 1983). Il ressort de cette étude que, les extraits des écorces et feuilles de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* sont non génotoxiques car ils n'ont pas démontrés une augmentation concentration-dépendante, ni de colonies révertantes supérieures ou égales au double du nombre de colonies révertantes du contrôle négatif. Ce résultat pourrait s'expliquer par le fait que ces extraits sont constitués d'inhibiteurs d'agents génotoxiques qui peuvent notamment agir, en inhibant l'interaction entre les gènes et l'agent génotoxique biochimiquement réactif ou en agissant indirectement en inhibant l'activation métabolique des substances toxiques (Tulay, 2012). Ce résultat montre que les extraits aqueux de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* sont dépourvus de toutes substances génotoxiques pouvant entraîner des mutations par réversion ou par substitution dans le matériel génétique d'un organisme.

Dans la phase terminale du cancer du sein, le microenvironnement de la cellule cancéreuse est soumis à une importante activité oxydante et inflammatoire causée par la présence des cellules immunitaires. Le stress oxydant qui en résulte entraîne la prolifération et la dissémination des cellules mammaires cancéreuses dans le reste de l'organisme. Les extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* qui ont démontré une activité préventive du stress oxydant et une activité anti-inflammatoire prometteuse, ont été testés pour évaluer leur toxicité vis-à-vis des cellules cancéreuses MDA-MB-361, MCF-7 et Véro. Les résultats obtenus montrent que l'extrait aqueux des écorces de *A. schweinfurthii* ne posséderait pas d'effet délétère lors d'une utilisation à visée antioxydante et/ou anti-inflammatoire. Ses indices de sélectivité sont égaux à 0,85 et 1,47 lorsqu'on divise la LC_{50} de la cellule saine Véro par la IC_{50} obtenue dans les tests pharmacologiques d'ABTS et inhibition du 15-lipoxygénase ; ce résultat signifie tout simplement que l'effet pharmacologique de l'extrait aqueux des écorces de *A. schweinfurthii* possède un effet pharmacologique avec une toxicité relative sur la cellule Véro par conséquent doit être utilisé avec beaucoup de précaution pour stopper le mécanisme radicalaire des ERO, impliquées dans les processus dégénératifs. L'extrait aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* posséderait une toxicité relative sur la cellule saine, car son indice de sélectivité est de 0,35 et 1,55 lorsqu'on divise la IC_{50} obtenue dans les tests pharmacologiques d'ABTS et inhibition du 15-lipoxygénase par la LC_{50} obtenu sur la cellule saine. Ce résultat suggère que les extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* doivent être utilisés avec beaucoup de précaution c'est-à-dire d'une façon non abusive lors d'un traitement en médecine douce. Cependant, la toxicité aigüe rapportée par **Ibrahim et al. (2015)** révèle que la dose létale des extraits aqueux de *O. schweinfurthiana* est supérieure à 5000 mg/kg, ce qui signifie qu'en réalité cet extrait est sans danger pour l'homme.

En ce qui concerne les résultats de la cytotoxicité vis-à-vis des cellules MDA-MB-361 et sur la cellule MCF-7, d'après le programme de screening des extraits de plantes des USA (NCI), un extrait de plante est dit cytotoxique lorsque sa LC_{50} est $< 20 \mu\text{g/mL}$ (**Boik, 2001**). L'extrait aqueux de *A. schweinfurthii* a une cytotoxicité sélective sur la cellule MDA-MB-361 avec une LC_{50} de $12,5 \mu\text{g/mL}$, pourtant la fraction A et la fraction B isolés des extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* présentent une cytotoxicité sélective sur la cellule MCF-7 avec des LC_{50} respectives de 2,502 et $3,23 \mu\text{g/mL}$. Les indices de sélectivité obtenues en divisant la LC_{50} de la cellule saine par la LC_{50} des cellules cancéreuses confirme la cytotoxicité sélective de l'extrait aqueux des écorces de *A. schweinfurthii* ainsi que celle des fractions A et B sur les cellules MDA-MB-361 et MCF-7. L'extrait aqueux des écorces de *A.*

schweinfurthiana possède des indices de sélectivité de 10,48 et 2,72 respectivement sur la cellule MDA-MB-361 et MCF-7. La fraction A avec les indices de sélectivité de 1,49 et 35,97 ; la fraction B ayant les indices de sélectivité de 1,45 et 12,84 et la fraction C ayant des indices de sélectivité de 1,57 et 3,19 respectivement sur les cellules MDA-MB-361 et MCF-7. Ces résultats traduisent la cytotoxicité sélective sur les cellules cancéreuses et sans effet délétère pour la cellule saine. Ce résultat est très prometteur, car respecte le principe de la chimiothérapie anti-cancéreuse ; la toxicité est l'un des dangers de la chimiothérapie anti-cancéreuse. Le plus souvent, les médicaments utilisés en chimiothérapie sont cytotoxiques à la fois pour la cellule cancéreuse et la cellule saine de l'organisme, ce qui contribue à détériorer davantage la santé du patient (**Mazzoti, 2012**). Malheureusement, au Cameroun, la plupart des patientes souffrantes d'un cancer du sein arrivent à l'hôpital à la phase terminale de la maladie ; à ce stade, les moyens de traitement sont généralement palliatifs dans le but d'améliorer la vie de la patiente ou alors pour prolonger au maximum sa survie. Les extraits aqueux de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* constitués de biomolécules ayant des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires seraient très indiqués non seulement pour une chimiothérapie préventive, mais également peuvent être utilisés comme chimiothérapie palliative pour soulager ces patientes.

La non-génotoxicité et la non cytotoxicité des extraits aqueux de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* vis-à-vis des cellules Véro corroborent les études toxicologiques *in vivo* précédemment rapportées. La toxicité aiguë des extraits aqueux de *O. schweinfurthiana* a été déterminée par **Ibrahim et al. (2015)**. Celle-ci révèle que la dose létale des extraits aqueux de *O. schweinfurthiana* est de 774,6 mg/kg par voie intrapéritonéale et une dose létale supérieure à 5000 mg/kg par voie orale (**Ibrahim et al., 2015**). La toxicité aiguë des extraits aqueux de *A. schweinfurthii* à 2000 mg/kg n'a présenté aucun décès chez les rats et aucun changement significatif des paramètres morphologiques chez les rats (**Christophe et al., 2015**). De même, la toxicité subaiguë des extraits aqueux de *A. schweinfurthii* testés à 250 mg/kg, 500 mg/kg et 1000 mg/kg n'a montré aucun effet significatif sur les paramètres biochimiques évalués sur les rats mâles et femelles de souches Wistar (**Christophe et al., 2015**).

III-3-4) Conclusion partielle

L'activité non génotoxique démontrée par les extraits de plantes testés ne confirme pas qu'ils sont sans danger pour l'Homme car leurs métabolites pourraient être génotoxiques chez celui-ci. Cependant, elle confirme que les extraits étudiés ne sont pas génotoxiques sur les

souches bactériennes *Salmonella typhimurium* TA 98 et TA 100 contre laquelle ils sont testés. La non génotoxicité des extraits d'intérêts testés dans cette thèse, vient consolider davantage les études toxicologiques précédentes rapportées sur ces plantes ; leur utilisation serait donc sans aucun risque pour stopper la prolifération des cellules mammaires cancéreuses et soulager les symptômes associés au cancer du sein dans sa phase terminale. La non cytotoxicité sur les cellules Véro à la concentration la plus élevée testée, à savoir 1 mg/mL de certains extraits bioactifs, est remarquable. La cytotoxicité sélective des extraits aqueux des écorces de *A. schweinfurthii* sur la lignée MDA-MB-361, la cytotoxicité sélective de la fraction A et la fraction B sur la cellule MCF-7 est prometteuse, car ceci pourrait être couplée à la chimiothérapie ciblée contre la prolifération des cellules mammaires cancéreuses. L'indice de sélectivité calculé à partir des IC₅₀ obtenues dans le test d'ABTS est inférieur à 1 et supérieure à 1 lorsque les IC₅₀ obtenues dans le test d'inhibition de la 15-lipoxygénase sont utilisées. Ce résultat suggère que les extraits de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* doivent être ingérés avec prudence en médecine douce pour le traitement des différentes pathologies.

III-4-1) Rendement d'isolement des composés de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii*

III-4-1-1) Rendement d'isolement des composés de *O. schweinfurthiana*

Le Tableau XXI ci-dessous récapitule le rendement d'isolement des composés purs à partir de la fraction à l'acétate d'éthyle obtenue après le partage du lyophilisat aqueux de l'extrait des écorces de *O. schweinfurthiana*.

Tableau XXI : Rendement d'isolement des composés de *O. schweinfurthiana*

Composés	masse obtenue (mg)	Masse de départ (mg)	Rendement (%)
9	74	1033	7,163601162
10	13,6	1033	1,316553727
13	7,24	1033	0,700871249
14	61	1033	5,905130687
15	2,5	1033	0,242013553
17	25	1033	2,420135528

III-4-1-2) Rendement d'isolement des composés de *A. schweinfurthii*

Le Tableau XXII ci-dessous récapitule le rendement d'isolement des composés purs à partir de la fraction à l'acétate d'éthyle obtenue après le partage du lyophilisat aqueux des écorces de *A. schweinfurthii*.

Tableau XXII : Rendement d'isolement des composés de *A. schweinfurthii*

Composés	Masse obtenue (mg)	Masse de départ (mg)	Rendement (%)
3	15	918	1,633986928
4	17	918	1,851851852

III-4-2) Résultat de l'étude analytique Par LC/MS

III-4-2-1) Résultat de la LC/MS de *O. schweinfurthiana*

La Figure 48 ci-dessous est le chromatogramme obtenu à partir des extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana*. Grâce à ce chromatogramme, 6 composés ont été isolés et identifiés ; l'identification se fait grâce à la base de données Scifinder et par comparaison avec les données de la revue de la littérature.

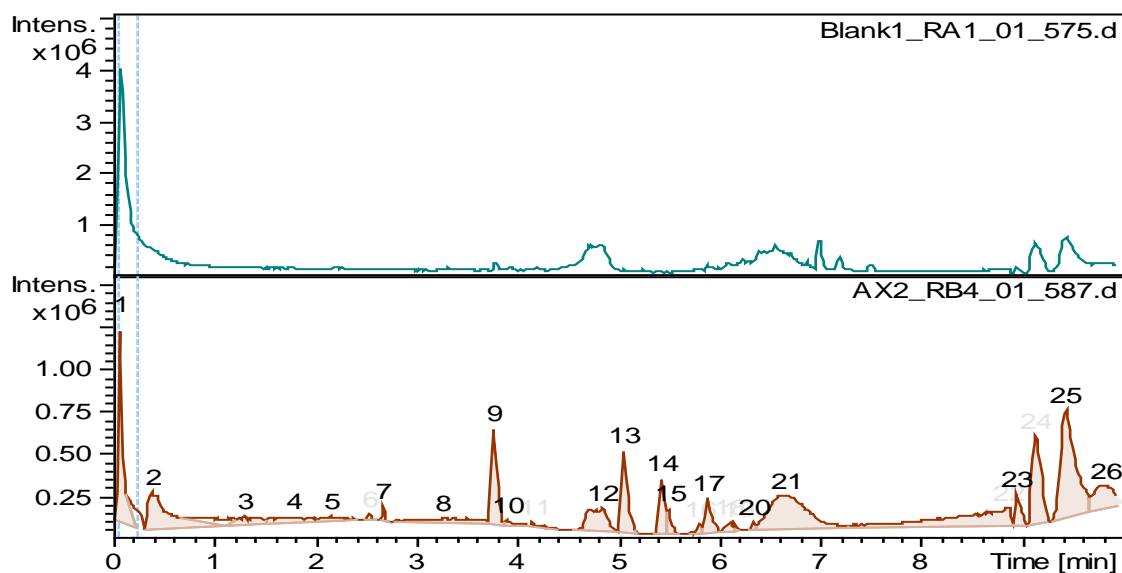
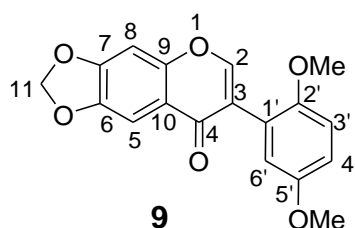


Figure 48 : Chromatogramme LC-MS obtenu à partir des écorces de *O. schweinfurthiana*

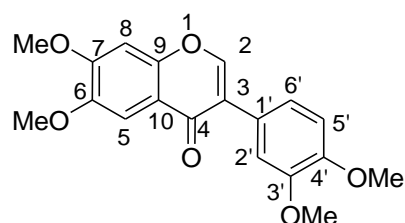
Les composés de l'extrait analysé, sont ceux présents dans l'extrait (codifié à AX2 l'hors de l'analyse) et absents dans le blanc. Les composés 1 ; 12 ; 21 ; 23 ; 25 ; 26 de l'extrait aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* présents dans le blanc au même temps de rétention ne sont pas comptés comme les composés de l'extrait analysé. Les composés majoritaires (9 ; 10 ; 13 ; 14 ; 15 ; 17 et 20) ont été isolés et identifiés dans cette étude.

Hémérocallone (9), solide jaune amorphe, présentait un pic d'ions pseudo-moléculaires à m/z 326,1428 $[M]^+$ dans les HRESIMS (le spectre est représenté en Annexe 10), répondant à la formule moléculaire $C_{18}H_{14}O_6$ et un temps de rétention de 3,8 min. Toutes ces données physiques et spectroscopiques sont très semblables à celles des données précédemment rapportées par **Zhong (2011) ; Ndongo *et al.* (2015)**.



Hemerocallone

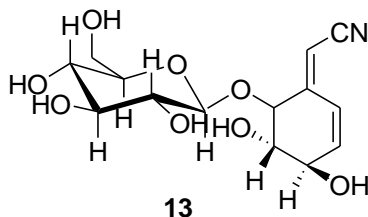
6,7-diméthoxy-3'-4'-diméthoxyisoflavone (10), solide jaune amorphe. Le spectre de masse des ions positifs présentait un pic pseudo-moléculaire à m/z 342,1021 $[M]^+$ Dans les HRESIMS (Spectre en Annexe 11) suggérant la formule moléculaire $C_{19}H_{18}O_6$ et un temps de rétention de 3,9 min, ce composé a été préalablement isolé et identifié par **Ortega *et al.* (2015), Ndongo *et al.* (2015)**.



6,7-dimethoxy-3'-4'-dimethoxyisoflavone

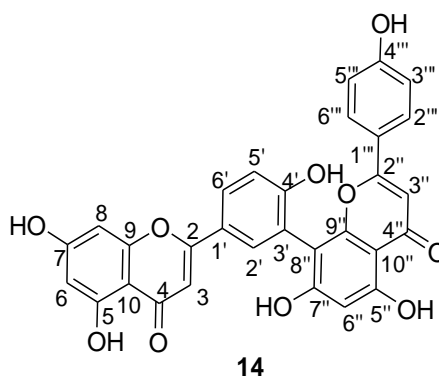
Lithospermoside (13), solide jaune amorphe a montré un pic d'ions pseudo-moléculaire à m/z 329,1258 $[M]^+$ dans HRESIMS (Annexe 12), ce qui correspond à la

formule moléculaire $C_{14}H_{19}NO_8$ et à un temps de rétention de 5,2 min, également identifié par **Quanbin *et al.* (2001)**, **Ndongo *et al.* (2015)**.



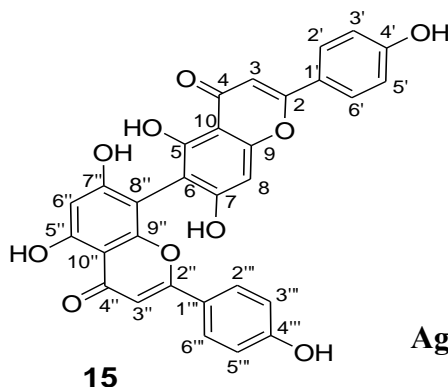
Lithospermoside

Amentoflavone (14), il s'agit d'un solide jaune qui a montré un pic pseudo-moléculaire à m/z 537,0826 $[M+H]^+$ dans les HRESIMS (Annexe 13) correspondant à la formule moléculaire $C_{30}H_{18}O_{10}$, avec un temps de rétention de 5,2 min. Toutes ces données physiques et spectroscopiques sont très similaires à celles des données précédemment rapportées par **Wooer *et al.* (2005)** ; **Ndongo *et al.* (2015)**.



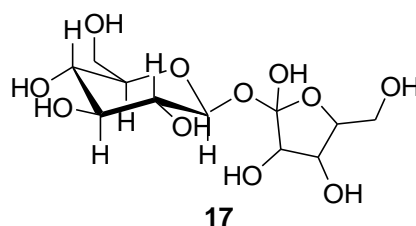
Amentoflavone

Agathisflavone (15), poudre jaune amorphe, présente un pic ionique pseudo-moléculaire à m/z 539,2010 $[M + H]^+$ dans les HRESIMS (Annexe 14) correspondant à la formule moléculaire $C_{31}H_{30}O_{10}$ et un temps de rétention de 5,3 min. Ce composé a été isolé et identifié précédemment par **Souza *et al.* (2008)** et **Ndongo *et al.* (2015)**.



Agathisflavone

Le **β -D-fructofuranosyl- α -D-glucopyranoside (17)**. Poudre jaune amorphe a montré un pic de pseudo-ion moléculaire à m/z 666,2125 $[M+H]^+$ dans le HRESIMS (Annexe 15) correspondant à la formule $C_{24}H_{42}O_{21}$ et un temps de rétention de 5,8 min, ce composé a été isolé et identifié par **Tasuya *et al.* (2012)** et **Ndongo *et al.* (2015)**. Les structures des composés isolés ont été élucidées en utilisant la spectrométrie MS et par des comparaisons avec des données précédemment rapportées.



β -D-fructofuranosyl- α -D-glucopyranoside

III-4-2-2) Résultat de la LC/MS de *A. schweinfurthii*

Le chromatogramme de la Figure 49 ci-dessous est celui obtenu après l'analyse par LC/MS de l'extrait des écorces de *A. schweinfurthii*. Grâce à ce chromatogramme, 2 composés ont été isolés et identifiés (Composés 3 et 4) de cet extrait, 4 autres composés (composés 8, 13, 17 et 20) ont été identifiés. L'identification se fait en utilisant la base de données Scifinder et par comparaison avec les données de la revue de la littérature.

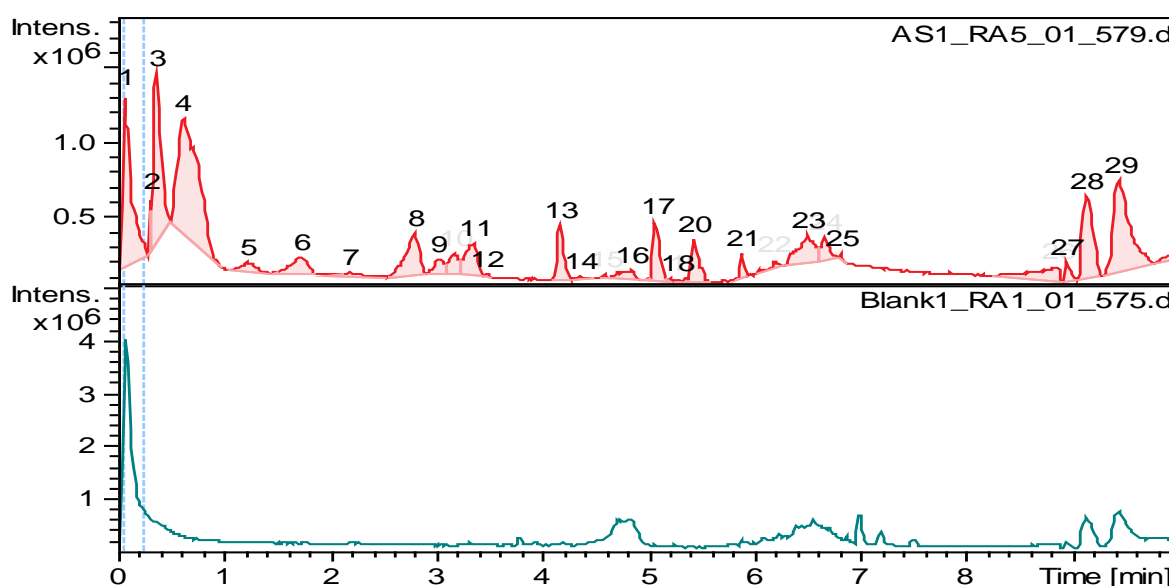
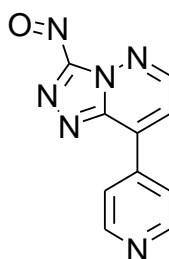


Figure 49 : Chromatogramme LC-MS obtenu à partir des écorces de *A. schweinfurthii*

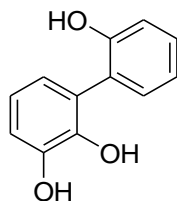
3-Isocyanato-8-(4-pyridinyl)[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazine ou composé 3 présentait un pic ionique pseudo-moléculaire à m/z 239, 067 $[M + H^+]^+$ dans les HRESIMS (Spectre en Annexe 16) correspondant à la formule moléculaire de $C_{11}H_6N_6O$ et un temps de rétention de 1,3 min, ces données spectroscopiques sont similaires à celles décrites par **Shen *et al.* (2017)**. Le composé 3 a été identifié comme le 3-Isocyanato-8-(4-pyridinyl) [1,2,4] triazolo [4,3-b] pyridazine.



3

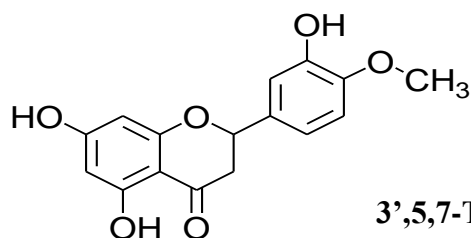
3-Isocyanato-8-(4-pyridinyl)[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazine

Le composé 4, cristaux blanchâtres, présentait un pic ionique pseudo-moléculaire à m/z 203,06 $[M+H^+]^+$ dans les HRESIMS (Annexe 17) correspondant à la formule moléculaire de $C_{12}H_{10}O_3$ avec un temps de rétention de 1,8 min, ce composé a été préalablement isolé et identifié par **Kameyama *et al.* (2012)**.



Biphenyltriol

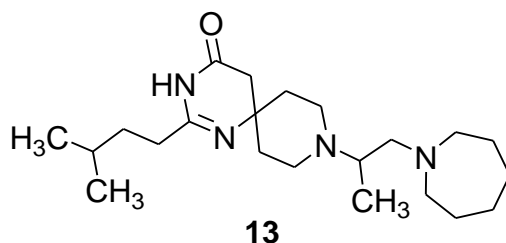
Le composé 8, poudre blanchâtre, présentait un pic pseudo-moléculaire d'ions à m/z 302,0874 $[M+Na^+]^+$ dans le HRESIMS (Annexe 18) correspondant à la formule moléculaire de $C_{16}H_{14}O_6$ et un temps de rétention de 3,3 min, le composé 8 a été identifié comme étant la 3',5,7-Trihydroxy-4'-méthoxyflavanone.



3',5,7-Trihydroxy-4'-methoxyflavanone

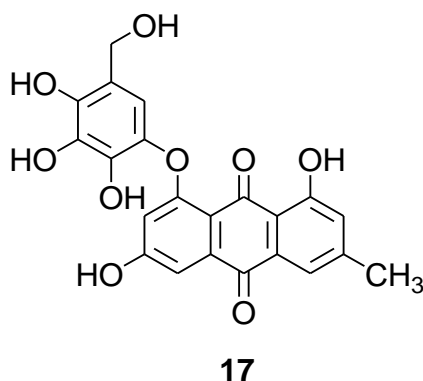
8

Le composé 13 avait un pic ionique pseudo-moléculaire de m/z à 362,3123 $[M+Na^+]^+$ dans le HESIMS (Annexe 19) correspondant à la formule moléculaire de $C_{21}H_{38}N_4O$ avec un temps de rétention de 5,1 min. Il a été isolé et identifié précédemment par **Zhong, (2011)** comme étant le 8- [1-(1-Azépanyl)- 2-propanyl] -2- (3-méthylbutyl) -1,3,8-triazaspiro [4.5] déc-1-én-4-one.



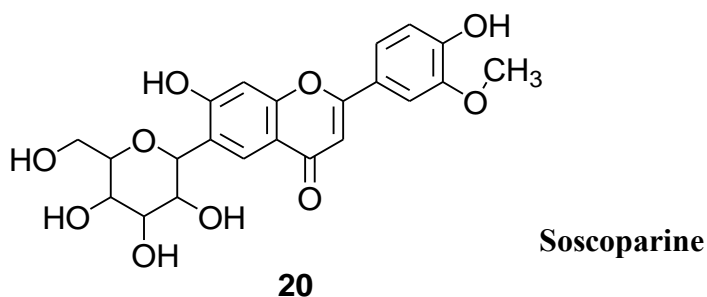
8-[1-(1-Azepanyl)-2-propanyl]-2-(3-methylbutyl)-1,3,8-triazaspiro[4.5]dec-1-en-4-one

Le composé 17 présentait un pic d'ions de formule pseudo-moléculaire m/z à 302,0874 $[M+Na^+]^+$ dans les HRESIMS (Annexe 20) correspondant à la formule moléculaire de $C_{21}H_{20}O_{10}$, avec un temps de rétention de 5,9 min ; le composé 17 a été identifié comme le 3,8-Dihydroxy-6-méthyl-9,10-dioxo-9,10-dihydro-1-anthracényl- β -D-glucopyranoside.



3,8-Dihydroxy-6-méthyl-9,10-dioxo-9,10-dihydro-1-anthracényl- β -D-glucopyranoside

Le dernier composé, le composé 20, présentait un pic d'ions de formule pseudo-moléculaire à m/z 463,12 $[M+Na^+]^+$ dans le HRESIMS (Annexe 21) correspondant à la formule moléculaire brute $C_{22}H_{22}O_{11}$ avec un temps de rétention de 6,4, appelé Soscoparine.



III-4-3) Discussion partielle

L'analyse pharmaceutique est fondamentale pour la découverte et le développement de nouveaux médicaments. Une telle analyse ne peut être réalisée sans le développement de LC, notamment de LC-MS. La LC-MS sert généralement d'équipement d'identification et de dispositif de nettoyage des échantillons. La LC-MS est principalement préférée pour l'analyse pharmaceutique (**Kagan et al., 2009**).

Nous rapportons l'isolement et l'identification de l'hemerocallone; la 6,7-diméthoxy-3'-4'-diméthoxyisoflavone; le lithospermoside; l'amentoflavone; l'agathisflavone; le β -D-fructofuranosyl- α -D-glucoopyranoside à partir des fractions de l'extrait aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana*. Ce résultat corrobore ceux de **Pegnyemb et al. (2003)** et **Abdullahi et al. (2010)** qui ont révélé que la famille des Ochnaceae est riche en dimères complexes de flavonoïdes et de chalcones. Des études phytochimiques antérieures sur l'écorce d'*Ochna schweinfurthiana* ont permis d'isoler et d'identifier les flavonoïdes et les glucosides des feuilles et les bioflavonoïdes des racines (**Abdullahi et al., 2014**). Récemment, une amentoflavone et une agathisflavone ont été isolées de l'écorce de la tige de *O. schweinfurthiana* (**Ndongo et al., 2015 ; Messi et al., 2016**). Amentoflavone et agathisflavone ont été précédemment isolés de *Selaginella tamariscina* (Selaginellaceae) et de *Rhus parviflora* (Anacardiaceae), respectivement. Les deux composés ont montré une bonne cytotoxicité vis-à-vis des lignées de cellules cancéreuses HeLa avec des valeurs de CI_{50} de 20,0 et 15,2 mM, respectivement (**Shrestha et al., 2012**). L'Amentoflavone a déjà montré une activité antivirale (**Lin et al. 1999**). Il induit également une apoptose dans les cellules cancéreuses du sein MCF-7 (**Pei et al., 2012**) et inhibe la prolifération des cellules de leucémie promyélocytaire humaine (HL-60), MCF-7, HeLa et du carcinome hépatocellulaire humain BEL-7402 avec des valeurs de IC_{50} comprises entre 47 et 77 mM. Agathisflavone a inhibé la β -sécrétase à une concentration de 10 mM (**Shrestha et al., 2012**).

En ce qui concerne *A. schweinfurthii*, un stéroïde, la schweinfurthiine, deux composés connus, la bauérénone, le bauéréinol et les xanthones ont été isolés et identifiés de *A. schweinfurthii* par **Mbouanguere et al. (2007)**.

III-4-4) Conclusion partielle

L'analyse phytochimique préliminaire des extraits aqueux des feuilles et écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* a révélé la présence de nombreux métabolites secondaires tels que les alcaloïdes, stéroïdes, tanins catéchiques, flavonoïdes, saponines et

triterpènes. Grâce à la LC/MS, l'Hermerocallone ; la 6,7-dimethoxy-3'-4'-dimethoxyisoflavone ; la lithospermoside ; l'amentoflavone ; l'agathisflavone et la β -D-fructofuranosyl- α -D-glucopyranoside ont été isolés et identifiés de *O. schweinfurthiana*. La 3-isocyanato-8-(4-pyridinyl) [1, 2,4]-triazolo-[4,3- β] pyridazine et le biphenyltriol ont été isolés et identifiés de *A. schweinfurthii*. La 3',5,7-trihydroxy-4'-methoxyflavanone; 8-[1-(1-azepanyl)-2-propanyl]-2-(3-methylbutyl)-1,3,8-triazaspiro[4,5]dec-1-en-4-one ; la 3,8-Dihydroxy-6-methyl-9,10-dioxo-9,10-dihydro-1-anthracenyl- β -D-glucopyranoside et la soscoparine ont été identifiés de *A. schweinfurthii*.

III-5) Discussion générale

Lorsque le cancer du sein atteint la phase terminale de la maladie, la guérison n'est plus d'actualité. Les thérapies alternatives et/ou complémentaires restent les seuls recours pour améliorer la vie des patientes (**Gabriella et D'andreg, 2005 ; Thomas-Schoemann et al., 2011**). En effet, le stade métastatique représente le stade le plus évolué et le plus dévastateur du cancer du sein et tout autre cancer. Malheureusement, 80 % des patientes camerounaises sont généralement diagnostiquées à la phase terminale du cancer du sein (**Sando, 2014**). A ce stade, les ERO et le stress oxydant jouent un rôle indiscutable au sein de la tumeur. La concentration des ERO au sein de la plupart des lignées cellulaires cancéreuses est d'ailleurs souvent augmentée par rapport aux cellules normales. Cette augmentation de la production des ERO favorise l'instabilité génétique et accentue la signalisation cellulaire (**Trachoutham et al., 2009, Haugsten et al., 2010 ; Knights et Cook, 2010**) dont la conséquence est la prolifération et la survie de la cellule cancéreuse. Ainsi, on assiste à une hyperprolifération des cellules cancéreuses (**Feng, 2014**). Les ERO jouent encore, à cette étape déterminante du développement tumoral, un rôle prépondérant dans les séquences événementielles qui permettent aux cellules de coloniser des sites secondaires à partir de la tumeur primitive. Dans le stroma de la cellule cancéreuse, il y'a une infiltration des cellules immunitaires anti-tumorales à l'origine d'une surproduction de facteurs nécosants de tumeurs, cytokines, chimiokines, leucocytes et macrophages, des effecteurs à l'origine de l'inflammation chronique. La présence de facteurs de nécrose tumorale α (TNF α) dûe à des macrophages infiltrant et une dérégulation de l'interleukine-6 (IL-6) entraînent une production et une régulation à la hausse d'enzymes inflammatoires telles que les lipoxygénases (**Wisastra et Dekker, 2014**). Les lipoxygénases et leurs produits de catalyse sont associés à des processus cancérogènes tels que la prolifération et la différenciation des cellules tumorales (**Wang et Dubois, 2010**). La 15-lipoxygénase qui est fortement exprimée dans les leucocytes, va

synthétiser les leucotriènes à partir de l'acide arachidonique. Les leucotriènes sont des puissants médiateurs qui permettent de maintenir l'inflammation à perpétuité dans le stroma de la cellule cancéreuse mammaire (Nadel *et al.*, 1991). La recherche fondamentale consacre un intérêt particulier dans la recherche de nouvelles sources d'antioxydants car des études précédentes ont montré que l'utilisation d'antioxydants permettrait de réduire la réactivité des ERO. De nombreux composés antioxydants issus du monde végétal comme les polyphénols, sont pourvus de propriétés anticancéreuses élaborées permettant d'entraver les effets néfastes des ERO (Soobrattee, 2013). Certaines de ces molécules pourraient même agir en synergie avec les anticancéreux conventionnels. Les études précédentes ont montré qu'une supplémentation en antioxydants réduit les effets indésirables liés à la chimiothérapie sans affecter son efficacité, potentialise les effets de la chimiothérapie, renforce le système immunitaire anti-tumoral tout en réduisant l'inflammation (Burstein *et al.*, 1999 ; Helpman *et al.*, 2011). L'implication des ERO dans les mécanismes métastatiques et inflammatoires a été démontrée (Pani *et al.*, 2010). L'inflammation et le mécanisme métastatique sont responsables de la forte mortalité des patientes cancéreuses au Cameroun. En raison du vide thérapeutique dans ce domaine, le ciblage des ERO et de l'inflammation constitue une innovation thérapeutique alternative et/ou complémentaire à la chimiothérapie conventionnelle. L'ambition de cette thèse, a été de proposer une thérapie alternative et/ou complémentaire pouvant être utilisée comme traitement contre le cancer du sein dans sa phase terminale ceci, en étudiant les propriétés préventives du stress oxydant, de l'inflammation et l'activité antiproliférative des extraits aqueux de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* sur les cellules métastatiques du cancer du sein.

L'étude préventive du stress oxydant des extraits aqueux de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* a montré que les extraits aqueux des écorces de ces plantes possèdent les plus fortes teneurs en polyphénols et sont majoritairement constitués en antioxydants secondaires ou préventifs. La teneur en polyphénols est corrélée à l'activité antioxydante. En effet les extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* ont présenté la meilleure activité anti-radicalaire et réductrice *in vitro*.

Le test de réduction du fer par le plasma sanguin montre que les extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* ont la capacité de complexer les métaux lourds et désactiver l'oxygène activé en circulation dans le sang et prévenir ainsi la formation des ERO. Le modèle expérimental effectué sur les rats de laboratoire montre que les extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* testés à la dose 100 mg/kg et

250 mg/kg ont induit une faible activité de la SOD et de la catalase dans les érythrocytes, le foie et dans les reins. Ce résultat est d'autant plus intéressant avec l'extrait aqueux des écorces de *A. schweinfurthii* testé à la dose 100 mg/kg car a induit une faible activité de la SOD et la catalase dans les érythrocytes, le foie et dans les reins, statistiquement identique à celle de l'Acide ascorbique testé à 50 mg/kg. L'induction de la faible activité des principales enzymes antioxydants impliqués dans la défense de l'organisme lors d'une attaque oxydante permet de dire que les extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* sont doués d'activité préventive du stress oxydant car, capables non seulement de piéger les ERO mais empêchent la formation de celles-ci. Plusieurs travaux dans la revue de la littérature ont corrélé la teneur en antioxydants et l'activité antioxydante (Valko *et al.*, 2007). Les travaux de Bailli *et al.* (2009) ont démontré que les espèces du genre *Anthoscleista* sont des sources d'antioxydants. Pegnyemb *et al.* (2003) et Abdullahi *et al.* (2010) ont révélé que la famille des *Ochnaceae* est riche en dimères complexes de flavonoïdes et de chalcones. Ndongo *et al.* (2015), Messi *et al.* (2016) ont isolé et identifié des extraits à l'acétate d'éthyle, l'amentoflavone et l'agathisflanone dans les écorces de *Ochna schweinfurthiana*. Ces biflavonoïdes ont montré une bonne activité antioxydante. Etant donné que l'implication des ERO dans les mécanismes métastatiques et inflammatoires a été démontrée (Pani *et al.*, 2010), la réduction de la production des ERO couplée à l'inhibition de l'inflammation serait un avantage thérapeutique pour soulager les patientes du cancer du sein.

Au Cameroun, la plupart des patientes ayant un cancer du sein, se rend à l'hôpital lorsque la douleur devient insupportable ; la douleur causée et maintenue par l'inflammation chronique est le principal symptôme du cancer du sein dans sa phase terminale. L'étude *in vitro* des extraits aqueux de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* a révélé une activité anti-inflammatoire prometteuse. Les extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* possèdent une forte activité inhibitrice de la 15-lipoxygénase avec des IC₅₀ de 32,19 µg/mL et 37,19 µg/mL. L'extrait aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* a présenté une forte activité inhibitrice de la protéinase avec une IC₅₀ de 75,63 µg/mL, pourtant l'extrait aqueux de *A. schweinfurthii* a montré une activité spécifique inhibitrice de la dénaturation de la protéine BSA avec une IC₅₀ de 13,67 µg/mL. Les extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* sont constitués de potentiels agents anti-inflammatoires. L'étude justifie les utilisations traditionnelles de ces plantes médicinales camerounaises pour le traitement de l'arthrite, des rhumatismes et d'autres pathologies inflammatoires. L'activité anti-inflammatoire des extraits aqueux de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* serait liée à la présence des alcaloïdes, terpènes et des flavonoïdes (Mulaudzi *et al.*, 2013). La

principale classe, les flavonoïdes interfèrent avec les différentes étapes de la cascade d'arachidonate dans la voie de la lipoxigénase afin de soulager les réponses inflammatoires (Mulaudzi *et al.*, 2013). De même, la réduction de la production des ERO, diminue leur effet délétère sur la dénaturation des protéines à l'origine de l'inflammation.

L'évidence de l'activité préventive du stress oxydant et de l'inflammation des extraits aqueux de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* a été démontrée dans cette étude ; cette activité antioxydante et anti-inflammatoire s'expliquerait par la présence des biomolécules actives constituant ces extraits.

La LC-MS a permis de mettre en évidence la présence de plusieurs composés bioactifs dans les extraits aqueux de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii*, ce qui nous a amené non seulement à déterminer l'activité anti-proliférative des extraits étudiés ainsi que les fractions sur les cellules mammaires cancéreuses, mais également à vérifier leur non innocuité sur la cellule saine et sur le matériel génétique.

La non cytotoxicité sur les cellules Véro à la concentration la plus élevée testée, à savoir 1 mg/mL de certains extraits bioactifs, est remarquable. La cytotoxicité sélective des extraits aqueux des écorces de *A. schweinfurthii* sur la lignée MDA-MB-361, la cytotoxicité sélective de la fraction A et la fraction B sur la cellule MCF-7 est prometteuse, car ceux-ci pourraient être couplés à la chimiothérapie ciblée contre la prolifération des cellules mammaires cancéreuses. L'indice de sélectivité calculé à partir des IC₅₀ obtenu est supérieur à 1 lorsque les IC₅₀ obtenues dans le test d'inhibition de la 15-lipoxygénase sont utilisées ; ce résultat suggère que les extraits de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* possèdent un effet pharmacologique supérieur à l'effet délétère sur la cellule Véro. Par ailleurs ces extraits doivent être ingérés avec prudence en médecine douce pour le traitement des différentes pathologies. Le test de génotoxicité effectué sur les extraits de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* confirme que ces extraits ne sont pas génotoxiques sur les souches bactériennes *Salmonella typhimurium* TA 98 et TA 100 contre laquelle ils sont testés. La non génotoxicité vient consolider davantage les études toxicologiques précédentes rapportées sur ces plantes, leur utilisation serait donc sans aucun risque pour stopper la prolifération des cellules mammaires cancéreuses et soulager les symptômes associés au cancer du sein dans sa phase terminale.

L'analyse pharmaceutique est fondamentale pour la découverte et le développement de nouveaux médicaments. Une telle analyse ne peut être réalisée sans le développement de LC, notamment de LC-MS. La LC-MS est principalement préférée pour l'analyse pharmaceutique (Kagan *et al.*, 2009). L'analyse phytochimique préliminaire des extraits aqueux des feuilles et

écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* a révélé la présence de nombreux métabolites secondaires tels que les alcaloïdes, stéroïdes, tanins catéchiques, flavonoïdes, saponines et triterpènes.

Grâce à la LC/MS, l'Hermerocallone ; la 6,7-dimethoxy-3'-4'-dimethoxyisoflavone ; la lithospermoside ; l'Amentoflavone ; l'Agathisflavone et la β -D-fructofuranosyl- α -D-glucopyranoside ont été isolés et identifiés de *O. schweinfurthiana*. Le 3-Isocyanato-8-(4-pyridinyl) [1,2,4]-triazolo-[4,3- β]pyridazine et le biphenyltriol ont été isolés et identifiés de *A. schweinfurthii*. La 3',5,7-Trihydroxy-4'-methoxyflavanone; la 8-[1-(1-Azepanyl)-2-propanyl]-2-(3-methylbutyl)-1,3,8-triazaspiro[4,5]dec-1-en-4-one ; la 3,8-Dihydroxy-6-methyl-9,10-dioxo-9,10-dihydro-1-anthracenyl- β -D-glucopyranoside et la Soscoparine ont été identifiés de *A. schweinfurthii*. Ces résultats corroborent ceux de la littérature, en effet, **Rao et al., (1997)**; **Pegnemb et al., (2003)** ; **Anuradha et al., (2006)**, **Messi et al. (2016)** et **Nyegue et al. (2016)** ont montré que l'espèce *O. schweinfurthiana* est riche en composés tels que les flavonoïdes, anthroïdes, stéroïdes, terpenoïdes, alcaloïdes tandis **Mbouanguere et al. (2007)** a montré *A. schweinfurthii* est principalement constitué des alcaloïdes et xanthones.

Conclusion générale

En phase terminale du cancer du sein, le stroma de la cellule cancéreuse est orchestré par l'inflammation et le stress oxydant qui accentue la prolifération et la dissémination des cellules cancéreuses dans le reste de l'organisme. Les plantes médicinales camerounaises largement utilisées par la population pour le traitement de différentes pathologies, sont constituées des biomolécules actives capables de piéger les ERO, inhiber la réaction inflammatoire et réduire la prolifération des cellules métastatiques du cancer du sein. Dans le but de proposer une chimiothérapie palliative pour le traitement du cancer du sein dans sa phase terminale, nous nous sommes proposés d'étudier les propriétés préventives du stress oxydant, de l'inflammation et l'activité anti-proliférative des extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* sur les cellules mammaires cancéreuses. Au terme de cette étude, nous émettons les conclusions suivantes :

❖ Les extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* sont efficaces pour piéger les ERO, désactiver les métaux lourds pour empêcher la formation des ERO. Le modèle expérimental réalisé sur les animaux montre que ces extraits testés à la dose 100 mg/kg sont efficaces soit pour piéger les ERO produits, soit pour empêcher la formation des ERO en complexant les métaux lourds produits de façon naturelle dans l'organisme. Les extraits aqueux de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* ont présenté une capacité préventive du stress oxydant. Ceci est d'autant vrai car, l'administration de ces extraits chez les rats mâles de souches Wistar a induit une faible activité des principales enzymes antioxydantes actives, la SOD et la catalase suite à une induction du stress oxydant.

❖ Les extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* ont montré une activité anti-inflammatoire prometteuse, car ils ont une forte capacité inhibitrice d'une enzyme surexprimée dans les leucocytes à savoir la 15-lipoxygénase, à l'origine de l'inflammation chronique dans le stroma de la cellule mammaire cancéreuse. Ces extraits possèdent des IC_{50} de 32,19 $\mu\text{g/mL}$ et 37,19 $\mu\text{g/mL}$ respectivement pour l'extrait aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* et pour l'extrait aqueux des extraits des écorces de *A. schweinfurthii*. Ces extraits possèdent des capacités inhibitrices de la dénaturation des protéines. En effet, l'extrait aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* a présenté une forte activité inhibitrice de la protéinase avec une IC_{50} de 75,63 $\mu\text{g/mL}$ tandis que l'extrait aqueux de *A. schweinfurthii* possède une forte activité inhibitrice de la dénaturation de la protéine BSA avec une IC_{50} de 13,67 $\mu\text{g/mL}$.

❖ Les extraits aqueux de *O. schweinfurthiana* sont non génotoxiques sur les

souches TA 98 et TA 100, car n'ont pas démontré un nombre de colonies révertantes concentrations dépendantes ou encore le nombre de colonies révertantes des extraits est inférieur ou égal au double du nombre de colonies révertantes du témoin négatif. L'indice de sélectivité des extraits aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* avec les tests pharmacologiques d'ABTS et inhibition de la 15-lipoxygénase est inférieur à 1, ceci suggère que l'extrait aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* doit être pris avec modération, pourtant l'extrait aqueux des écorces de *A. schweinfurthii* possède des indices de sélectivité supérieure à 1 avec le test d'ABTS et le test d'inhibition de la 15-lipoxygénase. L'extrait aqueux des écorces de *A. schweinfurthii* a montré une cytotoxicité sélective sur la cellule MDA-MB-361 avec une IC₅₀ de 12,5 µg/mL. La fraction A et la fraction B ont présenté une cytotoxicité sélective sur la cellule MCF-7 avec respectivement des IC₅₀ de 2,502 µg/mL et 3,23 µg/mL ; tous les échantillons testés étaient non-cytotoxiques vis-à-vis des cellules Véro. Hors mis l'extrait aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana* sur la souche MDA-MB-361 qui a un indice de sélectivité inférieur à 1 en divisant la LC₅₀ obtenue sur la cellule Véro par la LC₅₀ des cellules cancéreuses mammaires, tous les autres échantillons testés ont un indice de sélectivité supérieur à 1, suggérant que les extraits et les fractions actives de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* ont une activité cytotoxique sélective sur les cellules cancéreuses MDA-MB-361 et MCF-7 avec peu ou pas d'effet délétère sur la cellule saine, Véro.

❖ Les alcaloïdes, stéroïdes, tanins catéchiques, flavonoïdes, saponines et triterpène sont les principales familles de composés présents dans les extraits aqueux des deux plantes. L'hemerocallone ; le 6,7-dimethoxy-3'-4'-dimethoxyisoflavone ; la lithospermoside ; l'amentoflavone ; l'agathisflavone ; le β-D-fructofuranosyl-α-D-glucopyranoside ont été isolés et identifiés de l'extrait aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana*. Deux composés ont été isolés et identifiés des extraits aqueux des écorces d'*A. schweinfurthii*, le 3-isocyanato-8-(4-pyridinyl) [1,2,4] triazolo [4,3-b] pyridazine et le biphenyltriol. Quatre autres composés ont été identifiés des extraits aqueux des écorces d'*A. schweinfurthii*, il s'agit de la 3',5,7-trihydroxy-4'-méthoxyflavanone ; le 8-[1-azépanyl)-2propanyl]2-)3-méthyl)-1,3,8-triazaspiro[4,5]déc-1-én-4-one ; ainsi que la 3,8-dihydroxy-6méthyl-9,10dioxo-9,10-dihydro-1-anthracényl-β-D glucopyranoside et la soscoparine.

Perspectives

Les résultats obtenus dans ce travail suggèrent la possibilité d'utiliser les extraits de *O. schweinfurthiana* et *A. schweinfurthii* en particulier ceux de *A. schweinfurthii* pour la chimioprévention et/ou la chimiothérapie palliative pour améliorer et prolonger la vie des

patientes souffrantes du cancer du sein dans sa phase terminale. Cependant, les informations apportées ici établissent une activité effective contre la prolifération des cellules mammaires cancéreuses, mais ne ressortent pas les mécanismes d'action. Aussi, le travail réalisé s'est focalisé beaucoup plus sur l'aspect préventif du stress oxydant, de l'inflammation, l'activité antiproliférative des extraits sur les cellules mammaires cancéreuses et aussi l'évaluation de leur effet délétère sur la cellule saine et le matériel génétique. Il serait donc nécessaire d'approfondir ces travaux dans un futur proche en déterminant :

- 1) La toxicité des composés isolés sur les cellules cancéreuses du sein et déterminer le mécanisme de mort cellulaire,
- 2) L'effet des extraits et composés purs sur la potentialisation immunitaire anti-cancéreuse
- 3) L'intensification des tests de génotoxicité des extraits
- 4) La formulation d'un MTA

Références bibliographiques

Abay G., Altun M., Koldas S., Tüfekci A.R., Demirtas I. *Determination of antiproliferative activities of volatile contents and HPLC profiles of Dicranum scoparium (Dicranaceae, Bryophyta) : Combinatorial Chemistry High Throughput Screening ; 18(5):453–63, (2015).*

Abdelmigid H.M. *New Trends in Genotoxicity Testing of Herbal Medicinal Plants. In: GOWDER, S., Pharmacology, Toxicology and Pharmaceutical Science New Insights into Toxicity and Drug Testing InTech ; Rijeka, (2013).*

Abdullahi M.I., LLiya L., Haruna A.K., Abdullahi M.S. *Preliminary phytochemical and antimicrobial investigations of leaf extracts of Ochna schweinfurthiana (Ochnaceae): African Journal of pharmacy and Pharmacology ; 8(2):93-99, (2014).*

Abdullahi M.I., LLiya L., Haruna A.K., Sule M.I., Abdullahi M.S. *Preliminary Phytochemical and Antimicrobial investigations of leaf extracts of Ochna schweinfurthiana (Ochnaceae) : African Journal of Pharmacy and Pharmacology ; 4(2):083-086, (2010).*

Abdullahi M.I., Musa A.M., Haruna A.K., Pateh U.U., Sule M.I., Abdullahi M.S., Abdulmalik M., Akinwande Y., Abimiku A.G., LLiya L. *Isolation and characterization of an anti-microbial biflavonoid from the chloroform-soluble fraction of methanolic root extract of Ochna schweinfurthiana (Ochnaceae): African Journal of Pharmacy and Pharmacology ; 8:93-99, (2014).*

Abdullahi M.I., Musa A.M., Haruna A.K., Sule M.I., Abdulmalik I.A., Abdullahi M.S., Abimiku A.G. et LLiya L. *Anti-microbial flavonoid diglycoside from the leaves of Ochna schweinfurthiana Hoffm (Ochnaceae): Nigerian Journal of Pharmaceutical research and applied Science research ;10: 1-7, (2011).*

Abès R., Dutertre C. et Curie-paris M. *Les anticorps mieux les connaître pour mieux s'en servir : Medecine Science Paris ; 25(12):1011-119, (2009).*

Adongo S.O., Morongo J., Anjou R., New F. *Analysis of selected essential elements of medicinal plants used by Chuka community, Tharaka Nithi county, Kenya : Science Journal, (2012).*

Aebi H. *Catalase. Methods Enzymology ; 105:121-126, (1984).*

Afonso V., Champy R., Mitrovic D., Collin P., Lomri A. *Reactive oxygen species and superoxide dismutases : role in joint diseases ;* Revue du Rhumatisme 74(7):636-643, (2007).

Agbor G.A., Talla L., Ngongang J.Y. The antidiarrhoeal activity of *Alchornea cordifolia* leaf extract : Phytotherapy Research ; 18(11):873-876, (2004).

Ahmed A.U. *An overview of inflammation: mechanism and consequences ;* Frontiers in biology ; 6(4): 274–281, (2011).

Albelda S.M., Mette S.A., Elder D.E., Stewart R., Damjanovich L., Herlyn M., Buck C.A. *Integrin distribution in malignant melanoma: association of the beta 3 subunit with tumor progression ;* Cancer Research.; 15(20) : 6757-6764, (1990).

Ali S.S., Kasoju N., Luthra A., Singh A., Sharanabasava H., Sahu A., Bora U. *Indian medicinal herbs as sources of antioxidants ;* Food research international journal ; 41:1-15, (2008).

Anuradha V., Srinivas P.V., Rao R.R., Manjulatha K., Purohit M.G., Rao J.M. *Isolation and synthesis of analgesic and anti-inflammatory compound from Ochna squarrosa:* Bioorganic and Medicinal chemistry ; 14(20):6820-6826, (2006).

Anwikar S. et Bhitre M. *Study of the synergistic anti-inflammatory activity of Solanum xanthocarpum Schrader and Wendl and Cassia fistula Linn ;* International Journal Ayurveda Research ; 1(3):167, (2010).

Aouba A., E.b. M., Rey G., Pavillo É.J.G. *Données sur la mortalité en France : principales causes de décès en 2008 et évolutions depuis 2000 ;* Bulletin épidémiologique hebdomadaire ; 22:249-255, (2011).

Arya D. et Patni V. *Comparative analysis of in vitro anti-inflammatory and anti-arthritis activity in methanolic extract of Pluchea lanceolata Oliver & Hiern. In vivo and in vitro ;* International Journal of Biological and Pharmaceutical Research, 4(9): 676-680, (2013).

Ayroldi E., Cannarile L., Migliorati G., Nocentini G., Delfino D.V., Riccardi C. *Mechanisms of the anti-inflammatory effects of glucocorticoids: Genomic and nongenomic interference with MAPK signaling pathways ;* FASEB Journal; 26(12): 4805-4820, (2012).

Bailli J.K., Thompson A.A.R., Irving J.B., Botes M.G.D., Surtherland A.I., Macnee W., Maxwell S.R.J., Webb D.J. *Oral antioxidant supplementation does not prevent acute*

DJOVA Steve Valdi/thèse de Doctorat/Ph.D de l'Université de Yaoundé I

mountain sickness : double blind, Randomized placebo controlled trial : Quarterly Journal of medicine ; 1-8 (2009).

Beaber E.F., Buist D.S.M., Barlow W.E. *Recent oral contraceptive use by formulation and breast cancer risk among women 20 to 49 years of age* : Cancer Research ; 74:4078-4089, (2014).

Bensouda Y., Ismaili N., Ahbeddou N., El Hassani K., Chenna M., Sbitti Y., Boutayeb S., Errihani H. *Predictive factors of response to anthracyclines nEROdjuvant chemotherapy in breast cancer* : Gynécologie Obstétrique & Fertilité ; 39:81–86, (2011).

Benzie I.F.F et Strain J.J. *The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power : the FRAP assay* : Analytical Biochemistry ; 239:70-76, (1999).

Berkov S., Romani S., Herrera M., Viladomat F., Codina C., Momekov G., Ionkova I. et Bastida J. *Antiproliferative alkaloids from *Crinum zeylanicum** : Phytotherapy Research ; 25(11) :1686–1692, (2011).

Boik J. *Natural Compounds in Cancer Therapy : Minnesota, USA: Oregon Medical Press,* (2001).

Borsig L., Wolf M.J., Roblek M., Lorentzen A. et Heikenwalder M. *Inflammatory chemokines and metastasis-tracing the accessory* : Oncogene ; 33(25):3217-3224, (2014).

Brand-williams W., Cuvelier M.E. et Berset C. *Use of a free radical method to evaluate* : Journal of Food Science and Technology; 28:25-30, (1995).

Brown J.M. et Wilson W.R. *Exploiting tumour hypoxia in cancer treatment* : Nature reviews cancer ; 4:437-447, (2004).

Bruneton J. *Pharmacognosie : Phytochimie et plantes médicinales* : Lavoisier Techniques & Documentation, Paris, 2:310-313, (1999).

Buege J.A. et Aust S.D. *Microsomal lipid peroxidation:* Methods Enzymology ; 52:302-310, (1978).

Burkill H.M. *The useful plants of West Tropical Africa. 2nd Edition. Families J–L. Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond, United Kingdom ; 3 : 857, (1995).*

Burstein H., Gelber S., Guadagnoli E. *Use of Alternative Medicine by Women with Early-Stage Breast Cancer : New England Journal of Medicine ; 340(22) : 1733-1739, (1999).*

Castelló A., Pollán M., Buijsse B., Ruiz A., Casas A.M., Baena-Cañada J.M., Lope V., Antolín S., Ramos M., Muñoz M., Lluch A., de Juan-Ferré A., Jara C., Jimeno M.A., Rosado P., Díaz E., Guillem V., Carrasco E., Pérez-Gómez B., Vioque J., Boeing H., Martín M. *Spanish Mediterranean diet and other dietary patterns and breast cancer risk: casecontrol EpiGEICAM study: British Journal of Cancer ; 111(7):1454-1462, (2014).*

Chew Y.L., Goh J.K. and Lim Y.Y. *Assessment of in vitro antioxidant capacity and polyphenolic composition of selected medicinal herbs from Leguminosae family in Penisular Malaysia : Journal of Food chemistry, 116:13-18; (2009).*

Christophe M., Frida L., Cline N., Zacharie S., Emilie N., Vernyuy P.T. *Evaluation of acute and subacute toxicity of stem bark aqueous extract of Anthocleista schweinfurthii (Loganiaceae), World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences, 2015 ; 4 :197-208.*

Coates A.S., Keshaviah A., Thürlimann B., Mouridsen H., Mauriac L., Forbes J.F., Paridaens R., Castiglione-Gertsch M., Gelber R.D., Colleoni M., Láng I., Del Mastro L., Smith I., Chirgwin J., Nogaret J.M., Pienkowski T., Wardley A., Jakobsen E.H., Price K.N., Goldhirsch A. *Five years of letrozole compared with tamoxifen as initial adjuvant therapy for postmenopausal women with endocrine-responsive early breast cancer: update of study BIG 1-98 : Journal of clinical oncology ; 25(5):486-92, (2007).*

Condeelis J. et Pollard J.W. *Macrophages: obligate partners for tumor cell migration, invasion, and metastasis Cell ; 124 :263-266, (2006).*

Cotterchio M., Mirea L., Ozcelik H. et Kreiger N. *Active Cigarette Smoking, Variants in Carcinogen Metabolism Genes and Breast Cancer Risk among Pre- and Postmenopausal Women in Ontario, Canada : Breast Journal. 20(5):468-480 (2014).*

Coussens L., Zitvogel M., Palucka L.A.K. *Neutralizing tumorpromoting chronic inflammation: magic bullet Science ; 339:286-291, (2013).*

Coussens L.M. et Werb Z. *Inflammation and cancer : Nature ; 420:860-867, (2002).*

Danø K., Behrendt N., Høyer-Hansen G., Johnsen M., Lund L.R., Ploug M., Rømer J. *Plasminogen activation and cancer : Journal of thrombosis and haemostasis ; 93(4):676-81, (2005).*

DJOVA Steve Valdi/thèse de *Doctorat/Ph.D* de l'Université de Yaoundé I

Delattre J., Beaudoux J.L., Bonnefont-Rousselot D. *Radicaux libres et stress oxydant : aspect biologique et pathologiques* : Lavoisier édition TEC& DOC, édition médicales internationales paris. 1-405, (2005).

Delong J.M., Prange R.K., Hodges D.M, Forney C.F., Bishop M. C. and Quilliam M. *Using a Modified Ferrous Oxidation–Xylenol Orange (FOX) Assay for Detection of Lipid Hydroperoxides in Plant Tissue* : Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50(2):248-254, (2002).

Djeussi D.E, Noumedem J.A.K., Kuete V., Ngadjui B.T. *Antibacterial and antibiotic-modulation activity of six Cameroonian medicinal plants against Gram-negative multi-drug resistant phenotypes* : BMC complementary and alternative medicine ; 16:124, (2016).

Dominique B.R., Peynet J., Beaudoux J.L., Thérond P., Legrand A., Delattre J. *Stress oxydant, fonctions vasculaires et athérosclérose Oxidative stress, vascular function and atherosclerosis* : Nutrition clinique et métabolisme 16(4) : 260–267, (2002).

Dowsett M., Cuzick J., Ingle J., Coates A., Forbes J., Bliss J. et Peto R. *Meta-Analysis of Breast Cancer Outcomes in Adjuvant Trials of Aromatase Inhibitors Versus Tamoxife* : Journal of Clinical Oncology ; 28(3), 509-518, (2010).

Drazen, J. *Five-Lipoxygenase Products in Asthma* : CRC Press ; 496, (2016).

El-Saadani M., Esterbauer H., El-Sayed M., Goher M., Nassar A.Y., Juergen G.A. *Spectrophotometric assay for lipid peroxides in serum lipoproteins using a commercially available reagent* : Journal of lipid researc ; 30(4):627-630, (1989).

Emad S. *Comparison of DPPH and ABTS assays for determining antioxidant potential of water and methanol extracts of Sprulina plantensis* : Indian Journal of Geomine Sciences 42(5): 556-564, (2013).

Engelhardt N. *Synthese und Charakterisierung von Oberflächen-Funktionalisierten Polymeren Nanopartikeln auf Poly (2-oxazolin)-Basis* (Doctoral Dissertation, (2014).

Enow O.G.E., Ndom P., Doh A.S. *Current cancer incidences and trends in Yaounde, Cameroon* : OGH Reports ; 58-63, (2012).

Eyog M.O., Ndoye O., Kengue J., Awono A. *Les Fruitiers Forestiers Comestibles du Cameroun*.éd. Yaoundé: IPGRI; 220 p. (2006).

Faraci S., Didion P. *Vascular Protection Superoxide Dismutase Isoforms in the Vessel Wall* : Thrombosis and Vascular Biology. 24(8):1367-73, (2004).

Favier A. *Le stress oxydant : intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique: L'actualité chimique* ; 108-115, (2003).

Feng G., Liang B., Srinivasa T., Reddy, Robin, Farias-Eisner and Xiulan Su. *Role of Inflammation-Associated Microenvironment in Tumorigenesis and Metastasis: Current Cancer Drug Targets* ; 14 :30-45, (2014).

Ferlay J, Shin H.R., Bray F., Forman D., Mathers C., Parkin D.M. *Estimates of worldwide burden of cancer in 2008, GLOBOCAN 2008* : International Journal of Cancer ; 127(12):2893-2917, (2010).

Ferreira-Machado S.C., Rodrigues M.P., Nunes A.P. *Genotoxic potentiality of aqueous extract prepared from *Chrysobalanus icaco* L. leaves*: Toxicology Letters; 151(3):481-487, (2004).

Fidler I.J. *The pathogenesis of cancer metastasis: the "seed and soil" hypothesis revisited* : Nature reviews cancer; 3:1-6 (2003).

Finaud J. *Stress oxydatif et bilans biologiques: suivi longitudinal chez des rugbymen de différents niveaux de pratique. Thèse de doctorat, Université Blaise Pascal -Clermont - Ferrand II UFR* ; 98, (2004).

Firuzi O., Lacanna A.R., Petrucci, Marrosu G., Saso L. *Evaluation of the antioxidant activity of flavonoids by ferric reducing antioxidant power assay and cyclic.voltammetry* : Biochimie Biophysique Acta ; 1721(1-3) :174-184, (2005).

Fitzgibbons P.L., Page D.L., Weaver D., Thor A.D., Allred D.C., Clark G.M., Ruby S.G., O'Malley F., Simpson J.F., Connolly J.L., Hayes D.F., Edge S.B., Lichter A., Schnitt S.J. *Prognostic factors in breast cancer. College of American Pathologists Consensus Statement* : Archive of pathology & laboratory medicine ; 124(7):966-978, (2000).

Fotakis G. et Timbrell J.A. *In vitro cytotoxicity assays : Comparison of LDH, neutral red, MTT and protein assay in hepatoma cell lines following exposure to cadmium chloride* : Toxicology Letters ; 160 :171-177, (2006).

Fredholm H., Mgnussom K., Lindstrom L.s., Fredrik P., Frisell J. *Breast cancer in young women : poor survival despite intensive treatment* : PLoS One 4 ; e7695 (2009).

Gabay C. et Kushner I. *Acute phase proteins and other systemic responses to inflammation* : The new england Journal of medicine ; 340:448–544, (1999).

Gabriella M., D’andrea M. *Use of antioxidants During Chemotherapy and Radiotherapy Should Be Avoided* : A Cancer Journal for Clinicians ; 55(5) : 319-321, (2005).

Gasco M., Shami S., Crook T. *The p53 pathway in breast cancer* : Breast Cancer Research ; 4:70-76, (2002).

Gbadamosi I.T. et Erinoso S.M. *A review of twenty ethnobotanicals used in the management of breast cancer in Abeokuta, Ogun State, Nigeria*: African Journal of pharmacy and Pharmacology ; 10(27) :546-564, (2016).

Geng D., Zhang, Z., Guo H. *Development of a fish cell biosensor system for genotoxicity detection based on DNA damage-induced trans-activation of p21 gene expression* : Biosensors ; 2(3):318-340, (2012).

Globocan Cancer incidence and mortality worldwide: *International Agency for Research on Cancer* : Cancer Base ; <http://globocan.IARC.fr>, (visité le 13/12/2018).

Goto M., Ueda K., Hashimoto T., Fujiwara S., Matsuyama K., Kometani T., Kanazawa K. *A formation mechanism for 8-hydroxy-2-deoxyguanosine mediated by peroxidized 2-deoxythymidine* : Free Radical Biology and Medicine ; 45:1318-1325, (2008).

Gravitz L. *Chemoprevention First line of defence* : Nature ; 471(7339):5-7. doi: 10.1038/471S5a.v, (2011).

Guessom K. O., Miaff D., Kodjio N., Oumar, Kuate J. R., Kamanyi A. *In vitro antioxidant properties of aqueous and methanol extracts of the stem bark of Anthocleista Vogeli Planch (Loganiaceae)*: Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Science ; 4(2): 271-280, (2016).

Gulsen T., Mehmet O., Mehmet E.D., Aziz T. *Antioxidant and anticholinesterase activities of five wild mushroom species with total bioactive contents*. Pharmaceutical biology 53(6):824-830, (2015).

Hanahan D. et Weinberg R.A. *Hallmarks of cancer: the next generation* : Cell ; doi:10.1016/j.cell.2011.02.013. 144(5) : 646–74, (2011).

Harborne J.B. *Phytochemical method, a guide to modern technique of plants*: Chapman and Hall, London, New York 10017, USA, (1998).

Harris C.C. *Chemical and Physical Carcinogenesis : Advances and Perspectives for the 1990s* : Cancer research ; 51(18):5023s-5044s. (1991).

Haugsten E.M., Wiedlocha A., Olsnes S., & Wesche J. *Roles of fibroblast growth factor receptors in carcinogenesis* : Molecular Cancer Research ; MCR, 8(11):1439–52. doi:10.1158/1541-7786.MCR-10-0168, (2010).

Hawkins R.A., Tesdale A.L., Prescott R.J., Forster T., McIntyre M.A., Baker P., Jack W. J.L., Chetty U., Dixon J.M., Killen M.E., Hulme M.J. et Miller W.R. *Outcome after extended follow-up in a prospective study of operable breast cancer: key factors and a prognostic index* : British Journal of cancer ; 87(1):8-14, (2002).

Helpman L., Ferguson S.E., Mackean M. *Complementary and alternative medicine use among women receiving chemotherapy for ovarian cancer in 2 patient populations* : International Journal Gynecological Cancer ; 21(3) : 587-93, (2011).

Huang D., Ou B. et Prior R.I. *The chemistry behind antioxidant capacity assays* : Journal of agricultural and food chemistry ; 53(6):1841-1856, (2005).

Huether S.E. et McCance K.L. *Understanding Pathophysiology*: Elsevier Health Sciences, Förlag, (2015).

Ibrahim Z.Y.Y., Abdullahi M.I., Musa A.M., Maje I.M., Yusuf A.J. et Aliyu I.M. *Acute toxicity profile and plasmodium berghei inhibitory activity of Ochna schweinfurthiana (F. Hoffm) Ochnaceae leaf extract in laboratory animals* : International Journal of Pharma Sciences and Research, 6(10) :1302-1306, (2015).

Ingle D.M. Patel *C-reactive protein in various disease condition an overview* : Asian Journal Pharmaceutical and Clinical Research ; 4(1): 9-13, (2011).

Irvine R. *Woody Plant of Ghana*, Oxford University Press, London, UK, 143-144, (1961).

Isailovic, N., Daigo, K., Mantovani, A. et Selmi, C. *Interleukin-17 and innate immunity in infections and chronic inflammation* : Journal of autoimmunity ; 60:1-11, (2015).

Jena G.B., Kaul C.L., Ramarao P. *Genotoxicity testing, a regulatory requirement for drug discovery and development: impact of ICH guidelines* : Indian Journal of Pharmacology ; 34 : 86-99, (2002).

Julian-Reynier C. *Prédisposition génétique aux cancers du sein et de l'ovaire Importance des résultats des tests* : médecine/sciences ; 27(6-7):657-661, (2011).

Juthani V.V., Clearfield E., Chuck R.S. *Non-steroidal antiinflammatory drugs versus corticosteroids for controlling inflammation after uncomplicated cataract surgery* Cochrane Database : Systematic reviews ; 7: CD010516, (2017).

Kadkhodace M., Khastar H., Arab H.A., Ghaznavi R., Zahmatkesh M., Mahdavi-Mazdeh M. *Antioxidant Vitamins Preserve Superoxide Dismutase Activities in Gentamicin-Induced Nephrotoxicity*: Transplantation proceeding; 39(4):864-865, (2007).

Kagan M., Chlenovm S., Melnikov O., McConnell A.C. Bach. *Combinatorial chemistry & high throughput screening* : Journal of Combinatorial Chemistry ; 16(10),760-7763, (2009).

Kameyama K., Miyamota T., Shiono T. and Shimogi Y. *Influence of surgarcane bagasse-derived Biochar application Nitrate Leaching in calcaric Dark Red soil* : American Society of Agronomy ; 41(4), 1131-1137, (2012).

Kamil J.Y.V.A., Jeon Y.J. and Shahidi F. *Antioxidative activity of chitosans of different viscosity in cooked comminuted flesh of herring (*Clupea harengus*)*: Food Chemistry Reviews; 7(1):69-77, (2002).

Kanterman J., Sade-Feldman M. et Baniyash M. *New insights into chronic inflammation-induced immunosuppression* : Seminars in cancer biology ; 22(4):307-318, (2012).

Keegan T.H.M., DeRouen M.C., Press D.J., Kurian A.W. et Clarke C.A. *Occurrence of breast cancer subtypes in adolescent and young adult women* : Breast Cancer Research ; 14(2), 1-9, (2012).

Kerjaschki D., Bago-Horvath Z., Rudas M., Sexl V., Schneckeleithner C., Wolbank S., Bartel G., Krieger S., Kalt, R., Hantusch B. *Lipoxygenase mediates invasion of intrametastatic lymphatic vessels and propagates lymph node metastasis of human mammary carcinoma xenografts in mouse* : Journal of Clinical Investigation ; 121, (2012).

Kim H.R., Park Y.J., Shin D.Y., Oh S.M., Chung K.H. *Appropriate in vitro methods for genotoxicity testing of silver nanoparticles* : The Korean Society of Environmental Health and Toxicology ; 28 :1-8, (2013).

Knights V. et Cook S.J. *De-regulated FGF receptors as therapeutic targets in cancer* : Pharmacology and Therapeutics ; doi:10.1016/j.pharmthera.10.001, 125(1), 105–117, (2010).

Koechlin-Ramonatxo C. *Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires* : Nutrition clinique et métabolisme. 20(4):165-177, (2006).

Konan N., Kouame B.A., Mamyrbekova-Bekro J.A., Nemlin J. et Bekro Y-A. *Chemical composition and antioxidant activities of essential oils of Xylopiya aethiopica (Dunal) a rich* : European Journal of Scientific Research ; 37(2):311–318, (2009).

Kraaij M.D., Savage D.L.N., van der Kooij S.W., Koekkoek K., Wang J., van den Berg J.M., Ottenhoff T.H.M., Kuijpers T.W., Holmdahl R., van Kooten C. et Gelderman K.A. *Induction of regulatory T cells by macrophages is dependent on production of reactive oxygen species* : Proceedings of the National academy of Sciences USA ; 107(41)17686-17691, (2010).

Kuete D., Etoundi B. C. O., Soukontoua Y. B., Ngondi J. L., Oben J. E. *Antioxidant characteristics of Dichrostachys glomerata spice extract* : Journal of food ; 8:23-37, (2010).

Kuete V., Fankam A.G., Wiensch B. et Efferth T. *Cytotoxicity and modes of action of the methanol extracts of six cameroonian medicinal plants against multidrug-resistant tumor cells* : Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine ; 10, (2013).

Kuete V., Fokou W.F., Karaosmanoğlu O., Beng V.P., Sivas H. *Cytotoxicity of the methanol extracts of Elephantopus mollis, Kalanchoe crenata and 4 other Cameroonian medicinal plants towards human carcinoma cells* : Complementary and Alternative Medicine ; 17:280, (2017).

Kuete V., Tankeo S.B., Saeed M.E., Wiensch B., Tane P., Efferth T. *Cytotoxicity and modes of action of five Cameroonian medicinal plants against multi-factorial drug resistance of tumor cells* : Journal of ethnopharmacology ; 153(1):207–219, (2014).

Lawrence T. et Gilroy D.W. *Chronic inflammation : a failure of resolution* : International Journal Experiment Pathology ; 88:85–94, (2007).

Leelaprakash G. et Mohan Dass S. *In-vitro* anti-inflammatory activity of methanol extract of *Enicostemma axillare*. *International Journal of Drug Development & Research*, 3(18) : 91-96, (2010).

Lemmon M.A. et Schlessinger J. *Cell signaling by receptor tyrosine kinases* : Cell ; doi:10.1016/j.cell.2010.06.011. 141(7) : 1117-1134, (2010).

Lhuillier A., Fabre N., Moyano F., Martins N., Claparols C., Fourasté I., Moulis C. *Comparison of flavonoid profiles of *Agauria salicifolia* (Ericaceae) by liquid Valkoz* : Journal of Chromatography ; 11:03-038, (2007).

Li D.M. et Feng Y.M. *Signaling mechanism of cell adhesion molecules in breast cancer metastasis: potential therapeutic targets* : Breast cancer research and treatment, 128(1):7-21, (2011).

Lin J. Takagi M., Qu Y., Gao P., Yoshida T. *Enhanced monoclonal antibody production by gradual increase of osmotic pressure* : cytotechnology ; 29(1):27-33, doi:10.1023/A:1008016806599, (1999).

Lu y., Ni f., Xu m., Yang j., Chen j.i., Chen z., Wang x., Luo j. et Wang S. *Alcohol promotes mammary tumor growth through activation of VEGF-dependent tumor angiogenesis* : Oncology Letters ; 8(2):673-678, (2014).

Makhafola T.J., McGaw L.J., Eloff J.N. *In vitro* cytotoxicity and genotoxicity of five *Ochna* species (*Ochnaceae*) with excellent antibacterial activity : South African Journal of Botany ; 91:9-13, (2014).

Manfred M. & Nicole M. Additifs alimentaires et auxiliaires technologiques.5:197-285, (1998).

Mantovani A, Garlanda C, Allavena P. *Molecular pathways and targets in cancer-related inflammation* : Annals of medicine ; 42(3):161-170, (2010).

Mantovani A. et Sica A. *Macrophages, innate immunity and cancer : balance, tolerance, and diversity* : Current Opinion Immunology ; 22:231-237, (2010).

Maron D.M. et Ames B.N. *Revised methods for the Salmonella mutagenicity test* : Mutation Research ; 113(3-4):173-215, (1983).

Maronpot R. *Correlation of data from the strain A mouse bioassay with long-term bioassays* : Experimental lung research ; 17(2):425-431, (1991).

Martinez-Tome M., Garcia-Carmona F., Murcia M.A. *Comparison of the antioxidants and pro-oxidants activities of broccoli amino acids with those of common food additives* : Journal Science Food Agriculture ; 81:1019-1026, (2001).

Mazzotti E., Antonini Cappellini G.C., Buconovo S., Morese R. *Treatment-related side effects and quality of life in cancer patients* : Support Care Cancer ; 20(10):2553-2557, (2012).

Mbouangouere R.N., Tane P., Ngamga D., Khan S.N., Choudhary M.I., Ngadjui B.T.A. *New steroid and α -glucosidase inhibitors from *Anthocleista schweinfurthii** : Research Journal of Medicinal Plant ; 1(3):106-111, doi:10.3923/rjmp.2007.106.11, (2007).

Mccord J.et Fridovich I. *Superoxide dismutase, an enzymic function for erythrocytes* : Journal of biology and Chemistry ; 244:6049-6055, (1969).

McDonald B. et Kubes P. *Leukocyte Trafficking. Inflammatory Diseases of Blood Vessels* : Department of Physiology and Pharmacology, Faculty of Medicine, University of Calgary, Canada. 28, (2012).

McGaw L.J., Steenkamp V., Eloff J.N. *Evaluation of *Athrixia bush* tea for cytotoxicity, antioxidant activity, caffeine content and presence of pyrrolizidine alkaloids*: Journal of Ethnopharmacology ; 110 :6-22, (2007).

McNally S. et Martin F. *Molecular regulators of pubertal mammary gland development* : Annals Medicine ; 43(3):212-234, (2011).

Mego M., Mani S.A. et Cristofanilli M. *Molecular mechanisms of metastasis in breast cancer-clinical applications* : Nature reviews clinical oncology ; 7(12):693-701, (2010).

Messi A.N., Ngo Mbing J., Ndongo J.T., Nyegue M.A., Tiabou Tchinda A., Ladoh Yemeda F., Frédéric M., Pegnyemb D.E. *Phenolic compounds from the roots of *Ochna schweinfurthiana* and their antioxidant and antiplasmodial activities*: Phytochemistry Letters, (17):119-125, (2016).

Miller, Anne-Frances. *Superoxide Dismutases : Ancient Enzymes and New Insights*. FEBS : Letters ; 586(5): 585–595, (2012).

Mizushima Y. et Kobayashi M. *Interaction of anti-inflammatory drugs with serum proteins, especially with some biologically active proteins* : Journal of Pharma Pharmacology, 20(8):169-173, (1968).

Momeni J., Ntchatchoua W.P.D.D., Akam M.T. et Ngassoum M.B. *Antioxidant activities of some cameroonian plants extracts used in the treatment of intestinal and infectious diseases* : Indian Journal of Pharmaceutical Sciences ; 72(1) :140-144, (2010).

Mortelmans K. et Zeiger K. *The Ames Salmonella/Microsome mutagenicity assay* : Mutation Research ; 455(1-2): 29-60, (2000).

Mosmann T. *Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays* : Journal of Immunological Methods ; 65 : 55-63, (1983).

Moure A., Cruz J.M., Daniel F., Dominguez M., Sineiro J., Dominguez H., Nunez M.J. *Natural antioxidants from residual sources* : Food chemistry; 72(2),145-171, (2001).

Mukandiwa L., McGaw L.J., Eloff J.N., Naidoo V. *Extracts of four plant species used traditionally to treat myiasis influence pupation rate, pupal mass and adult blowfly emergence of *Lucilia cuprina* and *Chrysomya marginalis* (Diptera: Calliphoridae)*: Journal of Ethnopharmacology ; 143 :812-818, (2012).

Mulaudzi R.B. Ndhlala A.R, Kulkarni M.G., Van S.J. *Anti-inflammatory and mutagenic evaluation of medicinal plants used by Venda people against venereal and related diseases* : Journal of Ethnopharmacology, 146(1):173-179, (2013).

Nadel S, McGann K., Hodinka R.L., Rutstein R., Chatten J. *Measles giant cell pneumonia in a child with human immunodeficiency virus infection* : The Pediatric Infectious Disease Journal ; 10(7) : 542-544, (1991).

Ndongo J.T., Issa M.E., Messi N.A., Ngo M.J., Pegnyemb M.C.D.E., Bochet C.G. *Cytotoxic flavonoids and other constituents from the stem bark of *Ochna schweinfurthiana**: Journal of Natural Product Research ; 2:1-4, (2015).

Newman D.J. et Cragg G.M. *Natural products as sources of new drugs over the last 25 years.* Journal of Natural Product ; 70:461–477, (2007).

Ngombe N.K., Dibungi K.T., Quetin-Leclercq J., Morel N. *Vasoconstrictor and inotropic effects induced by the root bark extracts of Anthocleista schweinfurthii* : Natural product communications ; 5(3):369-72, (2010).

Nia R., Paper D.H., Franz G., Essien E.E. *Anti-angiogenic, anti-inflammatory and anti-oxidant potential of an African recipe Alchornea cordifolia seeds*: Acta Horticulturae ; 678: 91-96, (2005).

Njayou F.N., Moundipa P.F., Tchana A.N., Ngadjui B.T., Tchouanguép F.M. *Inhibition of microsomal lipid peroxydation and oxideation by extrats from plants used in Bamum folk medicine (Cameroon) againts hepatitis* : African journal of traditional, complementary and alternative medicines ; 278-289, (2008).

Nourshargh S., Hordijk P.L. et Sixt M. *Breaching multiple barriers: Leukocyte motility through venular walls and the interstitium* : Nature reviews molecular cell biology, 11(5):366-378, (2010).

Nowsheen K., Aziz T.B., Kryston, N.F., Ferguson N.F., Georgakilas A. *The interplay between inflammation and oxidative stress and carcinogenesis* : Current Molecular Medicine; 12:672–680, (2012).

Nyegue M.A. *Propriétés chimiques et biologiques des huiles essentielles de quelque plantes aromatiques et/ou médicinales du Cameroun : évaluation de leurs activités antiradicalaires, antiinflammatoires et antimicrobiennes* : Thèse de docteur des universités Montpellier II et Yaoundé I. pp 194, (2006).

Nyegue M.A., Ngo Mbing J., Djova S.V., Messi A.N., Voundi Olugu S.H., Pegnyemb et Etoa F.X. *Evaluation of the antioxidant activity of the leaves, stem-back extract of Ochna schweinfurthiana F. Hoffm (Ochnaceae)* : African Journal of pharmacy and pharmacology ; 10(17):370-378, (2016).

Oloke J.K., Kolawole D.O. et Erhun W.O. *The antibacterial and antifungal activities of certain components of Aframomum melegueta fruits* : Fitoterapia ; 59(5) : 384-388, (1998).

Ortega A.R., Toscano A. Hernandez-Barragan C. Alvarez-cisneros P. *Joseph-Nathan, Structure elucidation of a new isoflavone by exclusive use of 1H NMR measurements* : Magnetic Resonance Chemistry ; 53(10):860-865, (2015).

Osako T., Iwase T., Ushijima M., Horii R., Fukami Y., Kimura K., Matsuura M. et Akiyama F. *Incidence and prediction of invasive disease and nodal metastasis in preoperatively diagnosed ductal carcinoma in situ* : Cancer science ; 105(5):576-582, (2014).

Oukalha A., Zekhnini A., Bouhaimi A., Tahrouch S., Hatimi A. *Anti-inflammatory Activity of Methanolic Extract from Pistacia atlantica Desf* : Leaves Pharmacognosy Journal ; 10(1):71-76 (2018).

Oyedepo O.O. et Famurewa A.J. *Antiprotease and membrane stabilizing activities of extracts of Fagara Zanthoxyloides, Olax subscorpioides and Tetrapleura tetraptera*: International journal of Pharmacognosy; 33(1): 65-69, (1995).

Paglia D.E. et Valentin W.N. *Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase* : Journal of laboratory and clinical medicine ; 70(1):158-169, (1967).

Pani G., Galeotti T., Chiarugi P. *Metastasis : cancer cell's escape from oxidative stress* : Cancer and Metastasis Reviews ; 29(2) : 351-378, (2010).

Pasquier C. *Stress oxydatif et inflammation* : Revue française des laboratoires ; N°276, (1995).

Pei J.S., Liu C.C., Hsu Y.N., Lin L.L., Wang S.C., Chung J.G., Bau D.T., Lin S.S. *Amentoflavone induces cell-cycle arrest and apoptosis in MCF-7 human breast cancer cells via mitochondria-dependent pathway* : In Vivo ; 26(6):963-70, (2012).

Pegnyemb M.C.D.E., Tih R.G., Sondengam B.L., Blond A., Bodo B. *Isolation and structure elucidation of new isoflavonoid from Ochna afzelli*: Pharmaceutical Biology; 41(2):218-220, (2003).

Pincemail J, Heusele C, Bonté F, Limet R, Defraigne J.O. *Stress oxydant, antioxydants nutritionnels et vieillissement* : Médecine International Journal ; Métabolismes-hormones-nutrition ; 5(4):158-164, (2001).

Pinto M.C., Tejada A., Duque A.L., Macias P. *Determination of lipoxygenase activity in plant extracts using a modified ferrous oxidation. Xylenol orange assay* : Journal Agricultural and Food Chemistry ; 55(595):6–9, (2007).

Pollard J.W. *Tumour-educated macrophages promote tumour progression and metastasis:* Natural Review Cancer ; 4:71-78, (2004).

Prakash P., Gupta N. *Therapeutic uses of Ocimum sanctum (Tulsi) with a note on eugenol and its pharmacological actions :* A Short Review Indian Journal Physiological Pharmacology ; 49:125-131 (2005).

Prior R.L., Hoang H., Gu L. *Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORAC (FL) of plasma and other biological and food samples :* Journal Agriculture Food Chemistry ; 51, 3273–3279, (2005).

Quanbin H., Bei J., Chuangximei G.D., Handong S.J., Yanze L. *Constituents from the roots of Semiaquilegia adoxoides. :* Phytochemical communication ; 72(1):86-88, (2001).

Rao K.V., Sreeramulu K., Venkata R.C., Gunasekar D., Matin M.T., Bodo B. *Two new biflavonoids from Ochona obtusada:* Journal of Natural Product; 60(6): 632-634, (1997).

Re S., Link E.J., Bui H.H., Wang R. *Quantitative structure-activity relationship analysis of phenolic antioxidant :* Free Radical Biology and Medicine ; 26(3-4), 285-294 (1999).

Renehan A.G., Soerjomataram I., Tyson M., Egger M., Zwahlen M., Coebergh J.W., Buchan I. *Incident cancer burden attributable to excess body mass index in 30 European countries :* International Journal of Cancer, 126(3):692-702, (2010).

Rifkind R.A., Richon V.M. et Marks P.A. *Induced differentiation, the cell cycle, and the treatment of cancer :* Pharmacology and therapeutics ; 69(2):97-102, (1996).

Romero, Q., Bendahl, P.-O., Fernö, M., Grabau, D. & Borgquist, S. *A novel model for Ki67 assessment in breast cancer :* Diagnostic Pathology ; 9(1):118, (2014).

Ross A.C. *Impact of chronic and acute inflammation on extra- and intracellular iron homeostasis :* The American Journal of Clinical Nutrition ;106(Supplement 6), 1581S-1587S ; (2017).

Ruijter A. *Anthocleista schweinfurthii Gilg. In Schmelzer, G.H. & Gurib-Fakim, A. (Editors): PROTA (Plant Resources of Tropical Africa), Wageningen, Netherlands, (2007).*

Sadique J.A., Rqobahs W.A., Bughaith E.I. et Gindi A.R. *The bioactivity of certain medicinal plants on the stabilization of RBS membrane system :* Fitoterapia ; 60(9):525-532, (1989).

Sakat S.S., Juvekar A.R., Gambhire M.N. *In-vitro antioxidant and anti-inflammatory activity of methanol extract of Oxalis corniculata Linn*: International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical sciences, 2(1): 46-55, (2010).

Sanchez-Moreno C. *Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in food and biological systems* : Journal of food science and technology international ; 8(3):121-137, (2002).

Sando Z., Fouogue J.T., Fouelifack F.Y., Fouedjio J.H., Mboudou E.T., Oyono J.L. Profile of breast and gynecological cancers in Yaoundé – Cameroon, Pan African Medical Journal ; 17(28) :34-37, (2014).

Sapakal V.D., Shikalgar T.S., Ghadge R.V., Adnaik R.S., Naikwade N.S., Magdum, C.S. *In vivo screening of antioxidant profile: a review* : Journal of Herbal Medicine and toxicology. 2 (2):1-8, (2008).

Sayre L.M., Moreira P.I., Smith M.A., Perry G. (2008). *Metal ions and oxidative protein modification in neurological disease* : Annali dell'instituto superioe Sanità; 41(2):143- 164, (2008).

Schmelzer G.H. In Schmelzer G.H., Gurib-Fakim A., (Eds.), Arroo R., (Associate Editeur) Lemmens R.H.M.J., Oyen L.P.A., (General Editeur). *Plant Resources of Tropical Africa : Medicinal plants* ; 11:1, (2008).

Schorderet M. et Dayer J.M. *Analgésiques, antipyrétiques, anti-inflammatoires et substances apparentées. Dans la pharmacologie des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques* : Schorderet, Ed. Frison-Roche, Paris et Ed Slatkine ; Genève, 541-562, (1992).

Schreiber R.D., Old L.J., Smyth M.J. *Cancer immunoediting: Integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion* : Science ; 331(6024):1565-1570, (2011).

Seidman A.D. Berry D., Cirrincione C., Harris L., Muss H., Marcom P.K., Gipson G., Burstein H., Lake D., Shapiro C.L., Ungaro P., Norton L., Winer E., Hudis C. *Randomized phase III trial of weekly compared with every-3-weeks paclitaxel for metastatic breast cancer, with trastuzumab for all HER-2 overexpressors and random assignment to trastuzumab or not in HER-2 nonoverexpressors: final results of Cancer and Leu* : Journal of clinical oncology ; 26(10):1642-1649, (2008).

Serhan C.N., Dalli J., Colas R.A., Winkler J.W. et Chiang N. *Protectins and maresins: New pro-resolving families of mediators in acute inflammation and resolution bioactive metabolome* : Biochimica et Biophysica; 1851(4):397-413, (2015).

Shaikh S., Verma H., Yadav N., Jauhari M., Bullangowda J. *Applications of steroid in clinical practice: A review* : ISRN Anesthesiology ; 2012: 985-895, (2012).

Shen Z., Li Y., Gasparski A.N., Abeliovich H., Greenberej M.L. *Cardiolipin regulates Mitophagy through the protein pathway* : Journal of Biological chemistry; 23(5), 14-21, (2017).

Shrestha S., Park J.H., Lee D.Y., Cho J.G., Seo W.D., Kang H.C., Yoo K.H., Chung. *Vitamin D status among individuals attended in Health Home Care Centre, Lalitpur, Nepal* : Nepal Medical College Journal ; 14(2):84-7 (2012).

Smyth J.F., Bowman A., Perren T. *Glutathione reduces the toxicity and improves quality of life of women diagnosed with ovarian cancer treated with cisplatin: results of a double-blind, randomised* : Trial Ann Oncology ; 8(6) : 569-73, (1999).

Solinas G., Marchesi F., Garlanda C., Mantovani A., Allavena P. *Inflammation-mediated promotion of invasion and metastasis* : Cancer Metastasis Reviews ; 29(2): 243-248, (2010).

Solomon E., Borrow J. et Goddard A.D. *Chromosome aberrations and cancer* : Science ; 254(5035):1153-1160, (1991).

Soobrattee M.A., Neergheen V.S. Luximon-Ramma A. Aruoma O.I., Bahoru T. *Phenolic as potential antioxidant therapeutic agents : mechanism and actions* : Mutation research ; 11(579) :1-2, (2013).

Souza C.S., Silva V.D.A., Pitanga B.S., Costa M.F.D., El-Bacha R.S. *The flavanoid agathisflavone isolated from Caesalpinia pyramidalis leaves induces growth inhiting and neural-like differentiation in human glioblastoma cells* : Annual meeting of the Brazilian society on Biochemistry and molecular Biology; 37:1, (2008).

Sruthi D. et John Zachariah T. *In vitro antioxidant activity and cytotoxicity of black pepper (Piper nigrum L.) and Piper species* : International Food Research Journal, 24(1): 75-85, (2007).

Stevens A. et Lowe J.S. Histologie humaine, Ed A. Stevens, J-SI Lowe ISBN : 9782804125745, (1997).

Takeda S., Jiang R., Aramaki H., Imoto M., Toda A., Eyanagi R., Amamoto T., Yamamoto I., Watanabe K. *9-tetrahydrocannabinol and its major metabolite 9-tetrahydrocannabinol-11-oic acid as 15-lipoxygenase inhibitors* : Journal Pharmaceutical Sciences. 100, 1206–1211, (2011).

Takigami H., Matsui S., Matsuda T., Shimiz Y. *The Bacillus subtilis Rec-assay: a powerful tool for the detection of genotoxic substances in the water environment. Prospect for assessing potential impact of pollutants from stabilized wastes* : Waste Management ; 22(2):209-213, (2002).

Tamer Fouad M.D. *Free radicals, Types, sources and damaging reactions, Internal Medicine Articles* : (<http://www.doctorslounge.com/primary/articles/>) ; Visité le 10 octobre 2014 à 13h 35, (2003).

Tasuya A., Kenichi H., Hiroto K. *Structural confirmation of oligosaccharides newly isolated from sugar beet molasses* : Journal chemistry ; 6(89):2-11, (2012).

Tavassoli F.A. *Lobular and ductal intraepithelial neoplasia* : Pathology 29 (Suppl 2):107-111, (2008).

Terzic J, Grivennikov S, Karin E, Karin M. *Inflammation and colon cancer*: Gastroenterology ; 138(6) :2101-2114e5, (2010).

Thomas S. *Chemical basis of drug action, in Drug Plants of Africa*, Publications of University of Pennsylvania, (1965).

Thomas-Schoemann A., Alexandre J., Mongaret C. *Use of antioxidant and other complementary medicine by patients treated by antitumor chemotherapy : a prospective study* : Bulletin du Cancer ; 98(6) : 645-653, (2011).

Todd, I., Spickett, G. et Fairclough, L. *Lecture Notes: Immunology*. John Wiley & Sons, New York, (2015).

Trachoothan D., Alexandre J., Huang P. *Targeting cancer cells by ROS-mediated mechanisms: a radical therapeutic approach* : Nature Review Drug Discovery, 8(7). 579-591, (2009).

Tülay A.C. Potential Genotoxic and cytotoxic effects of plant extracts. *A compendium of assays on alternative therapy*, Edition 1, Chapter 11: Intech, 234-250, (2012).

Uehiro N., Horii R., Iwase T., Tanabe M., Sakai T., Morizono H., Kimura K., Iijima K., Miyagi Y., Nishimura S., Makita M., Ito Y., Akiyama F. *Validation study of the UICC TNM classification of malignant tumors, seventh edition, in breast cancer* : Breast Cancer ; 21(6): 748-753, (2013).

Valerio J.G. et Gonzales G.F. *Toxicological aspects of the South American herbs cat's claw (Uncaria tomentosa) and maca (Lepidium meyenii) : a critical synopsis* : Toxicological Reviews, 24(1):11–35. (2005).

Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T., Mazur M., Telser J. *Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease* : International Journal Biochemistry Cell Biology ; 39:44-48, (2007).

Van H.Y.G.J., Keijer J., Knaapen A.M., Heil SG, Briedé J.J., van Schooten F.J., Godschalk R.W.L. *β -Carotene metabolites enhance inflammation-induced oxidative DNA damage in lung epithelial cells*: Free Radical Biology Medicine ; 46(2):299-304, (2009).

Verschaeve L., Van Staden J. *Mutagenic and antimutagenic properties of extracts from South African traditional medicinal plants* : Journal of Ethnopharmacology ; 19(3) :575-587, (2008).

Vilar E., Bartnik C.M., Stenzel S.L., Raskin L., Ahn J., Moreno V., Mukherjee B., Iniesta M.D., Morgan M.A., Rennert G., Gruber S.B. *MRE11 deficiency increases sensitivity to poly (ADP-ribose) polymerase inhibition in microsatellite unstable colorectal cancers* : Cancer Research ; 71(7) :2632-2642, 71(7):2632-2642, (2011).

Virot S. Les petites protéines de stress et leur rôle dans la mort cellulaire. Etude de leur fonction chaperon à travers l'exemple de la mutation R120G de l' α, β -cristalline. Thèse de doctorat, Université Claude Bernard-Lyon 1, 156-170. (2004).

Vogel V.G. *Atypia in the assessment of breast cancer risk: implications for management* : Diagnosis Cytopathology ; 30(3) : 151-157, (2004).

Wana P.K. et Shahidi F. *Antioxidants: Science, Technology, and Applications. Bailey's Industrial Oil and Fat Products* : John Wiley & Sons ; Inc, pp 431-489, (2005).

Wang D. et Dubois R.N. *Eicosanoids and cancer* : Journal of Natural Review Cancer, 10, 181–193, (2010).

Weinberg R. *Molecular basis of carcinogenesis : understanding the cell cycle clock* : *Cytokines Molecular Therapie* ; 2(2):105-111, (1996).

Wendt M.K., Taylor M.A., Schiemann B.J. et Schiemann W.P. *Down-regulation of epithelial cadherin is required to initiate metastatic outgrowth of breast cancer* : *Molecular biology Cell* ; 22, 2423-2435, (2011).

Weydert C.J. et Cullen J.J. *Measurement of super oxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in cultured cells and tissue* : *Protocol* ; 197, (2009).

Whiteside T.L. *The role of death receptor ligands in shaping tumor microenvironment* : *Immunological investigation* ; 36(1):25-46, (2007).

Whitman S. *Structure-activity relationship studies of nordihydroguaiaretic acid inhibitors toward soybean, 12-human, and 15-human lipoxygenase* : *Journal of Medicinal Chemistry*; 45:2659-2661, (2002).

Willey J.M., Sherwood L.M. , Woolverton C.J. *Prescott's Principles of Microbiology*. Edn 1. New York: The McGraw-Hill Companies Inc, New York, (2009).

Wisastra R. et Dekker J.F. *Inflammation, Cancer and Oxidative Lipoxygenase Activity are Intimately Linked* : *Cancers* ; 6 : 1500-1521; doi:10.3390/cancers6031500, (2014)

Wolf I., Sadetzki S., Catane R., Karasik A. et Kaufman, B. *Diabetes mellitus and breast cancer* : *The Lancet oncology* ; 6(2) :103-111, (2005).

Wooer J.Y. Lee I.J., Cho S.G., Kang K.V. *Amentoflavone inhibits the induction of nitric oxide synthase by inhibiting NF-KB activation in macrophage* : *Pharmacological research* ; 51(6):539-546 (2005).

Yang G., Chen J., Wen Z., Ge K., Zhu L., Chen X. *The role of selenium in Keshan disease* : *Advances in nutritional research* ; 6:203-220, (1984).

Zhong Y.C. *Study on chemical constituents from the root of hemerocallis citrina*, *Journal of Chinese medical materials*, 34(9):371-1373, (2011).

Zonderland H.M., Coerkamp E.G., Hermans J., Vijver M.J. Van De et Voorthuisen Van A.E. *Breast Imaging Diagnosis of Breast Cancer: Contribution of US as an Adjunct to Mammography* : Radiology ; 213(2):413-422, (1999).

Annexes

Annexe 1 : Information sur les cellules cancéreuses mammaires MDA-MB-361

Origine des souches : ATCC® HTB-27™, Lot N° 60106926, cellules total en mL : 5×10^6 ; pourcentage de viabilité : 97,5% à 99,5 %, N° d'ampoule de passage : 52 ; Population (PDL) : N/A ; dilution du contenu de l'ampoule : 1 :10 (T-25) ou 1 :15 (T-75) ; volume de l'ampoule : 1 mL

MDA-MB-361 : Adénocarcinome du sein

Organisme : Homo Sapiens (Humain)

Tissu : Adénocarcinome du sein, métastases localisées au niveau du cerveau

Age : 40 ans

Genre : Femelle

Ethnique : Caucase

Oncogène : Wnt7h⁺

Expression sur l'antigène : Groupe sanguin O ; Rh+

Morphologie : épithélial

Propriété de croissance : Perte d'adhèrent

Profile ADN : Amelogenine : X

CSF1PO :12

D13S317 :11

D5S818 :10, 11

D7S820 : 9, 12

TH01 : 9, 3

vWA : 17

Annexe 2 : Information sur les cellules cancéreuses mammaires MCF-7

Origine des souches : ATCC® HTB-22™

Organisme : Homo Sapiens (Humain)

Tissu : Adénocarcinome du sein, métastases localisées au niveau de l'effusion pleural

Age : 69 ans

Genre : Femelle

Type de cellule : épithélial

Propriété de croissance : adhérent

Niveau de sécurité : 1

Morphologie : épithélial

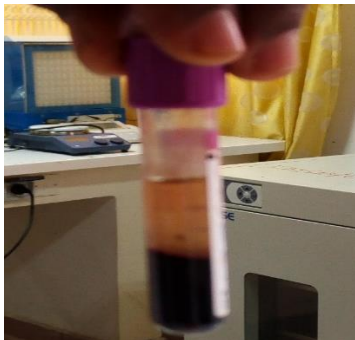
Condition de stockage : Phase vapeur du nitrogène liquide

Annexe 3 : Photo de la chromatographie sur colonne et de la centrifugeuse 90-1



Annexe 4 : Photo test antioxydant *in vivo* et composition standard des rats

Maïs.....	15 kg
Blé.....	2 kg
Poisson	2 kg
Soja.....	2 kg
Arachide.....	2 kg
Palmiste.....	1,5 kg
Os.....	0,5kg



Annexe 5 : Préparation du Tampon Phosphate (PBS) pour 500 mL à pH 7,2

NaCl à 137 mM.....	4 g
KCl à 2,7 mM.....	0,1 g
Na ₂ HPO ₄ (phosphate disodique) à 1,76 mM.....	0,72 g
KH ₂ PO ₄ (Phosphate monopotassique) à 1,76 mM.....	0,12 g de

Annexe 6 : Préparation du Tampon Tris-HCl pour 500 mL à pH 8,2

A partir de 90,72 g de base Tris, ajouter 500 mL d'eau distillée, puis ajouté du HCl 6N jusqu'à pH 8,2

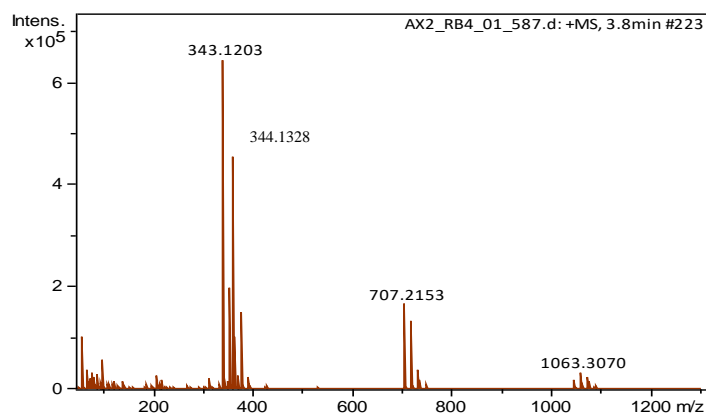
Annexe 7 : Données spectroscopiques des composés de l'extrait aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana*

	RT [min]	Area	Int. Type	I	S/N	Chromatogra	Max. m/z	FWHM [min]	Proportion	masse injecté
1	0.1	23894888	Chromatogra	3976715	181.1	BPC +All MS	101.0027	0.1	39,132493	9,78312E-05
2	3.3	279457	Chromatogra	184719	2.4	BPC +All MS	101.0033	0.1	0,4576648	1,14416E-06
3	3.8	498061	Chromatogra	273012	6.6	BPC +All MS	245.0789	0.0	0,81567106	2,03918E-06
4	4.0	393943	Chromatogra	197753	3.5	BPC +All MS	101.0036	0.1	0,64515773	1,61289E-06
5	4.2	495953	Chromatogra	191898	3.5	BPC +All MS	101.0028	0.1	0,8122188	2,03055E-06
6	4.9	9709830	Chromatogra	633007	25.1	BPC +All MS	270.2252	0.3	15,9017215	3,97543E-05
7	5.9	256333	Chromatogra	236431	4.5	BPC +All MS	413.2678	0.0	0,41979478	1,04949E-06
8	6.1	162242	Chromatogra	280483	3.1	BPC +All MS	79.0214	0.0	0,2657026	6,64257E-07
9	6.3	491672	Chromatogra	350310	5.0	BPC +All MS	79.0217	0.0	0,80520784	2,01302E-06
10	6.4	1061890	Chromatogra	523127	13.1	BPC +All MS	79.0214	0.1	1,73904992	4,34762E-06
11	6.5	817604	Chromatogra	528888	13.7	BPC +All MS	79.0216	0.1	1,33898442	3,34746E-06
12	6.6	3398583	Chromatogra	625250	18.3	BPC +All MS	79.0214	0.2	5,5658359	1,39146E-05
13	6.7	1162765	Chromatogra	486830	11.9	BPC +All MS	79.0213	0.1	1,90425221	4,76063E-06
14	6.9	202930	Chromatogra	301441	4.1	BPC +All MS	79.0216	0.0	0,33233706	8,30843E-07
15	7.0	1797407	Chromatogra	719244	24.5	BPC +All MS	610.1873	0.1	2,94360103	7,359E-06
16	7.2	949139	Chromatogra	416860	12.4	BPC +All MS	684.2071	0.1	1,55439838	3,886E-06
17	7.5	468850	Chromatogra	250675	5.9	BPC +All MS	758.2262	0.1	0,76783241	1,91958E-06
18	8.9	1886693	Chromatogra	177578	4.4	BPC +All MS	144.9832	0.5	3,08982409	7,72456E-06
19	9.0	485239	Chromatogra	206064	5.9	BPC +All MS	144.9832	0.1	0,79467256	1,98668E-06
20	9.2	3934194	Chromatogra	641845	26.9	BPC +All MS	226.9531	0.1	6,44300234	1,61075E-05
21	9.5	7152621	Chromatogra	766605	30.8	BPC +All MS	61.0078	0.2	11,713798	2,92845E-05
22	9.8	1561208	Chromatogra	292591	5.6	BPC +All MS	141.9599	0.3	2,55677956	6,39195E-06
	Total	61061502							100	0,00025

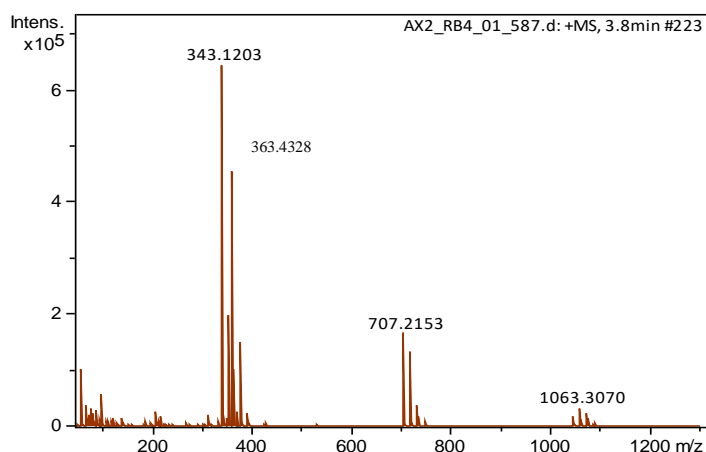
Annexe 8 : Données spectroscopiques des composés de l'extrait aqueux des écorces de *A. schweinfurthii*

N°	RT [min]	Area	Int. Type	I	S/N	Chromatogra	Max. m/z	FWHM [min]	proportion	masse injecté
1	0.1	23894888	Chromatogra	3976715	181.1	BPC +All MS	101.0090	0.1	39,132493	9,78312E-05
2	3.3	279457	Chromatogra	184719	2.4	BPC +All MS	101.0096	0.1	0,4576648	1,14416E-06
3	3.8	498061	Chromatogra	273012	6.6	BPC +All MS	245.0884	0.0	0,81567106	2,03918E-06
4	4.0	393943	Chromatogra	197753	3.5	BPC +All MS	101.0099	0.1	0,64515773	1,61289E-06
5	4.2	495953	Chromatogra	191898	3.5	BPC +All MS	101.0091	0.1	0,8122188	2,03055E-06
6	4.9	9709830	Chromatogra	633007	25.1	BPC +All MS	270.2351	0.3	15,9017215	3,97543E-05
7	5.9	256333	Chromatogra	236431	4.5	BPC +All MS	413.2802	0.0	0,41979478	1,04949E-06
8	6.1	162242	Chromatogra	280483	3.1	BPC +All MS	79.0271	0.0	0,2657026	6,64257E-07
9	6.3	491672	Chromatogra	350310	5.0	BPC +All MS	79.0275	0.0	0,80520784	2,01302E-06
10	6.4	1061890	Chromatogra	523127	13.1	BPC +All MS	79.0272	0.1	1,73904992	4,34762E-06
11	6.5	817604	Chromatogra	528888	13.7	BPC +All MS	79.0273	0.1	1,33898442	3,34746E-06
12	6.6	3398583	Chromatogra	625250	18.3	BPC +All MS	79.0272	0.2	5,5658359	1,39146E-05
13	6.7	1162765	Chromatogra	486830	11.9	BPC +All MS	79.0270	0.1	1,90425221	4,76063E-06
14	6.9	202930	Chromatogra	301441	4.1	BPC +All MS	79.0273	0.0	0,33233706	8,30843E-07
15	7.0	1797407	Chromatogra	719244	24.5	BPC +All MS	610.2028	0.1	2,94360103	7,359E-06
16	7.2	949139	Chromatogra	416860	12.4	BPC +All MS	684.2236	0.1	1,55439838	3,886E-06
17	7.5	468850	Chromatogra	250675	5.9	BPC +All MS	758.2436	0.1	0,76783241	1,91958E-06
18	8.9	1886693	Chromatogra	177578	4.4	BPC +All MS	144.9907	0.5	3,08982409	7,72456E-06
19	9.0	485239	Chromatogra	206064	5.9	BPC +All MS	144.9908	0.1	0,79467256	1,98668E-06
20	9.2	3934194	Chromatogra	641845	26.9	BPC +All MS	226.9623	0.1	6,44300234	1,61075E-05
21	9.5	7152621	Chromatogra	766605	30.8	BPC +All MS	61.0130	0.2	11,713798	2,92845E-05
22	9.8	1561208	Chromatogra	292591	5.6	BPC +All MS	141.9674	0.3	2,55677956	6,39195E-06
	Total	61061502							100	0,00025

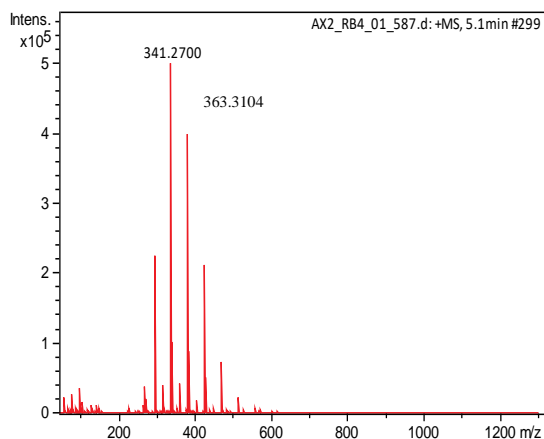
Annexe 9 : Spectre du composé 9 de l'extrait aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana*



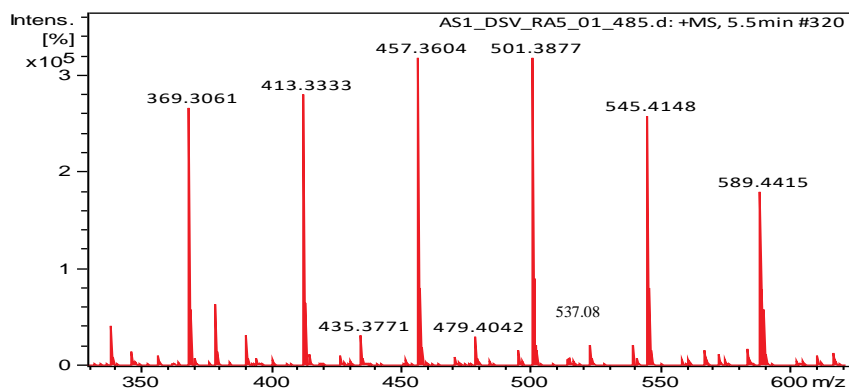
Annexe 10 : Spectre du composé 10 de l'extrait aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana*



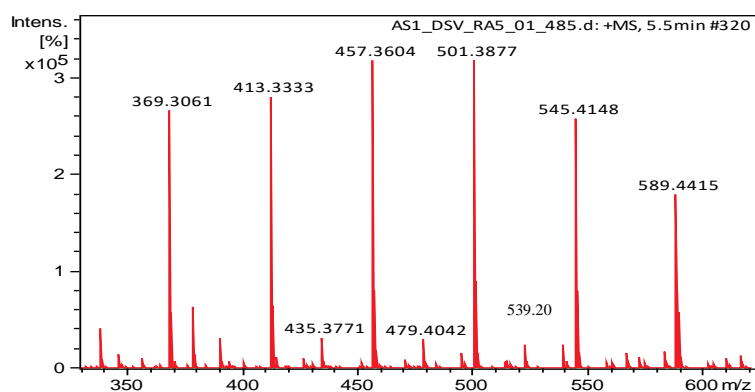
Annexe 11 : Spectre du composé 13 de l'extrait aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana*



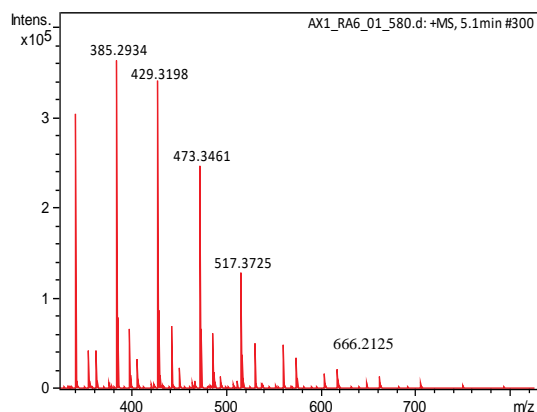
Annexe 12 : Spectre du composé 14 de l'extrait aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana*



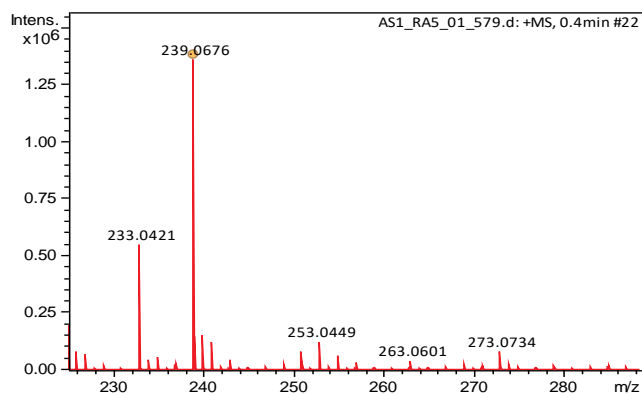
Annexe 13 : Spectre du composé 15 de l'extrait aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana*



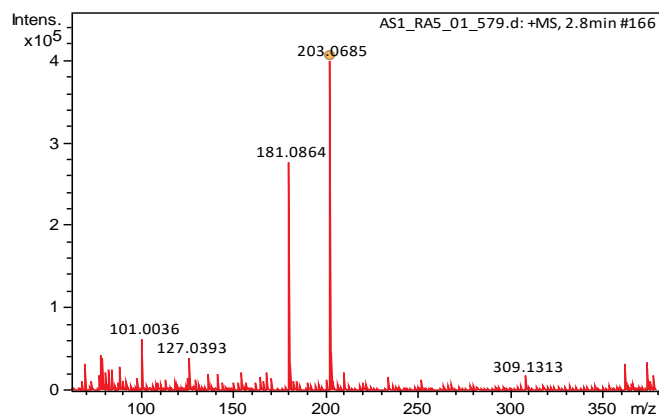
Annexe 14 : Spectre du composé 17 de l'extrait aqueux des écorces de *O. schweinfurthiana*



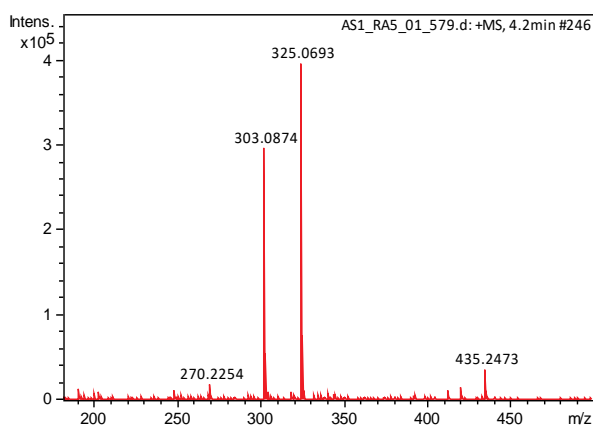
Annexe 15 : Spectre du composé 3 de l'extrait aqueux des écorces de *A. schweinfurthii*



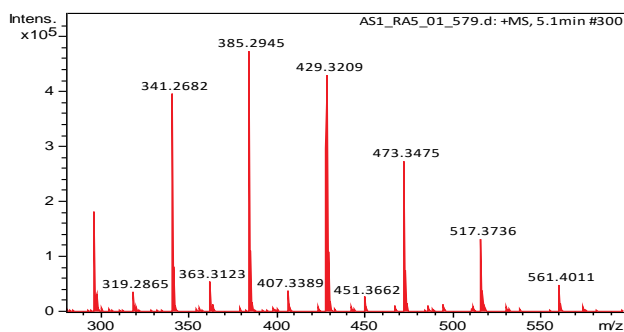
Annexe 16 : Spectre du composé 4 de l'extrait aqueux des écorces de *A. schweinfurthii*



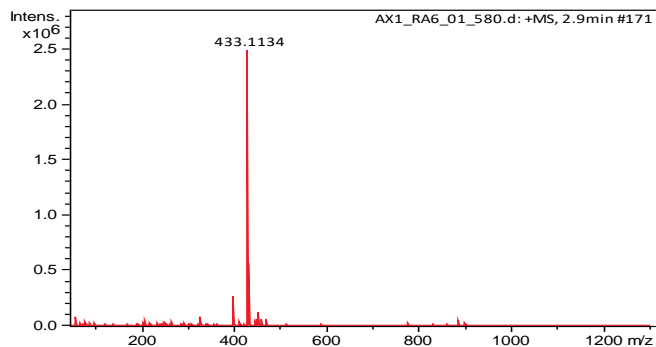
Annexe 17 : Spectre du composé 8 de l'extrait aqueux des écorces de *A. schweinfurtii*



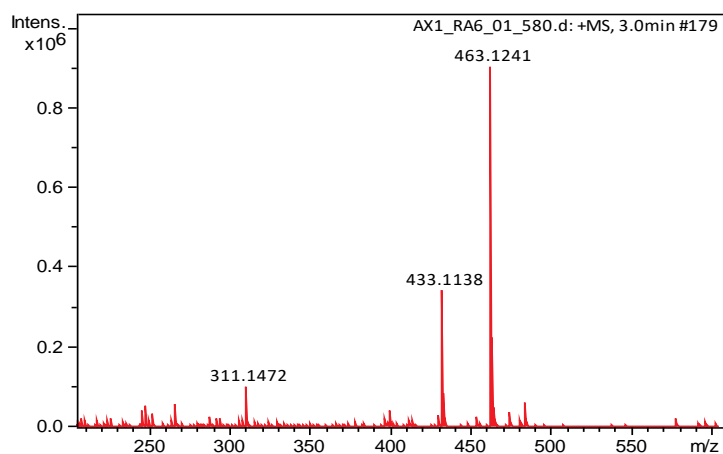
Annexe 18 : Spectre du composé 13 de l'extrait aqueux des écorces de *A. schweinfurtii*



Annexe 19 : Spectre du composé 17 de l'extrait aqueux des écorces de *A. schweinfurtii*

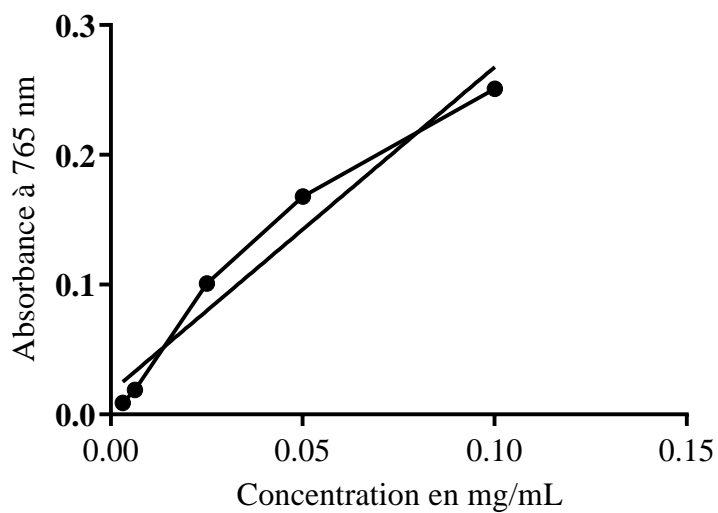


Annexe 20 : Spectre du composé 20 de l'extrait aqueux des écorces de *A. schweinfurtii*



Annexe 21 : Courbes d'étalonnages

Courbe de l'étalonnage de l'Acide ascorbique



Liste de publications issues de la thèse

Les résultats obtenus dans cette thèse ont déjà permis la rédaction et la publication de quatre articles scientifiques dans les journaux à comité de lecture, un cinquième étant en cours de rédaction. Ces articles sont classés suivant l'ordre de parution :

1- Djova S.V., Nyegue M.A., Messi A.N. Afagnigni A.D. and Etoa F-X. *Phytochemical study of aqueous extract of Ochna schweinfurthiana F. Hoffm powder bark and evaluation of their anti-inflammatory, cytotoxic and genotoxic properties* : Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine-HINDAWI, (2019).

2- Djova S.V., Nyegue M.A., Afagnigni A.D., Etoa F-X. *In vitro antioxidant activity, cytotoxicity and genotoxicity of extracts from the leaves and barks of Anthocleista schweinfurthii Gilg (loganiaceae)* : Asian Journal of Research in Biological and Pharmaceutical Sciences; 6(2):58-69, (2018).

3-Djova S.V., Nyegue M.A., Etoa F.X. *The anti-arthritic and anti-inflammatory activities of aqueous extract powder bark of Anthocleista schweinfurthii Gilg (Loganiaceae)* : Journal of Drug Delivery and Therapeutics ; 8(6-s):174-181, (2018).

4- Nyegue M.A., Ngo Mbing J., **Djova S.V.**, Messi A.N., Voundi Olugu S.H., Pegnyemb et Etoa F.X. *Evaluation of the antioxidant activity of the leaves, stem-bark extract of Ochna schweinfurthiana F. Hoffm (Ochnaceae)* : African Journal of pharmacy and pharmacology ; 10(17):370-378, (2016).