

BURKINA FASO

UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU



UNITE DE FORMATION ET DE RECHERCHE EN SCIENCES DE LA SANTE

(UFR / SDS)

TROISIEME CYCLE SPECIALISE ET DOCTORAL

Année universitaire : 2010 – 2011

Mémoire n°.....

**ETUDE DES EFFETS ANTIRADICALAIRES ET
ANTILIPOXYGENASE DES EXTRAITS D'ERYTHRINA
SENEGALENSIS DC (FABACEA)**

MEMOIRE

Présenté et soutenu publiquement le

Par :

FOFANA SOULEYMANE

Pour l'obtention du

Diplôme d'Etudes Approfondies en pharmacologie appliquée

JURY

Directeurs de Mémoire

Président

Pr. Innocent Pierre GUISSOU

Pr. Jean-Baptiste NIKIEMA

Membres

Pr. Jacques SIMPORE

Co-directeur

Dr. Charlemagne GNOULA

DEDICACES

Nous dédions ce travail :

A toutes les familles **FOFANA, KAM, PODA, BA, CISSE, KONATE** : pour votre soutien moral inconditionnel et inestimable

A tous mes ami(e)s : Las, Noufou, Zida, Sangaré, Aymar, Moumouni (Morè), Yaogo, Osara, Emile, Dimitri, Richard (ORL), Mady (Winner), Kaf, Pata, Jules, Carlos, Sol, Vann, Valé (valériaquine), Zéinab, Sylvia, Atou, Serge, Maho, Frank Zongo (Frapether), Nicole GUISSOU.

A tous les internes des hôpitaux du Burkina Faso

A tous les malades de cancer : en particulier à **Olivia** (*la bien aimée fille de Salomé OUATTARA*) et à **Fred** (*le bien aimé père de Maureen*)

A tous ceux qui de près ou de loin ont participé à l'aboutissement de ce travail

REMERCIEMENTS

La réalisation de ce travail n'a été possible que grâce à la disponibilité et à la sincère collaboration de certaines bonnes volontés. A cet effet, nous voudrions exprimer notre profonde gratitude :

- **Au Ministère de la santé du Burkina Faso à travers la Direction de la tutelle des hôpitaux publics et du sous secteur sanitaire privé.** Qui a supporté une partie de nos frais d'inscription au DEA de Pharmacologie Appliquée.

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

- **A Monsieur Charlemagne GNOULA.** *Maitre-Assistant en Chimie thérapeutique à l'UFR / SDS Université de Ouagadougou.*

- **A tout le personnel du CERBA** en particulier M. Désiré, M. Moret, le Père Jean De Dieu. Merci pour votre collaboration.

- **A tout le personnel de l'IRSS** en particulier M. Yaro, M. Noufou, Dr Sylvain, Dr KINI, Dr Richard et le Pr I Pierre GUISSOU (merci pour tout Cher Maître).

- **A tous les étudiants du CERBA** en particulier Jacky, Saya, Florence, Aziz, Tondé, Martial, Hédié, Bazié.

- **A Monsieur Moussa OUEDRAOGO.** *Maître-Assistant en Pharmacologie à l'UFR / SDS Université de Ouagadougou.*

- **Aux Docteurs KOANDA et Sonia,** *pharmaciens-chefs d'unités du service de la Pharmacie Hospitalière du CHU YO. Merci pour votre compréhension et vos soutiens.*

A NOS MAITRES ET JUGES

A notre Maître et Directeur de Mémoire

Le Professeur Innocent Pierre GUISSOU

Professeur Titulaire de Pharmacologie et Toxicologie à l'UFR / SDS

Université de Ouagadougou

Honorable Maître, nous n'aurons de cesse de vous remercier pour avoir dirigé cette étude. C'est une grande fierté pour nous de faire partie de votre écurie d'internes des hôpitaux. Nous bénéficions toujours de vos enseignements de qualité. Votre prodigieux esprit de chercheur, votre rigueur scientifique et votre amour de l'excellence et du travail TOUT FAIT et BIEN FAIT, font de vous l'un des plus Grands Maîtres de notre Université. Tout au long de cette étude, nous avons été permanemment animés par le souci de produire un travail à la hauteur de vos attentes.

A notre Maître et Directeur de Mémoire

Le Professeur Jean-Baptiste NIKIEMA

Professeur Titulaire de Pharmacognosie à l'UFR / SDS

Université de Ouagadougou

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

A notre Maître et Directeur de Mémoire

Le Professeur Jacques SIMPORE

***Professeur Titulaire de Génétique et de Biologie Moléculaire UFR / SVT
Université de Ouagadougou.***

Honorable Maître, c'est un privilège d'avoir pu mener nos travaux de recherche dans votre Centre de recherche. Tout au long ce travail vous n'avez eu de cesse de nous encourager. Au cours de notre formation théorique au DEA, nous avons bénéficié de vos enseignements clairs et bien élaborés. Nous avons été marqués par vos qualités exceptionnelles de pédagogue. Votre rigueur scientifique et votre humanisme n'ont d'égale que votre générosité et votre modestie. Recevez Cher Maître, l'expression de notre profonde gratitude.

A notre Maître et Co-directeur

Le Docteur Charlemagne GNOULA.

***Maître Assistant en Chimie Thérapeutique à l'UFR / SDS
Université de Ouagadougou***

Vous avez dirigé ce travail et m'avez permis de le mener à terme. Ce travail est le vôtre.

Je vous prie d'accepter l'expression de ma sincère reconnaissance. Que Dieu vous rende au centuple.

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

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	1
ENONCE DU PROBLEME	2
 PARTIE I : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES	 4
I. GENERALITES SUR LE CANCER	4
I.1. Epidémiologie du cancer	4
I.1.1. Incidence et mortalité dans le monde.....	4
I.1.2. L'incidence et la mortalité en Afrique	4
I.1.3. Les facteurs favorisant	5
I.2. Les mécanismes de carcinogénèse	5
I.2.1. Le cancer et les gènes	5
I.2.2. Les radicaux libres et la carcinogénèse	7
I.2.3. Les lipooxygénases et le cancer	9
I.2.4. La chronologie de la transformation cancéreuse.....	10
I.2.5. Le contrôle cellulaire de la carcinogénèse.....	11
I.3. Le traitement anticancéreux	13
I.3.1. La classification des médicaments anticancéreux.....	13
I.3.2. Les agents anticancéreux d'origine végétale	18
II. DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES SUR <i>Erythrina senegalensis</i> DC	24
II.1. Dénominations locales :	24
II.2. Classification de la plante d'étude	24
II.3. Description botanique de la plante d'étude	24
II.4 Habitat :	25
II.5. Données ethnopharmacologiques	26
II.6. Données phytochimiques et pharmacologiques établies	27
II.6.1. les composés antimicrobiaux, antiviraux et antiparasitaires	27
II.6.2. les composés cytotoxiques.....	27
II.6.3. les composés ayant d'autres activités.....	28
II.7. Données toxicologiques	28

PARTIE II : NOTRE ETUDE	29
I.OBJECTIFS DE L'ETUDE	29
I.1. Objectif général	29
I.2. Objectifs spécifiques:	29
II.METHODOLOGIE	30
II.1. Cadre de l'étude	30
II.1.1. Le CERBA	30
II.1.2. L'IRSS / MEPHATRA-Pharmacie	31
II.2. Matériel de l'étude	31
II.2.1. le matériel végétal	31
II.2.2. le matériel pour l'extraction et la caractérisation phytochimique	32
II.2.3. Matériels pour les études pharmacologiques	33
II.3. Méthode d'étude	34
II.3.1. La méthode d'extraction	34
II.3.2. Méthode de détermination du taux d'humidité résiduelle de la drogue et des rendements d'extraction	34
II.3.3. La méthode des caractérisations phytochimiques	35
II.3.4. Le test d'évaluation de l'effet antiradicalaire des extraits	41
II.3.5. Le test d'évaluation de l'effet anti-lipooxygénase	42
II.3.5. Expression et analyse des données	44
III.RESULTATS DE L'ETUDE	45
III.1. Les teneurs en humidité relative (THR)	45
III.2. Les rendements d'extractions	45
III.3. La caractérisation des groupements phytochimiques	46
III.3.1. les réactions colorées en tube	46
III.3.2. La chromatographie sur couche mince (CCM)	47
III.4. L'effet antiradicalaire des extraits	52
III.4.1. les effets antiradicalaires des extraits de feuilles	52
III.4.2. les effets antiradicalaires des extraits d'écorces	53
III.4.3. les effets antiradicalaires des extraits de racines entières	54
III.4.4. Le récapitulatif des effets antiradicalaires des extraits par épuisement successif d' <i>E. senegalensis</i> DC.	55

III.5. L'effet anti-lipooxygénase des extraits	56
III.5.1. Les tests préliminaires à la concentration de 100 µg/mL de l'extrait	56
III.5.2. Les extraits à effets anti-lipooxygénase non doses-dépendants	57
III.5.3. Les extraits à effets anti-lipooxygénase doses-dépendants	57
III.5.4. Récapitulatif des effets inhibiteurs de la 12-lipooxygénase des extraits <i>d'E. senegalensis DC.</i>	58
III.6. Récapitulatif des effets inhibiteurs du DPPH et de la 12-lipooxygénase des extraits <i>d'E. senegalensis DC.</i>	59
 IV.DISCUSSIONS / COMMENTAIRES	60
IV.1. Les teneurs en humidité relative (THR)	60
IV.2. Les rendements d'extractions	60
IV.3. Les caractérisations phytochimiques	61
IV.3. L'effet antiradicalaire des extraits <i>d'E. senegalensis DC.</i>	63
IV.4. L'effet anti-lipooxygénase des extraits <i>d'E. senegalensis DC.</i>	66
IV.5. Les effets antiradicalaires et anti-lipooxygénase des extraits <i>d'E. senegalensis DC.</i>	67
 CONCLUSION	69
PERSPECTIVES DE L'ETUDE	70
REFERENCES	71
ANNEXES	

Liste des tableaux

		Page
Tableau I	Les différentes cibles pharmacologiques des agents anticancéreux	14
Tableau II	Les différents anticancéreux selon leur mode d'action sur l'ADN	14
Tableau III	Les agents anticancéreux ciblant les récepteurs membranaires de la cellule tumorale	16
Tableau IV	Les agents anticancéreux agissant à l'intérieur du cytoplasme de la cellule tumorale	17
Tableau V	Les agents anticancéreux agissant au niveau de l'endothélium et de la matrice extracellulaire	18
Tableau VI	Les taux moyens d'humidité relative des poudres des drogues végétales	45
Tableau VII	Le rendement des extractions en fonction des solvants et des drogues.	45
Tableau VIII	Les groupes phytochimiques mis en évidence dans les extraits d' <i>E. senegalensis</i> DC selon les parties de la plantes	46
Tableau IX	Les références frontales (Rf) et les couleurs des spots après révélation des tannins, des coumarines et dérivés, des flavonosides et aglycones flovoniques	48
Tableau X	Les références frontales (Rf) et les couleurs des spots après révélation des glucosides stéroïdiques & triterpéniques, des stérols & triterpènes et des saponosides	51
Tableau XI	Les effets antiradicalaires doses-dépendants des extraits de feuilles	52
Tableau XII	Les effets antiradicalaires doses-dépendants des extraits d'écorces de tronc d' <i>E. senegalensis</i> DC	53
Tableau XIII	Les effets antiradicalaires doses-dépendants des extraits de racines d' <i>E. senegalensis</i> DC	54
Tableau XIV	Le récapitulatif des effets antiradicalaires des extraits par épuisement successif d' <i>E. senegalensis</i> DC.	55
Tableau XV	Les effets inhibiteurs des extraits d' <i>E. senegalensis</i> DC à la dose de 100µg/mL	56
Tableau XVI	Les effets non doses-dépendants des extraits d' <i>E. senegalensis</i> DC	57
Tableau XVII	Les effets inhibiteurs de la 12-lipooxygénase des extraits de racines d' <i>E. senegalensis</i> DC	57
Tableau XVIII	Les effets inhibiteurs de la 12-lipooxygénase des extraits d'écorces de tige d' <i>E. senegalensis</i> DC	58
Tableau XIX	Le récapitulatif des effets inhibiteurs de la 12-lipooxygénase des extraits d' <i>E. senegalensis</i> DC	58
Tableau XX	Le récapitulatif des meilleurs potentiels antiradicalaire et inhibiteurs de la 12-lipooxygénase	59

Liste des figures

		Page
Figure 1	Les étapes de formation du cancer	10
Figure 2	Structures d'alcaloïdes de la pervenche de Madagascar	19
Figure 3	Structure du paclitaxel	20
Figure 4	Structure de la podophylotoxine	21
Figure 5	Structure de la Camptothécine	22
Figure 6	Les parties d' <i>Erythrina senegalensis</i> DC (Fabaceae)	25
Figure 7	Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH	41
Figure 8	La révélation des tannins, des aglycones flavoniques, des flavonosides, des coumarines et des dérivés coumariniques.	47
Figure 9	La révélation des glucosides stéroïdiques & triterpéniques), des stérols & triterpènes et des saponosides.	50

Liste des photos

		Page
Photo 1	Les écorces de tronc d' <i>E. senegalensis</i> DC (Fabaceae)	25
Photo 2	Les jeunes feuilles d' <i>E. senegalensis</i> DC (Fabaceae)	25
Photo 3	La plante entière d' <i>E. senegalensis</i> DC (Fabaceae)	25
Photo 4	Chromatogramme montrant la révélation des tanins	47
Photo 5	Chromatogramme montrant la révélation des aglycones flavoniques	47
Photo 6	Chromatogramme montrant la révélation des flavonosides	47
Photo 7	Chromatogramme montrant la révélation des coumarines	47
Photo 8	Chromatogramme montrant la révélation des dérivés coumariniques	47
Photo 9	Chromatogramme montrant la révélation des glucosides stéroïdiques & triterpéniques	50
Photo 10	Chromatogramme montrant la révélation des stérols & triterpènes	50
Photo 11	Chromatogramme montrant la révélation des saponosides	50

Liste des abréviations et sigles

%	Pourcentage
µg	Microgramme
µL	Microlitre
µM	Micromolaire
ACE ETH	Extrait à l'acétate d'éthyle
ADN	Acide désoxyribonucléique
AQ	Extrait aqueux
ARN	Acide ribonucléique
ARV	Antirétroviral
bcl2	B-cell lymphoma 2
b-FGF	basic fibroblast growth factor
BRCA	Breast cancer antigen
CCM	Chromatographie sur couche mince
CD	Cluster of differentiation
Cdk	Cyclin-dependent protein kinase (Cycline Dépendante Kinase)
CERBA	Centre de Recherche Biomoléculaire Piétro Annigoni
CHU YO	Centre Hospitalier Universitaire Yalgado OUEDRAOGO
CKI	Cyclin dependent kinase inhibitors
cm	Centimètre
CMI	Concentration minimale inhibitrice
CNRST	Centre National de Recherche Scientifique et Technologique
COX	Cyclooxygénase
DCM	Extrait au dichlorométhane
DHFR	Dihydrofolate réductase
DL	Dose létale
DMSO	Dimethylsulfoxide
DPPH	1,1-diphényl 2-picrylhydrazyl
EGF-R	Epidermal growth factor receptor
FRO	Forme réactive de l'oxygène
g	gramme

G6PD	Glucose-6-phosphate déshydrogénase
GRFT	Glycinamide ribonucléotide formyltransférase
h	Heure
HBV	Virus de l'hépatite B
HCV	Virus de l'hépatite C
HETE	Acide Hydroxyéicosatétraoïque
IC ₅₀	Inhibitory Concentration 50 (Concentration inhibitrice 50%)
IRSS	Institut de Recherche en Sciences de la Santé
IRSS	Institut de Recherche en Sciences de la Santé
Kg	kilogramme
Km	kilomètre
LH	Lutheining hormone
LOX	Lipooxygénase
MAP kinase	Mitogen activated protein kinase
MeOH	Extrait méthanolique
MEPHATRA/PH	Médecine-Pharmacopée Traditionnelle / Pharmacie
min	minute
mL	Millilitre
mm	millimètre
NAD	Nicotinamide adénosine diphosphate
nm	Nanomètre
OMS	Organisation mondiale de la santé
PI3kinase	Phosphatidylinositol 3-kinase
PTME	Prévention de la Transmission de la mère à l'enfant
Rf	Référence frontale
RH	Releasing hormone
RL	Radicaux libres
RR	Ribonucléotide réductase
RX	Rayons ionisants
SEM	Erreur standard sur la moyenne
SIDA	Syndrome de l'immunodéficience acquise

SOD	Super oxyde dismutase
TGF α	Transforming growth factor
THR	Teneur en humidité résiduelle
TS	Thymidilate synthétase
UV	Ultra violet
VEGF	vascular endothelial growth factor
VEGF-R	vascular endothelial growth factor receptor
VIH	Virus de l'Immunodéficience Humaine

RESUME

Titre : étude des effets antiradicalaires et antilipooxygénases des extraits d'*Erythrina senegalensis* DC (Fabaceae).

Erythrina senegalensis DC (Fabaceae) est une plante issue de la pharmacopée traditionnelle du Burkina Faso et utilisée dans le traitement de la jaunisse, des fibromes, de la fatigue et de la sénescence. Nous nous sommes intéressés à cette plante dans le but de mettre évidence les propriétés antiradicalaires et anti-lipooxygénases des extraits de racines, de feuilles et d'écorces de tronc.

Nous avons procédé dans un percolateur, à un épuisement successif des feuilles, des racines et d'écorces de tronc par des solvants de polarité croissante : le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle, le méthanol et l'eau. Nous avons ensuite caractérisé les principaux groupes chimiques présents dans les extraits par des réactions en tube et par la chromatographie sur couche mince. L'effet antiradicalaire a été évalué à l'aide du test au DPPH. La 12-lipooxygénase-B du soja a servi de modèle expérimental pour évaluer l'effet sur la lipooxygénase.

L'étude a révélé que les extraits au dichlorométhane de racines (**IC₅₀ : 51.8±0.06**) et d'écorces de tronc (**IC₅₀ : 57,6±0,68**) possédaient les meilleurs potentiels antiradicalaires mais étaient faiblement inhibiteurs de la lipooxygénase (**IC₅₀-Racines : 220,3±1,30 ; IC₅₀-écorces : 214,6±3,8**). Par contre les extraits à l'acétate d'éthyle d'écorces de tronc (**IC₅₀-LOX : 49,54±1,12 versus IC₅₀-DPPH : 114±12,6**) ainsi que les extraits à l'acétate d'éthyle de racines (**IC₅₀-LOX : 72,14±2,31 versus IC₅₀-DPPH : 72.7 ± 0.13**) ont montré à la fois de puissants effets inhibiteurs de la lipooxygénase et antiradicalaires.

Ces effets pourraient être imputés aux polyphénols (flavonoïdes, tanins, coumarines et autres acides phénoliques) qui ont été abondamment caractérisés dans ces extraits d'*E. senegalensis* DC. Les lipooxygénases sont une famille d'enzymes oxydatives dont certaines isoformes telle que la 15-lipooxygénase-1 sont surexprimées dans de nombreuses maladies en particulier les cancers de la prostate et les cancers colorectaux. Dans ces cancers les métabolites actifs de ces enzymes sont impliqués dans la croissance, l'agressivité et l'invasivité des cellules tumorales. C'est pourquoi de notre point de vue, l'inhibition de la lipooxygénase par les extraits d'*E. senegalensis* DC pourrait ouvrir une voie de recherche de principes phytochimiques intéressants dans le traitement de ces cancers qui font partie des plus fréquents dans notre contexte.

L'isolement et l'identification des principes chimiques intéressants seraient nécessaires pour déterminer leur action antitumorale sur les lignées cellulaires de types PC-3 et LoVo.

Mots-clés : cerbafaso ; *E. senegalensis* ; antiradicalaire ; antilipooxygénase

Auteur : FOFANA SOULEYMANE, fofanasoul@yahoo.fr

Introduction

Le cancer est une maladie génétique multifactorielle. Parmi les facteurs on peut citer le stress oxydatif [1]. Le cancer se définit comme une prolifération anarchique et incontrôlée de cellules anormales, capables de migrer et d'essaimer à distance sur d'autres organes [2]. Dans les cancers de la prostate qui est l'un des cancers dominants chez l'homme, on assiste à une surexpression de la 15-lipooxygénase-1 qui est une enzyme oxydative [3].

Les médicaments anticancéreux sont onéreux et les populations se tournent souvent vers la médecine traditionnelle. Selon l'OMS, Plus de 80% des populations africaines [4] ont recours aux remèdes traditionnels qui sont essentiellement basés sur les extraits végétaux pour résoudre leurs problèmes de santé.

Les premiers médicaments introduits en thérapie anti-tumorale étaient issus des végétaux [5] et des études [6, 7] ont montré que la riche et diversifiée flore du Burkina Faso concentre des principes chimiques intéressants dans le traitement des cancers.

***Erythrina senegalensis* DC (Fabaceae)** est l'une des plantes médicinales du Burkina Faso qui est largement utilisé dans le traitement traditionnel du paludisme, des fibromes, des maladies vénériennes [8].

C'est pour ces raisons que notre intérêt s'est porté sur cette plante afin de caractériser des principes chimiques pouvant présenter des effets antiradicalaire et anti-lipooxygénase.

Enoncé du problème

Le cancer constitue un problème majeur de santé à l'origine de 7.6 millions de décès dans le monde en 2008 [9]. Malgré l'idée reçue selon laquelle le cancer touche principalement les populations des pays riches, la réalité est toute autre. Plus de la moitié des nouveaux cas, et plus de 60 % des décès, sont désormais recensés dans les régions les plus pauvres. Dans ces régions, le cancer est maintenant l'une des principales causes de décès. Il cause plus de décès que le SIDA, la tuberculose et le paludisme réunis malgré les nombreuses stratégies thérapeutiques anticancéreuses disponibles [9].

De nombreux médicaments sont utilisés dans le traitement des cancers. Cependant, leur manque de sélectivité et de spécificité conduit à l'apparition d'effets indésirables souvent grave qui, en thérapeutique pose les problèmes d'inobservance thérapeutique. De plus, malgré ce nombre important de médicaments anticancéreux certains cancers restent toujours incurables et le taux de récives est élevé. Les thérapies anticancéreuses actuelles seraient souvent cancérogènes [10].

Au Burkina Faso, le problème est tout autre : le coût élevé des médicaments anticancéreux rend le traitement inaccessible à la majorité des patients. Une étude réalisée sur la pharmacothérapeutique des patients atteints de cancer au CHU Yalgado OUEDRAOGO de Ouagadougou (Burkina Faso), a montré que la majorité des patients (97%) n'arrivaient pas à d'honorer leurs cures de chimiothérapie faute de moyens financiers [11].

Il s'avère alors nécessaire de poursuivre la recherche en vue de trouver de nouvelles molécules plus sélectives et plus efficaces que les précédentes. C'est pour cette raison que de nos jours, la recherche est axée exclusivement sur l'élément dérégulé de la cellule tumorale à l'origine du néoplasme [12]. Par exemple, dans les cancers colorectaux et de la prostate, de nombreuses études [3, 13] ont révélé une surexpression de la 15-lipooxygénase-1 qui est une enzyme oxydative. La conséquence de cette surexpression est sans doute la genèse de radicaux libres (péroxydes d'hydrogènes) qui vont aggraver la pathogénie du cancer. D'autres études ont montré que l'inhibition de la lipooxygénase induirait la mort de des cellules cancéreuses par apoptose [14, 15].

La recherche de principes chimiques antiradicalaires (anti-oxydants) et anti-lipooxygénase dans les plantes pourrait alors aboutir au développement de

phytomédicaments financièrement accessibles afin de prévenir le cancer (effet antiradicalaire) et/ou de le traiter efficacement (effet antilipooxygénase et cancer de la prostate). C'est ainsi que notre étude trouve toute sa place dans la lutte contre le cancer.

Le règne végétal a pourvu le plus grand nombre de médicaments anticancéreux (vincristine, paclitaxel, irinotécan...) [5]. C'est pourquoi nous nous sommes penchés sur *E. senegalensis* (*Fabaceae*) DC. C'est une plante utilisée en médecine traditionnelle africaine dans le traitement du paludisme, des fibromes, de l'aménorrhée, de la douleur, de la fatigue et dans les menaces d'avortement [8, 16, 17].

Le but de la présente étude était de caractériser les effets antiradicalaires et les effets anti-lipooxygénases des extraits d'*Erythrina senegalensis* (*Fabaceae*) DC.

PARTIE I : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

I. GENERALITES SUR LE CANCER

I.1. Epidémiologie du cancer

I.1.1. Incidence et mortalité dans le monde

Le cancer a causé dans le monde environ 13% de la mortalité globale en 2008 [8]. Les principaux types de cancers sont le cancer de poumons (1.4 millions de décès), le cancer de l'estomac (740 000 décès), le cancer du foie (700 000 décès), le cancer colorectal (610 000 décès) et le cancer du sein (460 000 décès).

Plus de 70% des décès par le cancer surviennent dans les pays à faibles revenus ou à revenus moyens. De plus, le problème est en pleine expansion, on estime qu'il faudra compter avec 15 millions de nouveaux cas dans le monde d'ici 2020 et 11 millions de décès en 2030 [8].

Le cancer des poumons est le plus fréquent chez l'homme, 16,5% des nouveaux cas, puis viennent en deuxième et troisième positions les cancers de la prostate (13,6%) et du colon- rectum (10%). Chez la femme, le cancer du sein, avec 22,9% des nouveaux cas, est le plus fréquent suivi des cancers du colon-rectum (9,4%) et du col de l'utérus avec 8,8% des nouveaux cas [8].

On estime à 21,2% le risque de survenue de cancer chez l'homme avant l'âge de 75 ans, contre 16,5% chez la femme [8].

Le cancer est la principale cause de mortalité chez les femmes de 40 à 79 ans et chez les hommes de 60 à 79 ans [18]. La probabilité de décéder de son cancer avant l'âge de 75 ans, est plus élevée chez l'homme (13,4%) que chez la femme (9,1%) [8] [OMS, 2008].

I.1. 2. L'incidence et la mortalité en Afrique

Selon les estimations de l'OMS en 2002, 530 000 nouveaux cas surviennent chaque année en Afrique subsaharienne [18]. Parmi ces cas, 251 000 sont des femmes et 279 000 des hommes. Les incidences standard de l'OMS sont à 136 pour 100 000 chez les hommes, et à 133 pour 100 000 chez les femmes.

Les cancers les fréquemment retrouvés chez les hommes étaient : sarcome de Kaposi (15.9%) ; cancer du foie (13.3%) ; cancer de la prostate (10.7%) ; cancer de l'œsophage 6.0%) ; lymphomes non hodgkiniens (5.8%) ; cancer de l'estomac (4.5%).

Chez les femmes, les cancers les plus retrouvés étaient : cancers cervicaux (25.4%) ; cancer du sein (17.4%) ; sarcome de Kaposi (6.2%) ; cancer du foie (5.5%) ; cancer de l'estomac (3.8%) ; lymphomes non hodgkiniens (3.8%) [4].

Au Burkina Faso, l'OMS [18] estimait en 2005, à environ 8 000 décès par cancer, parmi lesquels 4 700 avaient moins de 70 ans. Chez les femmes en 2005, le cancer du sein était le plus fréquent et a constitué la première cause de mortalité par le cancer. Chez les hommes en 2005, le cancer de prostate était le plus dominant et constituait également la première cause de mortalité par le cancer.

I.1.3. Les facteurs favorisants

Le tabagisme, la consommation d'alcool, la consommation insuffisante de fruits et de légumes et les infections chroniques liées aux virus de l'hépatite B (HBV), de l'hépatite C (HCV) et du papillome humain (HPV) sont les principaux facteurs de risque cancéreux dans les pays à faible revenu ou à revenu intermédiaire [4]. Le tabagisme et la consommation d'alcool sont associés à la genèse de stress oxydatif [19].

A ceux-là, on peut ajouter les facteurs de prédisposition génétique.

I.2. Les mécanismes de carcinogénèse

La transformation d'une cellule normale en une cellule cancéreuse peut résulter de l'interaction entre les gènes d'un sujet et des agents extérieurs. Ces agents peuvent être physiques (le rayonnement ultraviolet et les rayonnements ionisants) des carcinogènes chimiques (l'amiante, les composants de la fumée du tabac, l'aflatoxine, l'arsenic) ou enfin des carcinogènes biologiques (certains virus, bactéries ou parasites).

I.2.1. Le cancer et les gènes

L'altération de cinq (05) catégories de gènes peut être impliquée dans la genèse d'un néoplasme : les oncogènes, les anti-oncogènes, les gènes de répartition de l'ADN, les gènes de biotransformation des carcinogènes, et les gènes de prédisposition à certains cancers [20].

Les oncogènes : Ils sont appelés proto-oncogènes lorsqu'ils sont dans leur état normal et oncogènes lorsqu'ils sont mutés (ou c-onc) [21]. Ce sont les régulateurs positifs de la prolifération cellulaire. Ils codent pour des protéines qui assurent la croissance et la différenciation cellulaire [22] : les facteurs de croissance, les récepteurs des facteurs de croissance (Récepteurs Tyrosines

kinases), les Tyrosine kinases non récepteur, les Serine / thréonine kinases, les protéines G associées aux membranes, les protéines mitochondriales et régulateurs nucléaires du cycle cellulaire (bcl2, Prad1, cycline A ou tat.) et les facteurs de transcription (fos, jun, erba).

Les anti-oncogènes : encore appelés gènes suppresseurs de tumeurs. Ces gènes codent pour des régulateurs négatifs de la prolifération cellulaire (les freins), des protéines stimulant l'apoptose, des gardiens de l'intégrité du génome (p53, ATM) et des protéines contrôlant la répartition de l'ADN (BRCA, p53)

Leur inactivation par la perte de leurs deux allèles actifs se fait par mutation, délétion ou méthylation de leur promoteur qui favorise la prolifération incontrôlée des cellules.

Les gènes de répartition de l'ADN : capables de détecter et de réparer les lésions de l'ADN qui ont modifié les oncogènes ou les gènes suppresseurs de tumeur. Ces systèmes de réparation sont également inactivés dans les cellules cancéreuses.

Les gènes impliqués dans la biotransformation des carcinogènes : La plupart des carcinogènes chimiques sont en fait des procarcinogènes, qui pour devenir actifs, doivent subir dans l'organisme un certain nombre de transformations métaboliques sous la dépendance de systèmes génétiquement contrôlés. Ces transformations se résument généralement en deux étapes : la première dite phase d'activation et réalisée par les cytochromes P450. La seconde (permettant son élimination) est une étape de conjugaison qui se fait sous le contrôle également d'enzymes : sulfotransférases, glucuronyl transférases, et des glutathions transférases. Il existe chez l'homme de fortes variations d'expression des gènes codant pour ces enzymes de détoxification déterminant l'existence de variations dans la susceptibilité individuelle aux carcinogènes.

Les gènes de prédisposition au cancer : Les mutations de ces gènes déterminent une prédisposition à certains cancers et peuvent être transmissibles. Les mieux caractérisés sont les gènes BRCA-2 localisé en 13 p dont les mutations prédisposent au cancer du sein

1.2.2. Les radicaux libres et la carcinogenèse

a. Définition des radicaux libres et du stress oxydatif

Les radicaux libres (RL) sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un électron célibataire (ou électron non apparié). Les radicaux libres sont en majorité des espèces oxygénées d'où l'appellation de « forme ou espèce réactive de l'oxygène ». Les formes réactives de l'oxygène (FRO) sont normalement produites lors des métabolismes aérobiques. Dans les conditions normales, environ 2-5% de l'oxygène (O_2) consommés par les mitochondries sont converties en formes réactives de l'oxygène [23]. Les FRO comprennent trois espèces radicalaires majeures qui sont : l'anion super oxyde ($O_2^{\cdot-}$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), le radical hydroxyl (OH^{\cdot}) le plus agressif et le peroxyde (ROO^{\cdot}) [24]. Cette propriété les rend aptes à réagir avec différentes molécules intracellulaires.

Le stress oxydatif résultera d'un excès provenant d'un défaut de capacité antioxydante, ou d'une production massive par un emballement des mécanismes physiologiques (inflammation) ou d'exposition à des sources exogènes liées à l'environnement : tabac, alcool, médicament rayons gamma ou ultraviolets, herbicides, ozone, amiante, métaux toxiques...

L'homme dispose de systèmes naturels de défense enzymatiques et non enzymatiques contre les FRO. Les principaux systèmes sont [25] :

- ✓ *Les systèmes enzymatiques* : la super oxyde dismutase (SOD) ; la catalase (enzyme héminique), la glutathion peroxydase/réductase, les enzymes à sélénium
- ✓ *Les systèmes non enzymatiques* : le glutathion (GSH) ; le cytochrome c ; le couple vitamine C/vitamine E ; le NADPH ; certains métaux (Sélénium, Zinc, magnésium, cuivre, manganèse) ; certains principes phytochimiques apportés par l'alimentation ou issus de plantes médicinales (flavonoïdes [26], tannins, anthocyanines [27], saponines [28], caroténoïdes [29]).

b. Interaction radicaux libres et ADN

Les acides nucléiques (ADN) constituent les plus importantes cibles des formes réactives de l'oxygène. Les attaques radicalaires de l'ADN peuvent aboutir soit à une oxydation des bases puriques ou pyrimidiques ou soit à une rupture de brin. Les dommages peuvent être aussi des modifications de l'aspect de la chromatine ou la formation des micronucléi [30].

Les radicaux « hydroxyle (OH·) » vont agir et modifier les bases nucléotidiques en donnant des dérivés prémutagènes dont le plus connu est le 8-hydroxyguanine (8-OHdG) [31]. Le brin d'ADN peut se rompre lorsque le désoxyribose interagit avec l'hydroxyle radicalaire [32].

Selon CERUTTI *et al* [33], l'altération de l'expression d'un gène par les radicaux libres passe d'abord par la cassure des brins d'ADN. C'est cette cassure qui entraine l'activation de la Poly(ADPribose) synthétase dont le substrat est le NAD⁺. Celui-ci augmenterait proportionnellement avec les radicaux libres présents dans la cellule. En conséquence, la polyADPriboseylation du matériel chromosomique augmente et modifie ainsi l'expression du gène attaqué.

Lorsqu'il s'agit d'oncogènes, ou d'anti-oncogènes, ou de gènes réparateurs d'ADN ou tous les autres gènes impliqués dans la cancérogénèse, il apparaît un néoplasme.

c. Les antiradicalaires et les cancers

Les antiradicalaires sont des composés qu'on peut trouver dans de nombreuses variétés de fruits et légumes, dans des extraits de plantes. Ils peuvent aussi être d'origine hémisynthétique.

De nombreuses études ont montré que les composés anti-oxydants inhibent de nombreux cancers [34-38].

Dans une étude cas-témoin incluant plus de 250 personnes, Greenwald P *et al* [39] ont montré que la consommation de fruits, légumes et graines inversait le risque de développer un certain nombre de cancers tels que les cancers de la bouche, de l'œsophage, du pharynx, des poumons, de l'estomac, du colon et du rectum.

Smith-Warner SA *et al* [40] ont signalé dans leur étude que la réduction du risque de développer un cancer de sein était souvent associée à la consommation de carottes et de légumes verts riches en caroténoïdes. La réduction du risque de cancer de prostate était associée à la prise régulière de légumes de couleur jaune très riches en caroténoïdes et de tomates qui sont riches en caroténoïdes lycopène [40].

La consommation des légumes du genre *Allium* (oignons, ails) réduirait le risque de cancer de la prostate et des cancers gastrointestinaux [39, 41]. En

effet les espèces du genre *Allium* concentrent des composés anti-oxydants organosulfurés et du sélénium [42].

Le thé vert contient des polyphénols qui ont montré une réduction significative du risque de survenue des cancers du sein et de l'ovaire chez les sujets asiatiques [43, 44].

Les flavonoides sont des composés phytochimiques polyphénoliques qui présentent des propriétés anti-oxydantes [45]. Certains flavonoides telles que la quercétine, la curcumine, le resveratrol et des cathéchines inhibent la carcinogénèse sur des modèles cellulaires et animaux [45, 46].

1.2.3. Les lipooxygénases et le cancer

Les lipooxygénases sont une famille d'enzymes retrouvées dans de nombreux tissus végétaux et animaux. Elles possèdent un fer non-héminique qui leur sert de site catalytique des réactions stéréo et régiospécifiques de dioxygénation des acides gras polyinsaturés qui possèdent un motif 1,4-pentadiène [47]. Chaque enzyme réalisera la dioxygénation sur un atome de carbone à une position précise : 5 ou 8 ou 12 ou 15. En fonction de la position du carbone sur lequel a lieu l'oxygénation, on distinguera les types de lipooxygénases suivants : 5-, 8-, 12-, et 15-lipooxygénases [48].

Les lipooxygénases jouent un grand rôle dans les processus physiologiques : la croissance et le développement des cellules, la cicatrisation des plaies et la sénescence cellulaire [49].

Chez les mammifères les lipooxygénases utilisent l'acide arachidonique comme substrat pour produire les leucotriènes, les lipoxines ou d'autres éicosanoides en particulier l'acide hydroxyéicosatétraénoïque (HETE). Les lipooxygénases et les produits issus du métabolisme de son substrat jouent un rôle significatif dans la survie, la croissance, la migration et l'agressivité des cellules cancéreuses [50].

L'acide arachidonique qui est libéré par la phospholipase A2 des phospholides membranaires est ensuite métabolisé par l'une des deux voies enzymatiques : la voie des cyclooxygénases (COX) et la voie des lipooxygénases pour générer des métabolites actifs impliqués dans la carcinogénèse [47].

Il a été montré l'implication de la 12-lipooxygénase-1 dans le développement des cancers du sein, de la prostate, des cancers colorectaux où elle est fortement surexprimée [13].

En effet, tout d'abord Myers *et al* (1999) [14] ont démontré que lorsqu'on bloque la formation du 5-HETE (métabolite de l'acide arachidonique) par la 12-lipooxygénase dans les cellules cancéreuses de la prostate, celles-ci rentrent en apoptose.

De plus, Kelavkar *et al* (2001) [3] ont pu produire *in vitro* une inhibition (dose-dépendante) de la prolifération des cellules du cancer de la prostate (modèle PC-3) en inhibant la 15-lipooxygénase-1. En outre, les études de Nie *et al* (2001), [15] ont montré que l'inhibition de la 5-lipooxygénase et la 15-lipooxygénase conduit les cellules tumorales en apoptose, réduit aussi leur mobilité et leur invasivité ou enfin inhibe la néo-angiogénèse et la croissance de la tumeur cancéreuse.

I.2.4. La chronologie de la transformation cancéreuse

La formation d'un cancer au sens strict comporte 3 étapes distinctes (figure 1) et nécessairement successives : l'initiation, la promotion tissulaire et la progression.

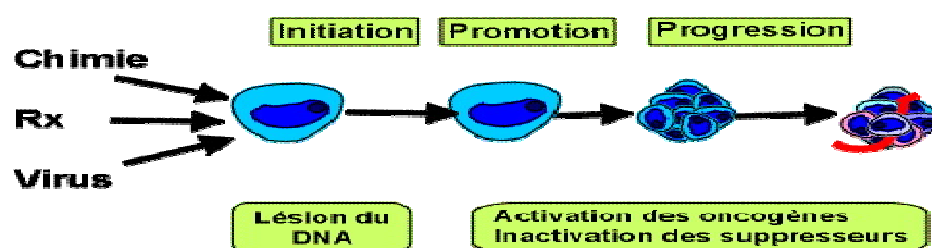


Figure 1 : les étapes de formation du cancer

Source : D'après OUDARD, S (2005, pp5-6) [51]

➤ **L'initiation** est la conséquence de la carcinogénèse. L'action des carcinogènes peut conduire à la mutation de gènes importants dans le maintien de l'intégrité et des caractéristiques de chaque type cellulaire. Il en résulte des pertes ou gains de fonctions cellulaires : activation ou dérégulation d'un oncogène, inhibition ou répression d'un gène suppresseur de tumeur.

➤ **La promotion tissulaire** est caractérisée par une grande instabilité génomique et une augmentation de la perte d'homéostasie. L'instabilité génomique est due à des mutations de deux types de gènes :

✓ **Gate keeper genes** : ils assurent le contrôle du passage d'une étape à une autre du cycle cellulaire, ce sont des « points de contrôle » du cycle cellulaire. Une perte de fonction de ces gènes permet à la cellule cancéreuse de passer rapidement à la phase suivante du cycle cellulaire, donc de proliférer de façon incontrôlée.

✓ **Care taker genes** : ils assurent physiologiquement la réparation des anomalies liées à l'ADN. Leur inactivation entraîne une instabilité accrue et une accumulation d'anomalies génétiques (mutation, perte d'hétérozygotie...).

Ces points de contrôle et de réparation altérés, la cellule cancéreuse perd la capacité à « reconnaître sa vieillesse », à initier sa mort et réparer les dommages de son ADN. La réponse aux signaux de croissance physiologiques est en outre disproportionnée, puis la cellule commence à produire ses propres signaux de prolifération : la croissance incontrôlée d'un pool de cellules n'a alors plus de limite.

➤ **La progression**: Le stroma devient permissif lorsqu'il est le siège d'une néoangiogenèse : il y a une sécrétion par la tumeur de facteurs de croissance angiogéniques (VEGF) dirigés vers le stroma qui répond avec permissivité en faisant apparaître en sa surface des récepteurs aux facteurs angiogéniques (VEGF-R). Dès lors il apparaît des récepteurs tumoraux aux facteurs de croissance cellulaires (boucle autocrine) ou microenvironnementaux (boucle paracrine).

1.2.5. Le contrôle cellulaire de la carcinogénèse

La carcinogénèse s'installe lorsque tous les moyens de réparations de l'ADN endommagé et les voies de contrôle du cycle cellulaire sont défectueux dans la cellule.

Le bon déroulement du cycle cellulaire dépend d'un point de restriction (point R) et de divers points de contrôle en G1, en S, en G2 et en M [52]. Ces points vérifient s'il n'y a pas eu de modifications du patrimoine génétique. Dans le cas où l'information serait modifiée, le point de restriction et les points de contrôle interrompraient le cycle cellulaire (mort cellulaire). En effet, chacun des points est capable d'interrompre le cycle cellulaire : la cellule est autorisée à

poursuivre le cycle si elle ne présente pas d'anomalie de l'ADN [53]. A chaque point de contrôle, la cellule se trouve donc en état de recevoir des signaux lui donnant la permission de poursuivre le cycle cellulaire.

Ces signaux sont des complexes constitués par des facteurs protéiques (les cyclines) et d'enzymes (les kinases dépendant de cyclines (les cdks)) qui sont placées sous le contrôle de deux voies : la voie des MAP kinases et la voie des PI3kinases. Au départ de ces deux voies, on retrouve un récepteur à tyrosine kinase [53].

a. Les points de contrôle

Il existe quatre points de contrôle, un point pour chacune des phases du cycle :

- ✓ **Le point de contrôle en G1** : si une anomalie apparaît au cours de cette phase, en particulier des altérations mêmes légères de l'ADN, le cycle cellulaire est interrompu.
- ✓ **Le point de contrôle de la phase S** : qui évalue la réplication ou la non-réplication de l'ADN.
- ✓ **Le point de contrôle en G2** : qui vérifie l'existence ou l'absence d'altération de l'ADN néoformé.
- ✓ **Le point de contrôle au cours de la mitose** : qui dépend de la formation de la plaque équatoriale et de l'absence d'anomalie de l'ADN. Il permet, si ces deux conditions sont remplies, la poursuite de la mitose c'est-à-dire le passage à l'anaphase.

b. Le rétrocontrôle du cycle cellulaire

Des protéines contrôlent, à posteriori (rétrocontrôle), les événements qui se produisent au cours du cycle cellulaire : en cas de dysfonctionnement du cycle cellulaire, ce rétrocontrôle déclenche la mort de la cellule par apoptose [53].

✓ **La protéine p53 :**

C'est une protéine régulatrice de la prolifération de la plupart des types cellulaires [53]. C'est un facteur de transcription qui, en se fixant sur une séquence spécifique (SST) de l'ADN, active des gènes impliqués dans le déclenchement de l'apoptose ou dans l'arrêt du cycle cellulaire.

Elle s'exprime dans les cellules soumises à un stress (ADN endommagé). En effet, les altérations de l'ADN provoquent une accumulation de la protéine p53. Elle stoppe le cycle cellulaire en phase G1 pour permettre la réparation de l'ADN avant la phase S ou bien induire l'apoptose de la cellule endommagée.

Les mutations du gène codant la p53 prédispose au cancer et en particulier aux cancers du poumon et du sein. L'absence de mécanisme de rétrocontrôle liée à la biosynthèse de p53 accroît le nombre des cancers dus à des altérations génétiques. L'inhibition de la protéine p53 provoque une prolifération cellulaire.

✓ **La protéine p21 :**

La protéine CKI p21 est un médiateur de l'arrêt du cycle cellulaire en phase G1, induit par la protéine p53 en réponse à des altérations de l'ADN. Lorsque l'ADN est endommagé, p21 ralentit la progression du cycle cellulaire en inhibant les complexes cyclines/Cdk et en bloquant la réplication de l'antigène nucléaire de la prolifération cellulaire (PCNA, nécessaire à la synthèse de l'ADN au cours de la phase S) [53]

✓ **La protéine p16 :**

La protéine CKI p16 est un inhibiteur de la kinase Cdk4. Dans 60% des lignées cellulaires provenant des mélanomes malins ou de leucémie et dans 80% des lignées provenant des gliomes, le gène codant p16 est altéré [53].

I.3. Le traitement anticancéreux

La thérapeutique anticancéreuse comporte d'une part des traitements locaux, la chirurgie et / ou la radiothérapie lorsque le néoplasme est bien localisé. D'autre part on utilise les médicaments (chimiothérapie) en cas de maladies métastatiques. A cause du manque de sélectivité de ces médicaments, il apparaît des effets indésirables si bien que de nos jours, les thérapies dites ciblées voient le jour. Ce sont des thérapies qui consistent à diriger de façon sélective la substance médicamenteuse vers la ou les composantes cellulaires à l'origine des dysfonctionnements cancéreux [54].

I.3.1. La classification des médicaments anticancéreux

Plusieurs critères de classification des agents anticancéreux ont été proposés. Nous avons adopté la classification de Espinosa, E. *et al* (2003) [55] basée sur la cible pharmacologique (tableaux I-IV)

a. Les différentes cibles pharmacologiques considérées

Tableau I : les différentes cibles pharmacologiques des agents anticancéreux

Les axes	Cibles	Les éléments ciblés
1. La tumeur	ADN	Non spécifiques : <ul style="list-style-type: none"> - La double hélice - Les protéines liées à l'ADN Spécifiques : <ul style="list-style-type: none"> - Hormones, rétinoïdes - Interféron α - Thérapie génique
	ARN	Oligonucléotides antisens
	Protéines	Récepteurs membranaire <ul style="list-style-type: none"> - Domaine extracellulaire - Domaine intracellulaire Cytoplasme <ul style="list-style-type: none"> - Les voies de transduction - Les tubulines
2. L'endothélium	ADN	
	Protéines	Facteurs angiogéniques : VEGF, FGF-2
3. La matrice extracellulaire	Métalloprotéases, prostaglandines,	
4. Le système immunitaire	Lymphocytes macrophages	
5. Les sites de métastases	Les os	Bisphosphonates, ostéoprotogérines

b. Classification des agents anticancéreux dirigés contre l'ADN tumoral

Tableau II : les différents anticancéreux selon leur mode d'action sur l'ADN

Dommage / groupe chimique	Médicaments	Mode d'action
1. Cassure de brin d'ADN		
Moutard azoté	Cyclophosphamide, ifosfamide, melphalan, chlorambucil	Intercalement
Nitrosourée	BCNU	Intercalement
Triazènes	Dacarbazine, témozolomide	Intercalement
Antibiotiques	Bléomycine, mitomycine	Intercalement
Dérivés de platine	Cisplatine, carboplatine, oxaliplatine	Intercalement

2. Inhibition des protéines liées à l'ADN		
Antibiotiques	Doxorubicine, épirubicine, idarubicine	Inhibition de la topoisomérase II
Podophyllotoxines	Etoposide, téniposide	Inhibition de la topoisomérase II
Camptothécines	Topotécan, irinotécan, rubitécan	Inhibition de la topoisomérase I
Antimétabolites	Antifolates: méthothrexat, triméthexate	Inhibition de la Dihydrofolate réductase (DHFR) et autres enzymes
	Fluoropyrimidines (5FU, ftorafur, capécitabine) ; raltitrexed	Inhibition de la thymidilate synthétase (TS)
	Pemetrexed	Inhibition de la DHFR, TS, et de la glycineamide ribonucléotide formyltransferase (GRFT)
	Cytarabine, fludarabine	Inhibition de l'ADN polymérase et la ribonucléotide réductase (RR)
	Gemcitabine	Inhibition de la ribonucléotide réductase (RR)
	Analogues de l'adénosine : déoxycoformycine, cladribine	Inhibition de l'adénosine déaminase
Autres	Ectéinascidine	Inhibition des facteurs de transcription
3. Modulateurs de gènes spécifiques de l'ADN		
Stéroïdes	Prednisolone, dexaméthasone	Formation d'un complexe (avec leur récepteur spécifique cytosolique) modulateur de transcription de gènes spécifiques d'ADN
	Antioestrogènes : tamoxifène, fulvestrant	Antagonisme des récepteurs de l'œstrogène (facteur de modulation de la séquence régulatrice de transcription)

Antihormones	Antiandrogènes : flutamide, bicalutamide	Antagonisme des récepteurs de l'androgène (facteur de modulation de la séquence régulatrice de transcription)
	Antiaromatase : anastrozole, letrozole,	Inhibition de l'aromatase
	Agoniste LH-RH : gosereline, triptoreline, busereline	
Rétinoides	ATRA, fenretidine, bexarotène	
Interféron α		
Thérapie génique		

c. Classification des médicaments anticancéreux dirigés sur les récepteurs membranaire de la cellule tumorale

Tableau III : les agents anticancéreux ciblant les récepteurs membranaire de la cellule tumorale

Cibles	Médicaments	Mode d'action
1. Le domaine extracellulaire des récepteurs membranaires		
CD20	Rituximab	Anticorps monoclonaux anti-CD20
CD20	Ibritumomab β -I ; Tositumomab-I	Anticorps monoclonaux anti-CD20
CD52	Alemtuzumab	Anticorps monoclonaux anti-CD52
Her-2	Trastuzumab	Anticorps monoclonaux anti-Her-2
EGFR (Her-1)	Cetuximab	Anticorps monoclonaux anti-EGFR (Her-1)
2. Le domaine intracellulaire des récepteurs membranaires		
EGFR (tyrosine kinase)	ZD-1839 (gefitinib)	Petite molécule inhibitrice des récepteurs tyrosine kinase EGFR
EGFR (tyrosine kinase)	OSI-774 (erlotinib)	Petite molécule inhibitrice des récepteurs tyrosine kinase EGFR
EGFR (tyrosine kinase) et Her-2	PKI-166	Petite molécule inhibitrice des récepteurs tyrosine kinase EGFR et Her-2
Her (quelque soit le type)	CI-1033	Petite molécule inhibitrice de la tyrosine kinase des récepteurs Her

d. Classification des médicaments agissant au niveau du cytoplasme de la cellule cancéreuse

Tableau IV : les agents anticancéreux agissant à l'intérieur du cytoplasme de la cellule tumorale

Cibles	Médicaments	Mode d'action
1. Les inhibiteurs des voies de transduction dans la cellule tumorale		
Tyrosine kinase de bcr / abl et c-kit	Imatinib	Inhibition de la Tyrosine kinase de bcr / abl et c-kit
Ras		
Ras	Lonafarnib	Ras mimétique
Ras farnesyl transférase	BMS-214662	Inhibition de la farnesyl transférase
MEK	CI-1040	Inhibition de MEK
Phosphatidyl-inositol and PKC		
mTOR	CI-779	Inhibition de mTOR
Protéine kinase C	Bryostatine, PKC-412	Inhibition de la protéine kinase C
Protéasome / Chapérone		
Protéasome	PS-341	Inhibition de protéasome
HSP90	17-AAG (ansamycine)	Stimulation de la dégradation de HSP90
Cycline dependent kinases (Cdk)		
Cdk (indifférenciés)	Flavopiridol, CYC202	Inhibition non sélective des Cdk
Cdk-2	UCN-01	Inhibition sélective des Cdk-2
2. Les inhibiteurs des tubulines		
Microtubules	Vinca alcaloïdes : vincristine, vinblastine, vindesine, vinorelbine	Inhibition de la polymérisation des microtubules
Microtubules	Taxanes : paclitaxel, docétaxel, BMS-275183	Stabilisation des microtubules (inhibition de la dépolymérisation)
Microtubules	Epithilones : BMS-257000, BMS-310705, EPO-906	

e. Classification des médicaments ciblant l'endothélium et la matrice extracellulaire

Tableau V : les agents anticancéreux agissant au niveau de l'endothélium et de la matrice extracellulaire

Cibles	Médicaments	Mode d'action
1. Les facteurs de croissance endothéliale		
VEGF, b-FGF, TGF α	Thalidomide	Inhibition des facteurs de croissance
Synthèse de VEGF	Carboxiamide-triazol (CAI)	Inhibition de la synthèse du VEGF
COX-2	Coxibs	Inhibition de la COX-2
2. Récepteurs des cellules endothéliales		
Récepteurs au VEGF (VEGFR)	Bevacizumab,	Antagonistes des VEGFR
Tyrosine kinase du récepteur VEGFR	SU-5416, SU-6668, Endostatine	Inhibition de la tyrosine kinase du VEGFR
3. Matrice extracellulaire		
Métalloprotéinases	Marimastat, AG-3340 (prinomastat), AE-941 (néovastat)	Inhibition des métalloprotéinases
Intégrines	Vitaxine	Anti intégrines
Thrombospondines	ABT-510	Thrombospondines mimétiques

I.3.2. Les agents anticancéreux d'origine végétale

a. Les alcaloïdes de la pervenche

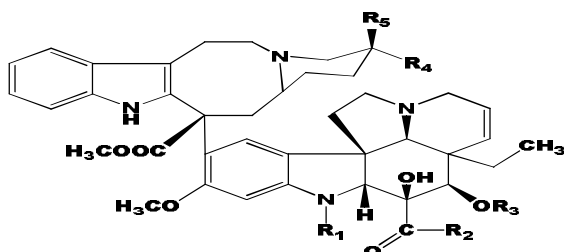
Plusieurs de ces alcaloïdes sont doués de propriété cytostatique. Ce sont en particulier la vincristine et la vinblastine.

➤ Source

La vinblastine et la vincristine sont deux alcaloïdes extraits des parties aériennes d'une plante originaire de Madagascar, le *Catharanthus roseus* (L) G.Don f. (Apocynaceae) encore appelé *Vinca rosea* L. ou la pervenche de Madagascar [5]

➤ Structure

Ces deux alcaloïdes sont constitués d'une molécule dihydro-indolique de type « aspidospermane » et d'une molécule indolique. Ils diffèrent par la nature du substituant sur l'azote de la partie dihydroindolique : formyle (vincristine) ou méthyle (vinblastine) .



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

Figure 2 : structures d'alcaloïdes de la pervenche de Madagascar

➤ Dérivés hémisynthétiques

✓ Vindésine

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

✓ Vinorelbine = 5'-noranhydrovinblastine

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

➤ Action pharmacologique

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

b. Les taxanes : paclitaxel et docétaxel

➤ Source

Le paclitaxel a été initialement extrait en faible quantité (0,01%) des écorces de tronc d'if du pacifique (*Taxus brevifolia* Nutt.) (Taxaceae) [5].

Une autre voie d'accès au taxol consiste à le préparer, par hémisynthèse, à partir d'analogues structuraux comme la 10-désacétylbaccatine III. Ce diterpène est largement présent dans les feuilles de l'if d'Europe, *T. baccata* ou encore celle de différents cultivars d'autres espèces [5].

➤ Structure

Le paclitaxel est un diterpène tricyclique à noyau taxane.

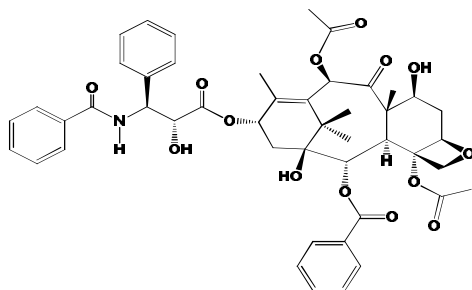


Figure 3 : Structure du paclitaxel

➤ Dérivés hémisynthétiques

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

➤ Action pharmacologique

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

c. Les dérivés de podophyllotoxines

➤ Source

Podophyllum peltatum L et *Podophyllum emodii* Wallich (Podophyllaceae) sont des plantes dont les extraits ont longtemps été utilisés par les indiens d'Amérique dans le traitement des cancers de la peau [56].

Le principal composé, la podophyllotoxine fut isolée dès 1880 mais sa structure n'a été élucidée qu'en 1950 [56]

➤ Structure des dérivés de *Podophyllum*

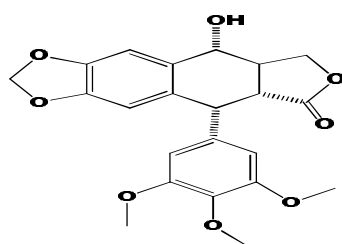


Figure 4: Structure de la podophyllotoxine

➤ Dérivés hémi-synthétiques

Les deux composés actifs introduits en thérapeutique anticancéreuses, Etoposide (VM 26) et Teniposide (VP 16-213) sont des dérivés hémi-synthétiques du produit naturel, épipodophyllotoxine (un isomère de la podophyllotoxine). Les autres dérivés ont été abandonnés à cause de leurs effets indésirables trop insupportables.

➤ Action pharmacologique

De nombreuses recherches ont permis de mettre au point l'étoposide et le téniposide qui sont utilisés en thérapeutique. Ils sont indiqués dans le traitement des lymphomes, des cancers bronchiques et de testicules [57].

Ils agissent par inhibition des topo-isomérases II, enzymes qui modifient le degré d'enroulement de l'ADN en induisant des cassures transitoires et parfaitement régulées afin d'assurer la réplication de l'ADN. Par conséquent, les dérivés de podophyllum agissent indirectement sur l'ADN en bloquant les enzymes impliquées dans la synthèse ou la réplication de l'ADN. L'inhibition de ces enzymes empêche la réparation des cassures, provoquant un arrêt du cycle cellulaire pouvant conduire à une mort cellulaire programmée de type apoptotique [58].

d. La camptothécine et ses dérivés : topotécan et irinotécan

➤ Source :

Ces composés ont été isolés d'une plante ornementale retrouvée en Chine et en Tibet, *Camptotheca acuminata* Decne (Nyssaceae) [59]. Le premier composé est la Camptothécine (sel sodique) a été introduite en clinique par l'Institut National du Cancer (USA) en 1970, puis abandonné à cause de sa toxicité rénale [57].

➤ Structure

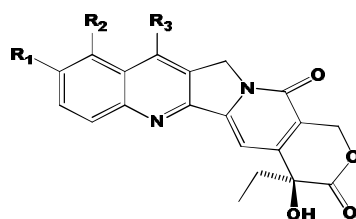


Figure 5: Structure de la Camptothécine (R₁=R₂=R₃ = H)

➤ Dérivés hémi-synthétiques

La camptothécine est le principal composé. C'est un alcaloïde quinoline dont l'effet antitumoral a été découvert en 1958 [57]. Afin de réduire sa toxicité rénale, la camptothécine a fait l'objet de nombreuses pharmacomodulations. Ceci a abouti des dérivés moins toxiques, Topotécan (Hycamptin) et Irinotécan (CPT-11 ; Camptosar) introduite en thérapeutique en 1970 puis égal.

➤ Action pharmacologique

Topotecane est utilisé dans le traitement des cancers de l'ovaire, des poumons (cancer à petites cellules) alors que irinotécan est indiqué dans le traitement de cancer colorectal.

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

e. Autres agents anticancéreux d'origine végétale

D'autres agents anticancéreux dérivés de plantes utilisés en thérapeutique sont :

➤ L'homoharringtonine

Elle a été isolée d'une plante chinoise, *Cephalotaxus harringtonia* var. *drupacea* (Sieb and Zucc.) (Cephalotaxaceae) [60]

Un mélange racémique d'harringtonine et d'homoharringtonine (HHT) a été utilisé avec succès en Chine dans le traitement de leucémies myéloïde (aigu et chronique).

Purifiée la HHT s'est montrée efficace sur les leucémies, mêmes celles qui sont résistantes au traitement standard [60]

➤ Elliptinium,

Un dérivé d'ellipticine, isolée de nombreuses espèces de genres d'Apocynaceae dont *Bleekeria vitensis* A.C. Sm., une plante médicinale réputée posséder des propriétés anticancéreuses [60].

Elliptinium est commercialisé en France et indiquée dans le traitement du cancer de sein [60].

II. Données bibliographiques sur *Erythrina senegalensis* DC

II.1. Dénominations locales :

Nom vulgaire français : Arbre à corail, érythrine du Sénégal

Noms vernaculaires :

- ✓ **Mooré** : Kulin-tiiga
- ✓ **Bambara** : Béru, ntenbileni
- ✓ **Peulh** : Mototay

Nom scientifique (botanique) : *Erythrina senegalensis* DC

II.2. Classification de la plante d'étude

La plante *Erythrina senegalensis* DC (*Fabaceae*) fait partie de :

Embranchement : Spermaphytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Ordre : Leguminosales

Famille : Leguminosae

Sous famille : Fabaceae (Papilionaceae)

Genre : *Erythrina*

Espèce : *senegalensis*

II.3. Description botanique de la plante d'étude

Erythrina senegalensis DC (*Fabaceae*) un arbuste épineux (**Photo 3**) de 6 à 7 m de hauteur, à cime irrégulière avec une écorce épaisse (**Photo 1**), claire liégeuse et crevassée [8].

Les feuilles (photo 6) sont trilobées alternes avec des pétioles épineux légèrement cannelés par-dessus. Les courtes épines sont dispersées sur les rameaux [8].

Les fleurs en longs racèmes terminaux s'épanouissent avant ou au début de la feuillaison. La corolle est longue, écarlate, vive, soudée et à peine ouverte [8].

Les fruits sont en gousse monoliforme (portant un long acumen) à parois minces fortement incurvées ou enroulées. Les graines ovoïdes sont visibles de l'extérieur, rouges vif, lisses et brillantes [61].

La pollinisation se fait par les oiseaux et la multiplication par boutures et graines.

II.4 Habitat :

Le genre *Erythrina* de la famille des Leguminosae comprend plus de 110 espèces d'arbustres et d'herbacées très répandues dans les régions tropicales et intertropicales [62].

En Afrique occidentale Il est disséminé dans les savanes boisées ou arbustives, en zone soudanienne ou soudano-guinéenne [63]. Il est également rependu en Afrique centrale (Cameroun, Tchad, Centre-Afrique) [63].



Figure 6: *Erythrina senegalensis* DC (Fabaceae)

Photo 1: écorce de tronc;

Photo 2 : jeunes feuilles

Photo 3 : plante entière

II.5. Données ethnopharmacologiques

Erythrina senegalensis DC (*Fabaceae*) est une plante ornementale et l'une des plus vieilles plantes médicinales largement utilisées par les populations de l'Afrique de l'Ouest [64].

Toutes les parties de la plante à savoir les écorces, les racines, les feuilles, les fleurs et les graines sont utilisées dans le traitement de nombreuses maladies par les tradipraticiens de santé en Afrique. Cependant les méthodes d'utilisation diffèrent d'une contrée à une autre.

Au Burkina Faso [8], les extraits d'écorces et de racines sont employés dans le traitement de la douleur, de l'hématurie, du rhumatisme, de la jaunisse, du paludisme, et de la dysenterie. Les mêmes extraits sont recommandés en cas de menace d'avortement, en cas de stérilité féminine, en cas d'aménorrhée et en cas de vomissement. Les extraits de racines sont utilisés en cas d'asthénie et de sénescence. Les extraits de Feuilles et de fleurs sont indiqués dans le traitement des affections buccales (gingivites, stomatites), dans les vomissements de sang, dans les hémorroïdes, et dans le traitement des dermatoses. On les emploie enfin comme astringent, antiseptique et cicatrisant. Le bois est utilisé comme frotte-dent et aphrodisiaque.

Au Mali [16], les extraits d'*Erythrina senegalensis* font partie des recettes traditionnelles utilisées contre le paludisme et l'ictère (écorces et feuilles), contre les douleurs abdominales (écorces en décoction), contre les aménorrhées (racines), et contre les dermatoses.

Au Nigéria [65], les macéré aqueux d'écorces de tronc sont utilisés dans le traitement de la jaunisse et de nombreuses maladies vénériennes. Le décocté d'écorces est indiqué dans le traitement des infections bronchiques, de la toux et des inflammations. La poudre d'écorce et de feuille est prise avec de la soupe pour traiter la stérilité féminine et les fibromes.

II.6. Données phytochimiques et pharmacologiques établies

Dans la littérature, de nombreux composés chimiques isolés des extraits d'*Erythrina senegalensis* ont montré diverses activités biologiques. Il s'agit d'alcaloïdes, de ptérocarpans, de flavonoides.

II.6.1. les composés antimicrobiaux, antiviraux et antiparasitaires

La 2,3 dihydroauriculatine isolée d'*Erythrina senegalensis* par l'équipe de Taylor [66] a montré une activité modérée sur *Streptococcus mutans*, *prophyromonas gingivalis* et *actinomyces actinomycetemcomitans* [67].

L'Erybraedine A est une isoflavonoïde issue de nombreuses espèces d'*Erythrina* dont *E. senegalensis*. C'est un composé bactériostatique puissant sur les souches d'entérocoques résistants à la vancomycine et même sur les souches de *S. aureus* multirésistantes [68].

La 6,8-Diprenylgenisteine. OH W.K LEE *et al* (1999) [69] a isolé des écorces de tige cette isoflavonoïde qui s'est révélée active à moins de 200µg/mL sur 36 souches différentes de *S. aureus*, 29 souches de *Shigella spp* et 27 souches différentes de *Salmonellae spp*. Des souches de *Pseudomonas spp* et de *Kliebsiella spp* ont également montré une sensibilité modérée à ce composé.

La senegalenseine (ou Lonchocarpol A). Le composé a également été isolé des écorces de tiges par FOMUM *et al.* (1987) [70] et a opposé une activité inhibitrice au VIH avec une *IC50* de 2,7µg/mL [71]. La senegalenseine a aussi présenté une puissante activité (CMI de 0,78 – 1.56µg/mL) contre le *S. aureus* méthi-R et contre l'*Enterococcus faecium* résistant à la vancomycine [72].

L'Alpinumisoflavone. Il a été isolé des extraits méthanoliques d'écorces de tige [69]. Le composé mis en contact 2 à 24 heures sur la peau d'une souris prévient l'infection à *Schistosoma mansoni*. Il a immobilisé les miracidia et les cercaires *S. mansoni*. Il a inhibé les œufs produits et éliminé tous les *S.mansoni* adultes à une concentration de 50µg/mL après 24heures d'exposition.

II.6.2. les composés cytotoxiques

L'Alpinumisoflavone est connu comme possédant une puissante activité cytotoxique contre les cancers solides de l'homme (cellules KB). L'Erysenegalenséine E, un autre composé isolé des écorces de tige d'*Erythrina senegalensis* par l'équipe de Wandji (1994) [73] a présenté un certain degré de toxicité [74].

L'Erythrisenegalone et la senegalenséine, deux prenylflavones tous isolés des écorces de tige d'*E. senegalensis* [70] aux doses de 1×10^3 mol ont montré

des activités anti-tumorales totales (100% d'inhibition) sur le modèle expérimental des virus Epstein-Barr (virus reconnu jouant un rôle majeur dans la phase de promotion de la cancérogénèse).

L'Alpinumisoflavone et le derrone (le plus récent des composés issus des extraits méthanoliques des écorces d'*E. senegalensis*) ont montré un effet antiprolifératif modéré à l'égard des cellules U937 (leucémie humaine) [75].

II.6.3. les composés ayant d'autres activités

HAN XH *et al.* (2005) [76] ont montré dans une étude que l'Alpinumisoflavone inhibait de façon doses-dépendantes l'activité de la monoamine oxydase cérébrale chez la souris.

L'Erysodine, un alcaloïde isolé des extraits méthanoliques des graines d'*Erythrina senegalensis* [77] s'est révélé un inhibiteur potentiel des récepteurs nicotiniques neuronaux.

Erytrinasinate, un ester isolé des extraits hexaniques d'écorces de tige d'*E. senegalensis* [70] a montré une faible activité de piégeage de la peroxy-nitrite [78].

II.7. Données toxicologiques

Les données toxicologiques retrouvées dans la littérature concernaient les extraits chloroformiques des écorces de tige d'*Erythrina senegalensis* DC. Il s'agissait de données de toxicités aiguë et chroniques étudiées *in vivo et in vitro*.

La dose létale 50% (DL50) en intrapéritonéale (i.p) a été estimée à 526mg/kg (212–744 mg/kg) avec un toxidrome comportant successivement une augmentation de la fréquence respiratoire, une perte d'appétit et une dyspnée [79].

Les études de toxicité chronique ont révélé des altérations de niveau de marqueurs biochimiques d'hépatotoxicité (hépatomégalie) et de cardiotoxicité (cardiomodulation) : élévation des activités des enzymes telles que l'alanine aminotransférase, l'aspartate aminotransférase, et la phosphatase alcaline. Aux doses réitérées de dose de 1.0 g d'extrait/kg, l'auteur a observé une chute du nombre des globules rouges et leurs volumes moyens [79].

PARTIE II : NOTRE ETUDE

I. Objectifs de l'étude

I.1. Objectif général

Caractériser les effets antiradicalaires et anti-lipooxygénase des extraits de feuilles, de racines et d'écorces de tronc d'*Erythrina senegalensis* (Fabaceae) DC.

I.2. Objectifs spécifiques:

- ✓ Préparer les extraits par épuisement successif des feuilles, des racines et d'écorces de tige à l'aide de solvants de polarité croissante.
- ✓ Caractériser les groupes phytochimiques présents dans les extraits
- ✓ Mettre en évidence *in vitro* les effets antioxydants des extraits.
- ✓ Mettre en évidence *in vitro* les effets anti-lipooxygénases des extraits

II. METHODOLOGIE

II.1. Cadre de l'étude

II.1.1. Le CERBA

Nous avons mené les extractions et les tests pharmacologiques (antiradicalaire et anti-lipooxygénase) au **Centre de Recherche Biomoléculaire Pietro Annigoni (CERBA)**.

Le CERBA a été créé en 1996 par la délégation Camillienne du Burkina Faso. Le centre est dirigé par le Professeur Jacques SIMPORE, professeur titulaire de Génétique et de Biologie Moléculaire à l'Université de Ouagadougou.

Le CERBA a pour objectif la formation et la promotion de jeunes chercheurs en leur offrant un plateau technique approprié pour accomplir leurs travaux de recherche.

Les axes de recherche du CERBA sont :

La recherche fondamentale et les sciences du génome. Le CERBA se penche sur des pathologies génétiques telles que les hémoglobinopathies (drépanocytose), l'ostéoporose, la déficience en glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD). Il s'intéresse également aux gènes qui gouvernent le métabolisme de l'homocystéine (MTHFR, la cystathionine bêta synthétase...), les marqueurs de résistances géniques (la résistance des bactéries aux antibiotiques et du VIH aux ARV). Le centre intervient aussi dans le diagnostic moléculaire des pathologies émergentes (la caractérisation du VIH1, du HPV, du VHC et la recherche de vaccin)

La recherche clinique. Le CERBA effectue le suivi biologique et clinique des personnes vivant avec le VIH. L'aspect le plus développé est la prévention de la transmission mère-enfant (PTME) du VIH et des autres virus tels que VHB, VHC et HHV8. De plus, le CERBA développe avec le Centre Médical Saint-Camille la phytothérapie du VIH et des expérimentations pharmacocliniques.

La mise en valeur de la médecine traditionnelle et identification des composés actifs des produits naturels. Le CERBA travaille sur les recettes traditionnelles fournies par les tradipraticiens de la place. En effet, l'équipe recueille des recettes, les teste pour leur innocuité et leur activité biologique. Enfin, l'équipe se charge du suivi biologique et clinique des patients qui sont sous traitement. Les principaux essais biologiques réalisés dans le

centre sont : les activités antiprolifératives sur les cellules cancéreuses (PC-3, MCF-7, U373, A549 et LoVo) ; les activités antibactériennes et antifongiques ; les activités antiplasmodiales ; les tests anthelminthiques ; les activités anti-inflammatoires...

II.1.2. L'IRSS / MEPHATRA-Pharmacie

La caractérisation (réactions colorées et CCM) des groupes chimiques contenus dans les extraits a été réalisée à l'Institut de Recherche en Sciences de la Santé (IRSS) à Ouagadougou.

L'IRSS est une structure spécialisée du Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique (CNRST) qui est chargé de coordonner les programmes nationaux de recherche en matière de santé au Burkina Faso. L'I.R.S.S comprend deux Départements de recherche dont le Département Médecine – Pharmacopée Traditionnelles et Pharmacie (MEPHATRA/PH) chargé de développer la recherche en matière de médecine et de pharmacopée traditionnelles et en pharmacie.

Le Département MEPHATRA/PH dirigé par le Professeur Innocent Pierre GUISSOU, professeur titulaire de pharmacologie et toxicologie, a pour missions entre autres de :

- ✓ mener des recherches sur la Médecine et la Pharmacopée Traditionnelle ;
- ✓ valoriser les données de la pharmacopée traditionnelle en vue de développer des phytomédicaments
- ✓ valoriser et diffuser les résultats de la recherche.

Nos travaux ont été réalisés dans le Laboratoire de Chimie.

II.2. Matériel de l'étude

II.2.1. le matériel végétal

Les feuilles, les écorces de tronc et les racines entières ***d'Erythrina senegalensis* Dc (Fabaceae)** ont constitué les drogues végétales de l'étude. Les drogues végétales ont été récoltées en juin 2009 à Kougpaka, un village (de Saponé) situé à 70km de Ouagadougou (Burkina Faso) après localisation GPS de la plante (30P0641573 UTM132 7922).

Un spécimen, après authentification par un expert botaniste (Dr. GANABA Souleymane, Centre National de la Recherche Scientifique et Technologiques) a

été enregistré sous le n°8709 au niveau de l'Herbier National du Burkina (HNBU).

Dès lors, les drogues végétales récoltés ont été séchées à l'air libre et à l'abri du soleil pendant dix (10) jours. Elles ont ensuite été réduites en une poudre grossière à l'aide d'un mortier et d'un pilon.

II.2.2. le matériel pour l'extraction et la caractérisation phytochimique

a. Matériels de laboratoire

- la verrerie de laboratoire
- un percolateur
- un évaporateur rotatif ROTAVAPOR BUCHI® RE 11 couplé à une pompe à vide.
- une hotte à flux laminaire avec lampe ultra-violet LN 120 nüve
- un spectrophotomètre UV-Visible de marque Biotek
- un bain marie de marque Nüve
- des cuvettes en quartz et en plastique
- des tubes en polypropylène à fond conique de 15mL et 50mL Falcon
- des micropipettes automatiques de marque Eppendorf
- des rabs, des tips
- une balance analytique Sartorius (sensibilité 1/10.000g ; portée max 220g)
- des chromatoplaques (support : verre ; adsorbant : gel de silice 60F 254)
- une lampe ultra - violet (254 et 366nm)

b. Solvants d'extraction

- Ether de pétrole
- Dichlorométhane
- Chloroforme
- Acétate d'éthyle
- Méthanol
- Eau

c. Solvants et réactifs de caractérisation

c.1. Systèmes de solvants d'analyse pour la CCM

- **Système S1** : éthyle acétate/acide formique/acide acétique glacial / eau : (100 : 11 : 11 : 26 v/v)
- **Système S2** : n-hexane/ Toluène/ acétate d'éthyle: (3 : 1 : 1 v/v)
- **Système S3** : n-butanol/eau/acide acétique glacial : (2 : 1 : 1 v/v)
- **Système S4** : acétate d'éthyle/ Méthanol/ eau : (10 : 5: 9 v/v)

c. 2. Réactifs de caractérisation

- solution d'anhydride acétique
- réactif de Meyer (cf. Annexe)
- réactif de Dragendorff (cf. Annexe)
- solution d'acide sulfurique (H₂SO₄) concentrée
- réactif de Shibatat (cf. Annexe)
- ammoniacque 20% et 10%
- acide sulfurique (H₂SO₄) concentré
- acide chlorhydrique (HCl) concentré et 2%
- solution de chlorure ferrique à 1% et 2%
- tournure de magnésium
- Anisaldéhyde sulfurique (cf. Annexe)
- éthanol 50%

III.2.3. Matériels pour les études pharmacologiques

a. Solvants et réactifs du test anti-oxydant

- 1-1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH)
- Quercetine
- Méthanol
- DMSO

b. Solvants et réactifs du test anti-lipoxygénase

- **Tampon Borate** : 0,2 M, pH 9,0
- **Solution de substrat**: l'acide linoléique (250μM)
- **Solution d'Enzyme** : la lipoxygénase (EC 1.13.11.12) de type I-B (extraite du soja) (200 U/mL) dans du Tampon borate.

II.3. Méthode d'étude

II.3.1. La méthode d'extraction

La méthode d'extraction appliquée a été un épuisement successif qui consistait à extraire les substances chimiques d'un extrait par des solvants de polarité croissante.

Trois cents grammes (300g) de poudre végétale ont été initialement dégraissés (étape permettant d'éliminer les matières grasses et les substances lipophiles) avec de l'éther de pétrole, séchée et épuisée successivement avec du Dichlorométhane, de l'acétate d'éthyle, du méthanol et de l'eau.

Les poudres végétales étaient préalablement mouillées avec le solvant puis laissées en contact pendant deux (2) heures en vase clos afin d'obtenir une répartition complète du liquide au sein de la poudre de drogue.

Les poudres de drogues végétales humectées ont été ensuite tassées uniformément dans un percolateur de 2000 mL et percolé successivement par addition de Dichlorométhane, de l'acétate d'éthyle, du méthanol et de l'eau. L'épuisement des drogues par un solvant se faisait jusqu'à limpidité du percolât

II.3.2. Méthode de détermination du taux d'humidité résiduelle de la drogue et des rendements d'extraction

a. Détermination du taux d'humidité résiduelle (THR)

Une prise d'essai d'un (1) gramme (P_o) d'extrait est placée à l'étuve pendant 1 heure 30 minutes à 110°C. Cette prise d'essai est refroidie dans un dessiccateur pendant 15 minutes et on la pèse à nouveau (P).

$$\text{THR} = [(P_o - P) / P_o] \times 100$$

b. Détermination des rendements des extractions

Extraction au percolateur par le Dichlorométhane. La poudre végétale dégraissée, séchée a été pesée (M). Après un épuisement complet (limpidité du percolât) de la dite poudre, l'extrait sec obtenu au rotavapor a été également pesé (m).

Extraction au percolateur par l'acétate d'éthyle.

Le marc résiduel de l'extraction au Dichlorométhane séché et pesé (M) a été repris et épuisé complètement par un volume suffisant d'acétate d'éthyle au percolateur. L'extrait sec obtenu au rotavapor a été également pesé (m).

Extraction au percolateur par le méthanol

Le marc résiduel de l'extraction à l'acétate d'éthyle séché et pesé (M) a été repris et épuisé complètement par un volume suffisant méthanol au percolateur. L'extrait sec obtenu au rotavapor a été également pesé (m).

Extraction au percolateur par l'eau distillée

Le marc résiduel de l'extraction au méthanol séché et pesé (M) a été repris et épuisé complètement par un volume suffisant d'eau distillée au percolateur. L'extrait sec obtenu au rotavapor a été également pesé (m).

Le rendement de l'extraction $r(\%)$ est donné par la formule :

$$r = [m / M] \times 100$$

M = masse de poudre végétale (prise d'essai) ; m = masse du résidu sec (extrait sec obtenu)

II.3.3. La méthode des caractérisations phytochimiques

a. Les réactions en tubes

Les méthodes décrites par CIULEI *et al.* en 1982 [80] ont été utilisées avec des légères modifications. Ce sont des méthodes qualitatives permettant de caractériser les groupes chimiques présents dans la plante. Ces méthodes comportaient les tests de caractérisation chimique suivants :

- le test de *Shibata* pour l'identification des flavonoïdes ;
- la réaction de *Borntrager* pour l'identification des anthracénosides ;
- le test de *liebermann-Burchard* pour l'identification des aglycones triterpéniques et stéroïdiques ;
- le test de *Dragendorff* et de *Mayer* pour l'identification des alcaloïdes (bases et sels) ;
- la réaction de *Carr et Price* pour l'identification des caroténoïdes ;
- la réaction de *Keedee* pour l'identification des hétérosides cardiotoniques ;
- les réactions d'identification des coumarines, des glucides, des anthocyanosides, des saponosides et des polyphénols (tanins).

a1. Caractérisation des composés apolaires

Caractérisation des caroténoïdes

La réaction de Carr-Price a été utilisée :

2 mL de l'extrait au dichlorométhane (CH_2Cl_2) concentré ont été évaporés à sec dans une capsule en porcelaine et 2 à 3 gouttes d'une solution saturée de trichlorure d'antimoine dans du chloroforme (SbCl_3) ont été ajoutées au résidu. La réaction est positive lorsque les pigments virent du bleu au rouge.

Caractérisation des aglycones triterpéniques et stéroïdiques

La réaction de Liebermann-Burchard a été utilisée :

5 mL de l'extrait au CH_2Cl_2 concentré ont été évaporés à sec dans un tube à hémolyse placé dans un bain-marie chaud. Le résidu a été dissout dans 0,25 mL d'anhydride acétique et 0,25 mL de CH_2Cl_2 . La solution a été transférée dans un tube à essai et 1 mL d'acide sulfurique (H_2SO_4) concentré a été ajouté au sommet du liquide.

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

Caractérisation des alcaloïdes bases

Les tests de Dragendorff et de Mayer ont été utilisés :

4 mL de l'extrait au CH_2Cl_2 concentré ont été évaporés à sec dans un tube à hémolyse. Le résidu a été dissous dans 2 mL d'acide chlorhydrique (HCl) 2%. La solution a été filtrée sur coton et le filtrat est utilisé pour faire réagir les réactifs de Dragendorff et de Mayer.

- Le développement d'un précipité rouge orangé en présence du réactif de Dragendorff justifie la présence de composés aminés dans l'extrait.
- L'apparition d'un précipité jaune blanchâtre ou d'une opalescence en présence du réactif de Mayer témoigne de la présence des alcaloïdes bases dans l'extrait.

Caractérisation des aglycones flavoniques

La réaction de Shibata ou Test à la cyanidine a été utilisée :

5 mL de l'extrait au CH_2Cl_2 concentré ont été évaporés à sec dans un tube à essai et le résidu a été dissous dans 2 mL d'éthanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) 50%. La solution obtenue a été légèrement chauffée dans un bain-marie chaud. Des fragments de tournure de magnésium ont été ajoutés à la solution et 3-4 gouttes d' HCl concentré y sont ajoutées. La solution est laissée barbotée dans le bain-marie.

L'apparition d'une coloration rouge (flavonols) ou orange (flavanones) indique la présence d'aglycones flavoniques.

Caractérisation des émodols

La réaction de Bornsträger a été utilisée :

1 mL d'ammoniaque 25% a été ajouté à 1 mL d'extrait au dichlorométhane concentré. La solution a été agitée et laisser reposer 5 minutes.

L'apparition d'une coloration rouge témoigne de la présence des émodols.

Caractérisation des coumarines

2 mL de l'extrait au CH₂Cl₂ concentré ont été évaporés à sec et le résidu a été dissous dans 2 mL d'eau distillée chaude. Après refroidissement, 0,5 mL d'ammoniaque 10% ont été ajoutés suivi d'une observation sous la lampe ULTRAVIOLET ($\lambda = 254 \text{ nm}$ et $\lambda = 366 \text{ nm}$).

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

a. 2. Caractérisation des composés moyennement polaires

Caractérisation des glycosides stéroïdiques

La réaction de Liebermann-Burchard a été réalisée à partir de l'hydrolysât d'extrait de partie de la plante.

Caractérisation des alcaloïdes sels

10 mL de la phase aqueuse de l'hydrolysât ont été basifiés par de l'ammoniaque

25% ($8 \leq \text{pH} \leq 9$) et extraits par 2×5 mL de CH₂Cl₂.

La phase organique a été évaporée à sec et 1 mL de HCl 2% a été ajouté au résidu.

Les tests de Dragendorff et de Mayer ont été appliqués à la solution acide résiduelle.

Caractérisation des flavonosides

La réaction de Shibata a été appliquée en utilisant l'hydrolysât de l'extrait Méthanolique de chaque partie de la plante.

Caractérisation des aglycones anthracéniques

La réaction de Bornsträger a été réalisée avec l'hydrolysât des différents extraits.

L'apparition d'une coloration rouge signe la présence de dérivés d'anthraquinones libres ou oxydés.

Caractérisation des dérivés coumariniques

La phase hydrolysée a servi à l'identification des dérivés coumariniques après observation aux UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$ et $\lambda = 366 \text{ nm}$).

Caractérisation des anthocyanosides

La phase aqueuse de l'hydrolysate a été utilisée :

1-2 grains de pastilles de soude ont été ajoutés à 1 mL d'extrait et l'apparition d'une coloration bleue indique la présence des anthocyanes dans l'extrait.

Caractérisation des hétérosides cardiotoniques

La réaction de Kedde a été utilisée :

1 mL de l'hydrolysate a été évaporé à sec et dissous dans 1 mL de méthanol 50%. 1 mL d'acide 3,5-dinitrobenzoïque 1% dans l'éthanol et 2 mL d'hydroxyde de potassium 1N ont été ajoutés à la solution.

L'apparition d'une coloration rouge violette furtive après chauffage indique la présence de glycosides cardénoliques et de lactones penta atomiques non saturés.

a.3. Caractérisation des composés polaires

Caractérisation des glucides (oses et polyoses)

2 mL d'extrait aqueux ont été évaporés à sec dans une capsule en porcelaine et 2-3 gouttes de H_2SO_4 concentré ont été additionnées au résidu. Après 5 minutes de repos, 3-4 gouttes d'une solution d' α -naphthol 1% ont été ajoutées.

L'apparition d'une coloration rouge indique la présence de glucides.

Caractérisation des saponosides

2 mL d'extrait aqueux ont été dilués au demi avec de l'eau distillée (1/1 v/v) dans un tube à essais (16 cm ou 160 mm de hauteur) et agitées pendant 15 minutes.

L'apparition d'une colonne de mousse d'au moins 1 cm de haut persistant pendant au moins 15 minutes indique la présence de saponosides.

Caractérisation des polyphénols (tanins)

1 mL d'extrait aqueux est dilué dans 1 mL d'eau distillée et additionné de 3 gouttes d'une solution diluée de trichlorure de fer (FeCl_3 1%).

- l'apparition d'une coloration bleu foncée indique la présence de tanins galliques ;

- la présence de tanins catéchiques est indiquée par l'apparition d'une coloration vert foncé ;
- l'apparition d'une coloration hybride indique la présence de tanins galliques et catéchiques.

Caractérisation des composés réducteurs

La réaction à la liqueur de Fehling a été utilisée :

1 mL d'extrait aqueux a été dilué dans 1 mL d'eau distillée et porté à ébullition pendant 30 minutes en présence de 1 mL de liqueur de Fehling (I+II).

La présence de composés réducteurs est matérialisée par la formation d'un précipité rouge brique.

b. L'analyse par la chromatographie sur couche mince (CMM)

b.1. Principe

Le principe de la CCM consiste en une séparation des substances chimiques en fonction de leur affinité par rapport à deux phases : une phase stationnaire solide (verre, silicagel...) et une phase mobile liquide (éluant) constituée par un système de solvant. Le support utilisé est en verre.

b .2. Chromatographie sur couche mince (CCM)

Des capillaires de 10 µL ont été utilisés pour le dépôt des différents extraits soumis à la migration chromatographique. Sur une même plaque chromatographique, sont déposés les trois extraits correspondant aux trois drogues végétales : écorce (Ec), racines (R) et feuilles (Fe).

Des dépôts en bande ont été réalisés et la distance entre deux dépôts était de 1 cm. Les plaques ont été séchées à l'air ambiant et placées dans des cuves de migration contenant préalablement des solvants appropriés.

La distance de parcours de l'éluant a été de 8 cm à partir du point de dépôt. Après la migration, les plaques ont été retirées, séchées et révélées avec un réactif spécifique pour l'identification des groupes chimiques.

b.3. Les révélations des groupes chimiques

Détection des tanins

L'éluant était le système de solvant **S3** : n-butanol/eau/acide acétique glacial : (2 : 1 : 1 v/v). Les plaques ont été pulvérisées avec une solution de chlorure ferrique à 2% (FeCl₃ 2%) dans du méthanol 80% et séchées à l'air.

L'apparition de tâches de coloration bleu foncé révèle la présence de tanins hydrolysables (galliques). Les tanins condensés (catéchiques) donnent une coloration verdâtre

Détection des saponosides

Le solvant de migration était le système de solvant **S4** : acétate d'éthyle/ Méthanol/ eau : (10 : 5: 9 v/v).

La pulvérisation avec de l'anisaldéhyde sulfurique a permis la révélation. L'apparition de tâches brunes ou violettes après chauffages des plaques à 110°C pendant 10min, sur une plaque chauffante indique la présence de saponosides.

Détection des glucosides et des aglycones stéroïdiques et triterpéniques

L'éluant pour la détection des glucosides stéroïdiques et triterpéniques était le système **S1** : éthyle acétate/acide formique/acide acétique glacial/eau : (100 : 11 : 11 : 26 v/v). L'éluant pour la détection des aglycones stéroïdiques et triterpéniques était le système de solvant **S2** : n-hexane/ Toluène/ acétate d'éthyle: (3 : 1 : 1 v/v).

La pulvérisation avec de l'anisaldéhyde sulfurique a permis la révélation par l'apparition de spots bruns (phytostérols) ou violets (triterpènes).

Détections des flavonoïdes et des aglycones flavoniques.

L'éluant pour la détection des flavonoides était le système **S1** : éthyle acétate/acide formique/acide acétique glacial/eau : (100 : 11 : 11 : 26 v/v).

L'éluant pour la détection des aglycones flavoniques était le système de solvant **S2** : n-hexane/ Toluène/ acétate d'éthyle: (3 : 1 : 1 v/v).

La révélation a été faite à la lumière UV à 365 nm après exposition des plaques aux vapeurs d'une solution éthanolique de diphenylborinate et d'ethyle glycol. Les flavonoïdes ou aglycones correspondants apparaissent jaunes ou jaune orangé.

Détection des coumarines et dérivés coumariniques Le système de solvant utilisé pour l'élution des dérivés coumariniques était le système **S1** : éthyle acétate/acide formique/acide acétique glacial/eau : (100 : 11 : 11 : 26 v/v). Les coumarines ont été éluées par le système de solvant **S2** : n-hexane/ Toluène/

acétate d'éthyle: (3 : 1 : 1 v/v). La révélation a été faite à la lumière UV à 366 nm, après pulvérisation des plaques par une vapeur d'une solution de NaOH à 5% dans de l'éthanol 95°. A cette longueur d'onde les coumarines et leurs dérivés, sous forme de spots émettent une fluorescence bleue.

II.3.4. Le test d'évaluation de l'effet antiradicalaire des extraits

La capacité des extraits à donner un proton à un radical stable, le DPPH (1-1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl) a été évaluée comme décrit par Kim *et al.* en 2003 [81]

Dans ce test, les antioxydants contenus dans les extraits de la plante réduisent le DPPH (couleur violette) en un composé jaune.

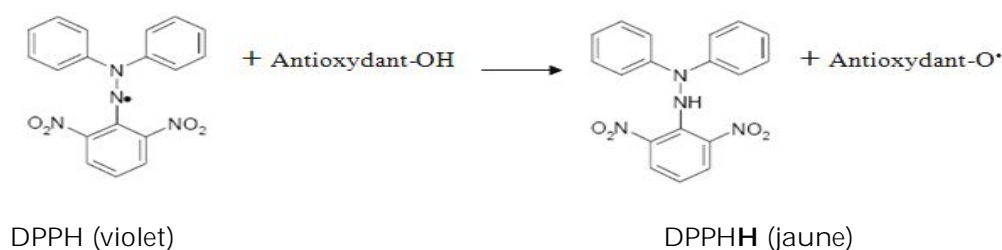


Figure 7 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH

Source : d'après MOLYNEUX, P (2004) [82]

La mesure de la diminution de l'absorbance du DPPH à 520nm rend compte de l'effet antioxydant des extraits.

Pour ce faire, une série de 10 doses (24 ; 20 ; 6 ; 3 ; 2 ; 0,3 ; 0.2 ; 0.03 ; 0.02 et 0.002 mg/mL) ont été préparées à partir de solutions d'échantillon à 40mg/mL dans du DMSO.

Les concentrations finales de dans le milieu réactionnel sont les 1/20 de ces concentrations.

A 950µL de la solution méthanolique de DPPH (101µM), ont été ajoutés 50µL de la dose du composé (extraits ou quercétine) à tester. Le mélange a été incubé à l'abri de la lumière pendant 30 minutes à 37°C. L'absorbance a été mesurée à 520 nm contre un blanc (950µL de méthanol + 50µL de la dose d'extrait à tester).

La décoloration par rapport au *contrôle négatif* (950µL solution de DPPH + 50µL de DMSO) est mesurée à 520 nm. La quercétine (950µL solution de DPPH + 50µL de quercétine dans du DMSO) nous a servi de *contrôle positif*

Les conditions expérimentales ont été réalisées en triplicata avec les dix concentrations. L'activité anti radicalaire est estimée selon l'équation ci-dessous:

$$\text{Activité anti radicalaire (\%)} = [(Abs_{517} \text{ contrôle} - Abs_{517} \text{ échantillon}) / Abs_{517} \text{ contrôle}] \times 100$$

- $Abs_{520} \text{ contrôle}$: absorbance du contrôle négatif à 520 nm
- $Abs_{520} \text{ échantillon}$: absorbance du test (extrait ou quercétine) à 520 nm.

Les valeurs des concentrations inhibitrices 50% (IC_{50}) ont été déterminées à partir des courbes doses / effets obtenues à l'aide du logiciel *PRISM version 5.0*. Et les valeurs des IC_{50} des extraits ont été comparées avec celles de la quercétine.

II.3.5. Le test d'évaluation de l'effet anti-lipooxygénase

a. Préparation des réactifs

A : Tampon Borate : 0,2 M, pH 9,0

Dissoudre 19,05 g de Sodium tetraborate ($Na_2B_4O_7 \cdot 10 H_2O$) [(0,2 M) : FW 381,37] dans 250 mL d'eau distillée afin d'obtenir une solution (S1) de concentration 76,2g/L.

Dissoudre 4,34 g d'Acide borique (H_3BO_3 : 0,2 M, PM = 61,83) dans 350 mL d'eau distillée afin d'obtenir une concentration S2 = 12,4g/L

Le tampon borate 0.2 M, est obtenu en ajoutant S2 à S1 jusqu'à obtention du pH 9.0, le volume est ensuite complété à 1L.

B: Solution de substrat (250µM)

D'abord l'acide linoléique (substrat) a été pré oxydé afin de favoriser l'activité de l'enzyme, ainsi il été laissé à l'air libre pendant toute une nuit à la température du laboratoire, il a en suite été conservé au congélateur. 10 µL d'acide linoléique, 30 µL d'éthanol et 120 mL de tampon borate ont été mélangés pour

obtenir 250µM d'acide linoléique. La solution est utilisée dans un intervalle de 24 h.

C: Solution d'Enzyme

La solution d'enzyme est obtenue par préparation de la lipooxygénase (EC 1.13.11.12) de type I-B (extraite du soja) (200 U/mL) dans du Tampon borate.

D: Inhibiteurs

Les inhibiteurs sont les solutions d'extraits dissout dans le tampon borate contenant 1% de DMSO à différentes concentrations (0.25 ; 0.50 ; 1 ; 1.5 ; 2 et 2,5mg/ml). Les concentrations finales de dans le milieu réactionnel sont les 1/10 de ces concentrations.

b. Principe

Le test d'inhibition de la lipooxygénase a été réalisé selon la méthode spectrophotométrique décrite par LYCKANDER & MALTERUD en 1992 [83].

La lipooxygénase est une enzyme capable d'oxyder l'acide linoléique en hydroperoxydiènes conjugués qui absorbe à 234 nm. En présence d'un composé inhibiteur, il y a une diminution de la vitesse d'apparition d'hydroperoxydiènes conjugués. La comparaison de la vitesse (V_x) en présence d'un composé avec la vitesse initiale (V_i) de l'enzyme permet d'évaluer l'effet inhibiteur du composé.

c. Mode opératoire

A 400µL d'une solution de lipooxygénase type I-B dans du tampon borate de sodium (pH9), ont été ajoutés 100µL de la solution contenant l'extrait à tester (concentrations variant de 0.125mg/mL à 2.5mg/mL dans du tampon borate pH9). Le mélange réactionnel a été incubé pendant 10 minutes à la température de 25°C.

L'addition de 500 µL d'une solution d'acide linoléique (utilisé comme substrat) initiait la réaction. Lire la vitesse enzymatique à 234 nm pendant 1 h 30 min contre un blanc (400µL de tampon + 100µL d'extrait + 500µL d'acide linoléique)

Toutes les conditions expérimentales ont été répétées trois fois. Le pourcentage d'inhibition a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{INHIBITION (\%)} = [(V_i - V_x) / V_i] \times 100$$

V_i : activité de l'enzyme sans le composé à testé ; V_x : activité de l'enzyme en présence du composé à tester.

Les valeurs des concentrations inhibitrices 50% (IC_{50}) ont été déterminées à partir des courbes doses / effets obtenues à l'aide du logiciel *PRISM version 5.0*.

II.3.5. Expression et analyse des données

Les données ont été présentées sous forme de moyenne \pm sem. Le test t-student a permis de comparer les moyennes. Toute différence a été considérée comme significative au seuil α égal à 5%.

III. RESULTATS DE L'ETUDE

III.1. Les teneurs en humidité relative (THR)

Les taux moyens d'humidité relative des poudres déterminés en trois essais ont été consignés dans le tableau VI.

Les teneurs étaient différentes selon les parties de la plante. La poudre de racines présentait la plus faible teneur moyenne.

Tableau VI : les taux moyens d'humidité relative des poudres des drogues végétales (n=3)

	Poudres de drogues végétales		
	<i>Ecorces de tronc</i>	<i>Racines</i>	<i>Feuilles</i>
Taux d'humidité résiduel (%)	5.54 ± 0.05	3.09 ± 0.23	5.14 ± 0.02

III.2. Les rendements d'extractions

L'épuisement successif par percolation des drogues a permis d'obtenir des masses d'extraits dont les rapports sur les prises d'essais sont présentés dans le tableau VII.

Tableau VII : le rendement des extractions en fonction des solvants et des drogues.

Solvants d'extraction	Rendements d'extraction (%)		
	<i>Ecorces de tronc</i>	<i>Racines</i>	<i>Feuilles</i>
Dichlorométhane	4.24	1.16	1.96
Acétate d'éthyle	1.56	0.30	1.25
Méthanol	2.20	2.21	6.50
Eau	9.7	10.16	12.30

III.3. La caractérisation des groupements phytochimiques

III.3.1. les réactions colorées en tube

Les résultats positifs des réactions en tube sont présentés dans le tableau VIII.

Globalement, les écorces et les racines étaient plus riches que les feuilles en composés phytochimiques détectables par la méthode employée. Les saponosides, les composés stéroïdiques et triterpéniques, les coumarines et leurs dérivés ont été détectés dans toutes les parties de la plante. A contrario les flavonoïdes et les tannins ont été plus retrouvés dans les racines et les écorces de tronc.

Tableau VIII : Les groupes phytochimiques mis en évidence dans les extraits *d'E. senegalensis* DC selon les parties de la plantes

Solvants d'extraction	Groupes chimiques	Résultats obtenus		
		<i>Ecorces de tronc</i>	<i>Racines</i>	<i>Feuilles</i>
Dichlorométhane	<i>Stérols & triterpènes</i>	++ (rouge brun)	++ (rouge brun)	Non décelé
	<i>Aglycones flavoniques</i>	++ (rouge orange)	++ (rouge orange)	++ (rouge orange)
	<i>Coumarines</i>	++ (fluorescence verte)	++ (fluorescence verte)	++ (fluorescence verte)
Acétate d'éthyle	<i>Flavonosides</i>	++ (orange)	++ (orange)	Non décelé
	<i>Tannins</i>	++ (vert)	Non décelé	Non décelé
Méthanol	<i>Flavonosides</i>	++ (jaune orange)	++ (jaune orange)	Non décelé
	<i>Tannins</i>	++ (vert)	++ (vert)	++ (vert)
	<i>Saponosides</i>	++ (H _{mousse} > 1.5cm)	++ (H _{mousse} > 1.5cm)	++ (H _{mousse} > 1.5cm)
	<i>Dérivés coumariniques</i>	++ (fluorescence verte)	++ (fluorescence verte)	++ (fluorescence verte)
	<i>Glucoside stéroïdiques&triterpéniques</i>	++ (anneau rouge brun)	++ (anneau rouge brun)	++ (anneau rouge brun)
Eau	<i>Flavonosides</i>	+	+	Non décelé
	<i>Tannins</i>	Non détecté	Non décelé	Non décelé
	<i>Saponosides</i>	++	++	++

+ : *abondant* ; ++ : *très abondant*

III.3.2. La chromatographie sur couche mince (CCM)

Les résultats de l'analyse chromatographique sont représentés à travers les figures 8 et 9 et les tableaux IX et X ci-dessous :

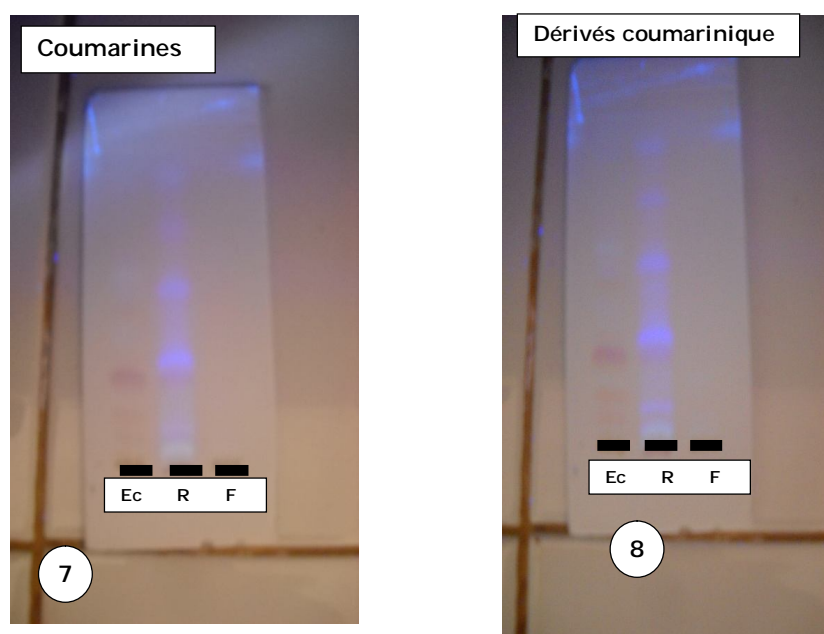
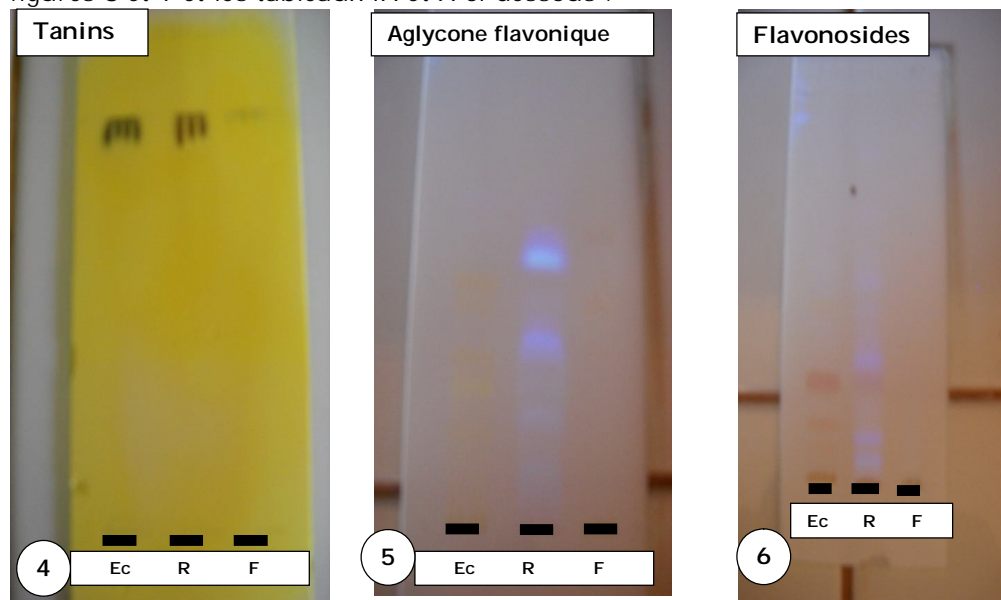


Figure 8 : La révélation des tannins, des aglycones flavoniques, des flavonosides, des coumarines et des dérivés coumariniques

Tableau IX : Les références frontales (Rf) et les couleurs des spots après révélation des tannins, des coumarines et dérivés, des flavonosides et aglycones flovoniques

Groupes chimiques	Drogues végétales					
	<i>Ecorces de tronc (Ec)</i>		<i>Racines (R)</i>		<i>Feuilles (F)</i>	
	<i>Rf</i>	<i>couleur</i>	<i>Rf</i>	<i>couleur</i>	<i>Rf</i>	<i>couleur</i>
Tannins	0.03	Verte	0.11	Verte	0.91	Verte
	0.36	Verte	0.35	Verte	0.32	Verte
	0.88	Bleu-noir	0.88	Bleu-noir		
Coumarines ($\lambda = 366 \text{ nm}$)	0.17		0.17		0.43	
	0.27	Fluorescence	0.27	Fluorescence	0.59	Fluorescence
	0.32	bleu verdâtre	0.32	bleu verdâtre		bleu verdâtre
	0.41		0.47			
	0.47		0.57			
Coumariniques ($\lambda = 366 \text{ nm}$)	0.11		0.11			
	0.17	Fluorescence	0.17	Fluorescence		Non décelé
	0.27	bleu verdâtre	0.27	bleu verdâtre	-	
	0.44					
Flavonosides ($\lambda = 366 \text{ nm}$)	0.013	Jaune-orange	0.013	Jaune-orange	0.013	Jaune-orange
	0.067	Jaune-orange	0.069	Bleue		
	0.13	Bleue	0.16	Bleue		
	0.24	Jaune-orange	0.27	Bleue		
	0.41	Jaune-orange	0.30	Jaune-orange		
	0.53	Jaune-orange	0.52	Bleue		
Aglycone flavonique	0.19	Jaune-orange	0.09	Bleue	0.33	Jaune-orange
	0.27	Jaune-orange	0.23	Bleue	0.41	Jaune-orange
	0.33	Jaune-orange	0.33	Bleue	0.55	Jaune-orange
	0.47	Jaune-orange	0.4	Bleue		
	0.48	Jaune-orange	0.52	Bleue		
	0.57	Jaune-orange		Bleue		

La photo 4 et le tableau IX montrent que les tannins catéchiques (spots verts) sont les plus dominants dans toutes les drogues avec des références frontales différentes. Les tannins galliques (spots bleu-noir) retrouvés dans l'écorce de tronc et les racines ont les mêmes références frontales (Rf), 0.88.

La photo 7 et le tableau IX montrent que les coumarines ont été révélées dans toutes les drogues : cinq (5) spots majeurs avec les extraits d'écorce, six (6)

spots majeurs avec les extraits de racines et deux (2) spots majeurs avec les extraits de feuilles.

Les extraits de racines et d'écorce présentaient quatre (4) spots majeurs de mêmes Rf (0.11, 0.27, 0.32 et 0.47). Les Rf des spots obtenus avec le dépôt d'extraits de feuilles différaient des Rf des spots observés avec les autres drogues végétales.

La photo 8 et le tableau IX montrent que les dérivés coumariniques ont été révélés par quatre (4) spots majeurs de fluorescence bleu-verdâtre sur la ligne de migration des extraits d'écorce contre trois (3) spots sur celle des extraits de racines. Les trois (3) spots de racines avaient leurs Rf (0.11, 0.27 et 0.44) identiques avec trois des quatre spots observés avec les écorces.

Au niveau du trajet des extraits de feuilles nous avons observé des trainées avec des contours imprécis. Ce qui ne nous a pas permis de déterminer avec certitude les références frontales.

La photo 5 et le tableau IX montrent que les extraits d'écorces et de feuilles étaient riches en aglycones flavoniques (couleur jaune-orange) et les extraits de racines en acide phénoliques (couleur bleue). Un aglycone retrouvé dans les extraits de feuilles (Rf : 0.33) présentait les mêmes Rf qu'avec les extraits d'écorces.

La photo 6 et le tableau IX montrent que les flavonosides étaient plus abondants (4 spots de couleur jaune-orange) dans les extraits d'écorces que les autres extraits. Les extraits de racines contenaient plus les acides phénoliques (couleur bleue).

Un flavonoside (Rf : 0.013) était présent dans toutes les drogues.

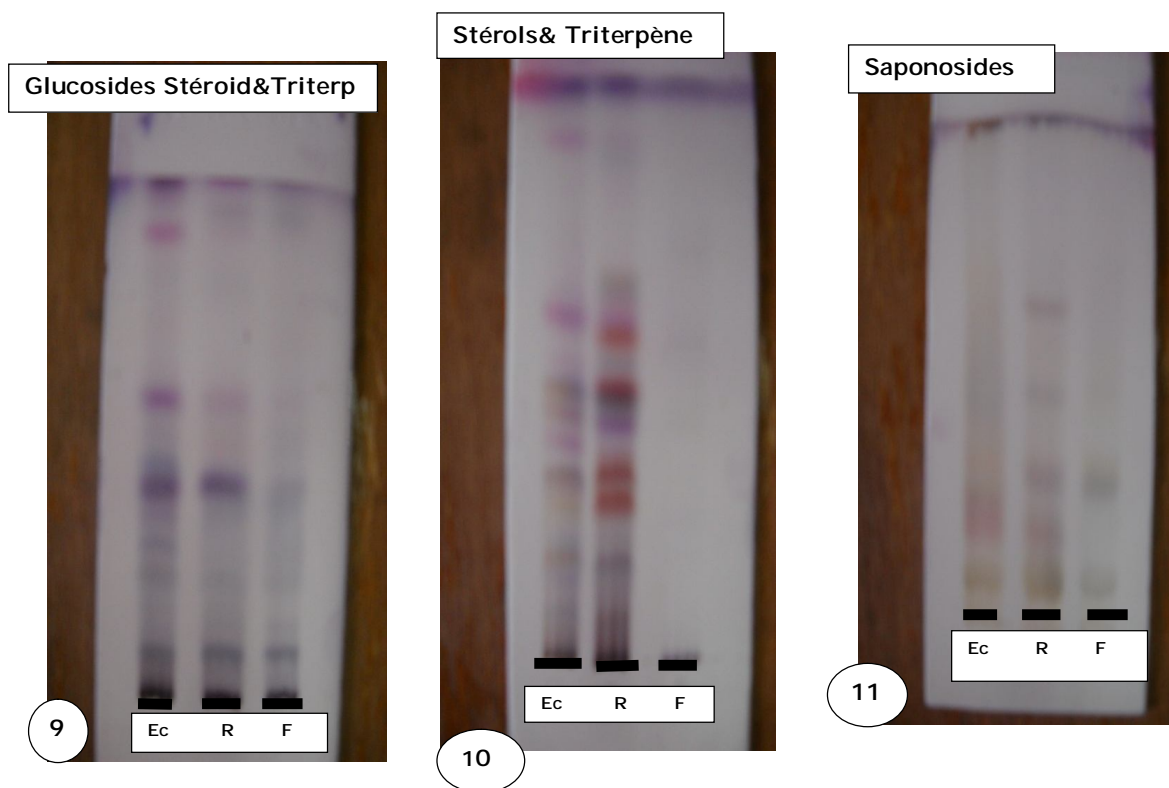


Figure 9 : La révélation des glucosides stéroïdiques & triterpéniques, des stérols & triterpènes et des saponosides.

Sur les chromatoplaques 9 et 10, les glucosides stéroïdiques et les stérols ont été détectés par des spots bleus (et rouges-bruns) tandis les triterpènes et les glucosides triterpéniques apparaissaient sous forme de spots violets

Sur la chromatoplaque 11, les saponosides se sont révélés présents par l'apparition de spots rouges-bruns ou violets.

Tableau X : références frontales (Rf) et couleurs des spots après révélation des glucosides stéroïdiques & triterpéniques, des stérols & triterpènes et des saponosides.

Groupes chimiques	Drogues végétales					
	<i>Ecorces de tronc (Ec)</i>		<i>Racines (R)</i>		<i>Feuilles (F)</i>	
	<i>Rf</i>	<i>couleur</i>	<i>Rf</i>	<i>couleur</i>	<i>Rf</i>	<i>couleur</i>
Glucosides stéroïdiques et triterpéniques	0.09	Bleue	0.11	Bleue	0.11	Bleue
	0.24	Bleue	0.23	Bleue	0.40	Bleue
	0.29	Bleue	0.40	Bleue	0.87	bleue
	0.38	Violette	0.53	Violette		
	0.43	Bleue	0.88	bleue		
	0.84	Violette				
Stérols & triterpène	0.2	Rouge brun	0.27	Rouge brun	-	Non décelé
	0.27	Rouge brun	0.33	Rouge brun		
	0.33	Rouge brun	0.40	Violette		
	0.40	Violette	0.47	Rouge brun		
	0.59	Violette	0.60	Violette		
	0.65	Rouge brun	0.65	Rouge brun		
	0.89	Violette	0.88	violette		
Saponosides	0.013	Violette	0.013	Violette	0.013	Violette
	0.067	Rouge brun	0.067	Rouge brun	0.067	Rouge brun
	0.16	Rouge brun	0.16	Rouge brun	0.27	Violette
	0.23	Rouge brun	0.27	Violette	0.39	Violette
	0.29	Rouge brun	0.43	Violette		
			0.57	Violette		

Le tableau X montre que les glucosides stéroïdiques (spots bleus) et triterpéniques (spots violets) étaient présentés dans toutes les drogues végétales étudiées. Les extraits de racines et de feuilles présentaient deux (2) spots bleus identiques (Rf : 0.11 et 0.40).

Tous les spots observés sur le trajet de l'extrait des écorces présentaient des Rf différentes d'avec celles des autres extraits de la plante.

Les stérols et les triterpènes ont été plus abondamment (7spots) retrouvés dans les écorces de tronc et les racines que dans les feuilles (trainées sans contour précis).

III.4. L'effet antiradicalaire des extraits

III.4.1. les effets antiradicalaires des extraits de feuilles

L'extrait au dichlorométhane a été le plus actif des extraits de feuilles d'*E. senegalensis* DC. (tableau XI)

Les extraits aqueux n'étaient pas solubles dans les conditions de travail et n'ont alors pas fait l'objet d'évaluation d'effets antiradicalaire.

Tableau XI : Effets antiradicalaires doses-dépendants des extraits de feuilles (n=4)

Concentrations des extraits ($\mu\text{g/mL}$)	Effets antiradicalaires (% d'inhibition)		
	DCM	AC. ETH	MeOH
1200	92,67 \pm 3,1	89,1 \pm 1,54	90,0 \pm 0,7
1000	83,46 \pm 5,7	60,4 \pm 15,53	49,4 \pm 3,8
300	21,78 \pm 1,6	23,8 \pm 9,5	7,9 \pm 2,5
100	9,41 \pm 2,4	6,6 \pm 4,9	0,07 \pm 7,1
30	1,43 \pm 0,47	2,4 \pm 0,4	2,37 \pm 5,56
10	0,52 \pm 0,4	-21,7 \pm 22,2	9,82 \pm 3,06
3.0	-2,7 \pm 2,1	0,23 \pm 0,6	18,0 \pm 1,2
1.0	-5,2 \pm 7,4	0,38 \pm 0,4	15,8 \pm 3,4
IC50 ($\mu\text{g/mL}$)	148,5 \pm 6,3	469,3 \pm 1,1	306,4 \pm 1,01

III.4.2. les effets antiradicalaires des extraits d'écorces

Les différents extraits ont présenté des effets inhibiteurs dose-dépendants sur le DPPH. Les extraits au dichlorométhane (DCM) ont été les plus actifs (IC_{50} : $57,6 \pm 0,68$). Les moindres effets inhibiteurs du DPPH ont été observés avec les extraits aqueux de feuilles (IC_{50} : $700,1 \pm 12,3$).

Le tableau XII rend compte des effets des extraits d'écorces sur le DPPH.

Tableau XII : Effets antiradicalaires doses-dépendants des extraits d'écorces de tronc d'*E. senegalensis* DC (n=4).

Concentrations des extraits ($\mu\text{g/mL}$)	Effets antiradicalaire (% d'inhibition)			
	DCM	AC. ETH	MeOH	AQ
1200	$97,3 \pm 0,86$	$96,5 \pm 1,6$	$94,8 \pm 1,35$	$67,2 \pm 3,8$
1000	$94,7 \pm 1,02$	$96,1 \pm 1,49$	$90,4 \pm 0,62$	$62,3 \pm 6,12$
300	$66,8 \pm 0,71$	$75,8 \pm 2,14$	$59,6 \pm 0,59$	$54,1 \pm 12,42$
100	$47,3 \pm 0,52$	$47,4 \pm 2,32$	$20,7 \pm 2,94$	$18,6 \pm 1,12$
30	$26,1 \pm 1,29$	$21,3 \pm 3,5$	$9,7 \pm 1,3$	$2,5 \pm 2,17$
10	$24,8 \pm 3,21$	$2,0 \pm 0,69$	$6,2 \pm 0,61$	$0,7 \pm 1,2$
3,0	$21,2 \pm 1,27$	$0,53 \pm 0,01$	$2,9 \pm 1,21$	$-1,1 \pm 0,04$
1,0	$17,07 \pm 2,57$	$-11,2 \pm 0,28$	$-0,11 \pm 1,2$	$-3,9 \pm 0,51$
IC₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	$57,6 \pm 0,68$	$114 \pm 12,6$	$263 \pm 1,8$	$700,1 \pm 12,3$

DCM: dichlorométhane ; AC.ETH: acetate d'éthyle ; MeOH: méthanol ; AQ : aqueux

III.4.3. les effets antiradicalaires des extraits de racines entières

Les différents extraits ont présenté des effets inhibiteurs dose-dépendants sur le DPPH. Les extraits au dichlorométhane (DCM) et à l'acétate d'éthyle (AC. ETH) ont été les plus actifs avec respectivement des concentrations inhibitrices 50% atteignant $51,8 \pm 0.06$ et $72,7 \pm 0.13$.

Aux doses élevées les extraits aqueux devenaient insolubles.

Le tableau XIII rend compte des effets des extraits d'écorces sur le DPPH.

Tableau XIII : Effets antiradicalaires doses-dépendants des extraits de racines d'*E. senegalensis* DC (n=4)

Concentrations des extraits ($\mu\text{g/mL}$)	Effets antiradicalaire (% d'inhibition)			
	DCM	AC. ETH	MeOH	AQ
1200	96.2 ± 0.12	94.2 ± 0.02	95.1 ± 0.95	<i>insoluble</i>
1000	93.8 ± 1.04	91.1 ± 0.79	89.8 ± 0.34	<i>insoluble</i>
300.	88.5 ± 0.18	89.6 ± 0.12	33.2 ± 1.14	$61,2 \pm 0,17$
100	62.0 ± 2.01	59.0 ± 0.07	28.4 ± 1.10	$62,3 \pm 6,12$
30	32.5 ± 0.4	19.2 ± 0.51	6.9 ± 1.02	$51,1 \pm 2,52$
10	15.8 ± 2.1	13.6 ± 0.23	5.8 ± 2.13	$9,6 \pm 0,89$
3.0	9.2 ± 0.05	8.3 ± 1.2	4.7 ± 0.47	$2,5 \pm 2,17$
1.0	-0.9 ± 0.16	8.1 ± 1.02	4.2 ± 1.06	$0,7 \pm 1,2$
0.3	-8.7 ± 0.41	0.34 ± 0.05	3.8 ± 1.08	$-1,1 \pm 0,04$
0.1	-15.1 ± 0.31	-2.46 ± 1.05	3.6 ± 0.25	$-3,9 \pm 0,51$
IC50 ($\mu\text{g/mL}$)	51.8 ± 0.06	72.7 ± 0.13	321 ± 4.21	$987.1 \pm 12,3$

DCM: dichlorométhane ; AC.ETH: acetate d'éthyle ; MeOH: méthanol ; AQ : aqueux

III.4.4. Le récapitulatif des effets antiradicalaires des extraits par épuisement successif d'*E. senegalensis* DC.

Le tableau XIV montre que les différents extraits d'*E. senegalensis* DC. présentent des effets inhibiteurs du DPPH qui varient significativement d'un extrait à un autre et d'une drogue végétale à une autre.

Les extraits au dichlorométhane de racines (IC_{50} : 51.8 ± 0.06) et d'écorces de tige (IC_{50} : $57,6 \pm 0,68$), ainsi que les extraits à l'acétate d'éthyle de racines (IC_{50} : 72.7 ± 0.13) ont présenté les meilleurs effets antiradicalaires.

Tableau XIV : Récapitulatif des effets antiradicalaires des extraits par épuisement successif d'*E. senegalensis* DC.

Solvants d'extraction	Les concentrations inhibitrices 50%			<i>p-valeur</i>
	(IC ₅₀ ± SEM)			
	<i>Ecorces</i>	<i>Racines</i>	<i>Feuilles</i>	
Dichlorométhane	57,6 ± 0,68	51,8 ± 0,06	148,5 ± 6,3	0,013
Acétate d'éthyle	114 ± 12,6	72.7 ± 0.13	469,3 ± 1,1	0,003
Méthanol	263 ± 1,8	321 ± 4,21	306,4 ± 1,01	0,04
Eau	700.1 ±12,3	987.1 ±12,3	indéterminé	0,006

III.5. L'effet anti-lipooxygénase des extraits

Afin de déceler les extraits qui pourraient présenter des potentiels inhibiteurs intéressants, nous avons d'abord testé 100 µg/mL de chaque extrait (tableau XV).

Nous avons ensuite recherché une relation dose-effet pour tout extrait dont le pourcentage d'inhibition était supérieur à 40% (tableau XV).

Certains extraits ont présenté des effets anti-lipooxygénase doses-dépendants (tableaux XVII et XVIII). Par contre, d'autres effets sans relation avec l'augmentation des doses ont été observés avec des extraits (tableau XVI)

III.5.1. Les tests préliminaires à la concentration de 100 µg/mL de l'extrait

Tableau XV : les effets inhibiteurs des extraits *d'E. senegalensis* DC à la dose de 100µg/mL

Extraits	Pourcentage d'inhibition (% d'inhibition) à 100 µg/mL
FEUILLES	
<i>DCM</i>	(46.62 ± 0.15) %
<i>ACE. ETH</i>	(26.97 ± 1.1) %
<i>MeOH</i>	(25.55 ± 4.1) %
<i>Eau</i>	(9.09±1.3) %
ECORCES DE TRONC	
<i>DCM</i>	(69.89 ± 0.3) %
<i>ACE. ETH</i>	(67.41 ± 1.2) %
<i>MeOH</i>	(66.40 ± 0.5) %
<i>Eau</i>	(17.79 ± 0.1) %
RACINES	
<i>DCM</i>	(73.03 ± 0.2) %
<i>ACE. ETH</i>	(75.29 ± 0.1) %
<i>MeOH</i>	(34.78 ± 0.1) %
<i>Eau</i>	(13.01 ± 3.3) %

III.5.2. Les extraits à effets anti-lipooxygénase non doses-dépendants

A des doses variées, les extraits ne présentaient pas d'effets significativement différents (tableau XVI). Le meilleur potentiel inhibiteur de la lipooxygénase a été observé avec l'extrait méthanolique des écorces de tronc (MeOH-Ec).

Tableau XVI : effets non doses-dépendants des extraits d'E. senegalensis DC (n=4)

Extraits	Pourcentage d'inhibition (% d'inhibition)		
	à 100 µg/mL	à 250 µg/mL	p-valeur
DCM-F	(44.11 ± 2.3) %	(42.99 ± 1.3) %	0,32
MeOH-Ec	(64.09 ± 1.3) %	(61.61 ± 3.3) %	0,71
MeOH-R	(32.12 ± 1.6) %	(27.98 ± 6.7) %	0,19

DCM-F : extrait dichlorométhanique de feuilles ; MeOH-Ec : extraits méthanoliques des écorces de tronc ; MeOH-R : extrait méthanolique de racine.

III.5.3. Les extraits à effets anti-lipooxygénase doses-dépendants

a. Les effets inhibiteurs de la 12-lipooxygénase des extraits de racines d'E. senegalensis DC.

Les extraits au dichlorométhane et à l'acétate d'éthyle des racines d'E. senegalensis DC ont montré une inhibition dose-dépendante de la 12-lipooxygénase (tableau XV). L'extrait à l'acétate d'éthyle a été le plus actif (IC₅₀: 74,17±2,31).

Tableau XVII : Effets inhibiteurs de la 15-lipooxygénase des extraits de racines d'E. senegalensis DC (n=4)

Concentrations des extraits (µg/mL)	Effets anti-lipooxygénase (% d'inhibition)	
	DCM	AC. ETH
250	63.0 ± 1.03	58.9 ± 0.71
100	46.34 ± 1.01	44,6 ± 1.41
25	23.0 ± 0.12	6,2 ± 1.61
10	12.5 ± 0.48	4,7 ± 2.12
2,5	10.13 ± 1.57	1,16 ± 2.30
1.0	0.10 ± 0.09	0,08 ± 1.60
IC50	220.3 ± 1.30	72,14 ± 2.31

b. Les effets inhibiteurs de la 12-lipooxygénase des extraits d'écorces de tige d'*E. senegalensis* DC.

L'extrait à l'acétate d'éthyle, aux doses de 49.54 ± 1.12 a été capable de réduire de 50% l'activité enzymatique de la 12-lipooxygénase (tableau XVIII).

Tableau XVIII : Effets inhibiteurs de la 12-lipooxygénase des extraits d'écorces de tige d'*E. senegalensis* DC (n=4)

Concentrations des extraits ($\mu\text{g/mL}$)	Effets anti-lipooxygénase (% d'inhibition)	
	DCM	AC. ETH
250	59 ± 2.3	61 ± 0.21
100	38.5 ± 1.1	54 ± 0.34
25	18.0 ± 0.12	10 ± 1.47
10	5.9 ± 0.58	7.5 ± 2.20
2.5	3.13 ± 1.01	1.12 ± 0.07
1.0	0.16 ± 0.01	0.02 ± 0.03
IC50	214.6 ± 3.8	49.54 ± 1.12

III.5.4. Récapitulatif des effets inhibiteurs de la 12-lipooxygénase des extraits d'*E. senegalensis* DC.

Tableau XIX : récapitulatif des effets inhibiteurs de la 12-lipooxygénase des extraits d'*E. senegalensis* DC

Extraits	Effets anti-lipooxygénase ($IC_{50} \pm SEM$)		p-valeur
	Ecorces de tronc	Racines entières	
DCM	214.6 ± 3.8	220.3 ± 1.30	0,056
ACE. ETH	49.54 ± 1.12	$72,14 \pm 2.31$	0,0072

III.6. Récapitulatif des effets inhibiteurs du DPPH et de la 12-lipoxygénase des extraits *d'E. senegalensis* DC.

Les meilleurs potentiels antiradicaux et inhibiteurs de la 12-lipoxygénase ont été observés avec les extraits au dichlorométhane (DCM) et les extraits à l'acétate d'éthyle (ACE ETH).

Les extraits au DCM ont présenté d'excellents effets antiradicaux (DPPH) tandis que les extraits à l'acétate d'éthyle présentaient les meilleurs effets inhibiteurs de la 12-lipoxygénase du soja.

Nous avons observé que l'extrait à l'acétate d'éthyle d'écorce de tronc qui présentait le meilleur effet inhibiteur était non antiradicalaire ($IC_{50}\text{-LOX} : 49,54 \pm 1,12$ versus $IC_{50}\text{-DPPH} : 114 \pm 12,6$). Mieux le même extrait de la racine était aussi antiradicalaire qu'inhibiteur de la 12-lipoxygénase de soja ($IC_{50}\text{-LOX} : 72,14 \pm 2,31$ versus $IC_{50}\text{-DPPH} : 72,7 \pm 0,13$).

Tableau XX: Le récapitulatif des meilleurs potentiels antiradicalaire et inhibiteurs de la 12-lipoxygénase

Extraits <i>d'E. senegalensis</i>	Effets inhibiteurs ($IC_{50} \pm SEM$)			
	Ecorces de tronc		Racines entières	
	12-LOX	DPPH	12-LOX	DPPH
DCM	214,6 \pm 3,8	57,6 \pm 0,68	220,3 \pm 1,30	51.8 \pm 0.06
ACE. ETH	49,54 \pm 1,12	114 \pm 12,6	72,14 \pm 2,31	72.7 \pm 0.13

IV. DISCUSSIONS / COMMENTAIRES

Nos résultats mettent en évidence les effets antiradicalaires et inhibiteurs de la 15-lipooxygénase à mettre au compte des composés phytochimiques contenus dans les extraits de feuilles, d'écorces de tronc et de racines entières d'*E. senegalensis* DC

IV.1. Les teneurs en humidité relative (THR)

Le calcul des teneurs en humidité relative des poudres (tableau VI) a donné pour les écorces de tronc 5.54 ± 0.05 , les feuilles 5.14 ± 0.02 et les poudres de racines 3.09 ± 0.23 .

La teneur en humidité relative est une donnée de la conservation des poudres de plante. En effet, l'humidité peut favoriser la détérioration de la qualité microbiologique de la poudre. L'humidité pourrait également offrir des conditions aux enzymes d'hydrolyse de poursuivre des réactions avec pour conséquence la variation des métabolites secondaires (composés phytochimiques) au cours du temps de conservation.

Un THR de 5% constitue la norme selon la pharmacopée européenne. A cet effet, nos poudres à l'étude présentaient de bonnes propriétés de conservation.

IV.2. Les rendements d'extractions

L'épuisement successif par percolation des drogues a permis d'obtenir des masses d'extraits variables selon les solvants utilisés et selon les parties de la plante (tableau VII).

L'eau, le dichlorométhane et le méthanol ont donné de meilleurs rendements d'extraction. Cependant les extraits au dichlorométhane, au méthanol et à l'acétate d'éthyle (plus faible des rendements d'extraction) ont été les plus utiles au vu des effets obtenus avec ces extraits.

L'épuisement des écorces par le dichlorométhane et le méthanol a donné respectivement 4,24% et 2,2% comme rendements d'extraction. Nos valeurs étaient nettement supérieures à celles trouvées par TOGOLA, A (2008) [16] qui avait utilisé le Soxhlet. L'auteur trouvait 1,2% pour le méthanol et 3,9% pour le dichlorométhane. Par contre pour les extraits méthanoliques de racine, nous avons trouvé des rendements comparables : 2,21% (notre étude) et 2,31% (TOGOLA, A. 2008) [16].

Ces différences pourraient s'expliquer par le fait que l'extraction au soxhlet donnerait un rendement moindre que la percolation qui nous a servi de méthode d'extraction dans notre étude.

IV.3. Les caractérisations phytochimiques

Les résultats des analyses obtenus par les réactions de caractérisation (en tube) et la chromatographie sur couche mince (CCM) des extraits au dichlorométhane, à l'acétate d'éthyle, au méthanol et à l'eau ont montré que les poudres des écorces de tige, de racines entières et de feuilles d'*E. senegalensis* DC contiennent une grande variété de groupes chimiques. Globalement, les écorces et les racines étaient plus riches que les feuilles en groupes phytochimiques détectables par la méthode employée.

Les saponosides, les composés stéroïdiques et triterpéniques, les coumarines et leurs dérivés ont été détectés dans toutes les parties de la plante.

A contrario les flavonoïdes et les tannins ont été plus retrouvés dans les racines et les écorces de tronc.

Nos résultats sont en accord avec ceux de nombreux auteurs : WANJI J *et al.* (1994) [73] et TAYLOR *et al* (1986) [66] ont isolé de nombreux phényl isoflavones et de nombreux composés triterpéniques respectivement des extraits méthanoliques et hexaniques d'écorces de tronc. De plus, NACOULMA, O *et al.* (1996) [8] a indiqué la présence de coumarines, de flavonoïdes, de saponosides stéroïdiques et de stéroïdes dans les feuilles, dans les racines et dans les écorces d'*E. senegalensis* DC. Enfin, SAIDU. K *et al* (2000) [17] ont caractérisé les flavonoïdes, les tannins et les saponoside dans le macéré aqueux des écorces de tronc.

Contrairement aux résultats de NACOULMA, O *et al* (1996) [8] et SAIDU. K *et al* (2000) [17] qui ont également mis en évidence des alcaloïdes respectivement dans les écorces, les racines, les feuilles et les fleurs (étude de NACOUA O *et al*) et dans le macéré aqueux des écores de tronc et de racines (étude de SAIDU K), notre étude n'a guère indiqué la présence d'alcaloïdes dans ces parties de la plante. Nos observations corroboraient par contre celles de WANJI J *et al* (1994) [73] qui a isolé des alcaloïdes (éryrodine) dans les graines d'*E. senegalensis* DC.

Les différences pourraient s'expliquer d'une part par le matériel végétal utilisé : en effet, les écorces de tige, les racines et les feuilles ont constitué notre matériel d'étude et non les graines comme indiqué dans l'étude de WANJI *et al.* ou les

fleurs comme mentionné dans l'étude de NACOULMA *et al.* D'autre part, notre méthode d'extraction (épuisement successif avec 4 solvants de polarité croissante) a probablement contribué à répartir la faible proportion de ces alcaloïdes dans les différents solvants si bien que dilués, ils ont été indétectables.

De plus, nos matériels végétaux ne provenaient pas de la même zone géographique. En effet la variation dans la composition phytochimique des extraits pourrait être une réponse des plantes aux facteurs tels que les conditions climatiques [84], l'environnement géologique des sites de récoltes [85], la période de récolte (maturation), l'équipement enzymatique responsable des voies métaboliques de biosynthèse [86] et la régulation de l'expression des gènes [87].

L'examen de la migration chromatographique des extraits a confirmé et précisé la présence des différents groupes phytochimiques caractérisés par les réactions colorées.

Les résultats de la CCM indiquaient une prédominance des tannins catéchiques sur les tanins galliques dans toutes les drogues.

La révélation des coumarines (tableau IX et photo 7) suggérait que les feuilles ne contenaient pas les mêmes types de coumarines (R_f différentes) que les autres drogues (écorces et racines). Certains types de coumarines étaient communes aux extraits de racines et d'écorces (R_f identiques).

Les flavonoïdes étaient plus abondants dans les extraits d'écorces de tronc que les autres drogues végétales (photo 6 et le tableau IX). Certains flavonosides semblaient être communs aux écorces et aux feuilles (les R_f étant égales). Les extraits de racines contenaient plus les acides phénoliques et les flavonosides révélés n'avaient aucune communauté avec ceux retrouvés dans les deux autres drogues.

Les glycosides triterpéniques et stéroïdiques ainsi que les stérols ont été caractérisés dans toutes les drogues végétales. Les glycosides de l'écorce semblaient présenter des différences avec ceux retrouvés dans les autres drogues.

Tous ces résultats suggéraient que notre étude a pu mettre en évidence dans les extraits des polyphénols (tannins, coumarines et flavonoides), des saponosides, et des triterpènes et stéroïdiques (libre ou combinés).

IV.4. L'effet antiradicalaire des extraits d'*E. senegalensis* DC

Les effets antiradicalaires des extraits de feuilles, d'écorces de tronc et de racines ont été évalués par leur capacité à donner un atome d'hydrogène au radical de 1,1-diphényl-2-picryl-hydrazyl (DPPH). En effet le DPPH est un radical stable (oxydant) qui se caractérise par sa capacité à se réduire par captation d'un atome d'hydrogène à partir des composés contenus dans les extraits.

Les extraits de feuilles ont montré de faibles effets antiradicalaires sur le DPPH.

Dans la littérature [16, 77, 88], les feuilles sont rarement utilisées comme matériel végétal. Dans l'étude de TOGOLA, A (2008) [16], une étude ethnopharmacologique de l'usage traditionnel de la plante, les tradipraticiens du Mali utilisaient rarement les feuilles seules dans la prise en charge des maladies. Les feuilles étaient régulièrement associées à d'autres parties de la plante (écorces, racines).

De plus nous avons caractérisé dans les feuilles des saponosides (extrait aqueux, méthanolique et à l'acétate d'éthyle), des dérivés coumariniques et les tannins (extraits méthanoliques). Bien que certains composés soient des polyphénols (tannins et coumariniques), il existerait une grande diversité dans l'activité antiradicalaire parmi ces composés [89].

Selon NAOULMA, O *et al* [8], les coumarines seraient anticoagulantes, antispasmodiques, antipyrétique ; les saponosides seraient hémolytiques et les tanins hémostatiques, astringents et faiblement piègeurs de radicaux libres.

Les extraits méthanoliques de racines et d'écorces de tronc ont par contre produit des effets inhibiteurs doses-dépendants sur le DPPH. Ces extraits d'écorces de tronc et de racine aux doses respectives de 263µg/mL et de 321µg/mL ont piégé 50% des radicaux libres de DPPH. Ces résultats suggèrent que l'extrait méthanolique d'écorce de tronc est plus actif que l'extrait méthanolique de racines. En effet, plus la concentration inhibitrice 50% (IC₅₀) d'un extrait est petite, plus l'extrait est actif.

De même, l'extrait de racines à l'acétate d'éthyle (IC₅₀ : (72 ± 0.13) µg/mL) a été plus actif que l'extrait d'écorce de tronc à l'acétate d'éthyle (IC₅₀ : (114 ± 12.6) µg/mL).

L'examen des IC₅₀ montre que les extraits à l'acétate d'éthyle présentaient un potentiel antiradicalaire plus puissant que les extraits au méthanol malgré que

les derniers contenaient beaucoup plus de composés polyphénoliques (tableau VIII). Ce résultat confirme les données de la littérature selon lesquelles il n'existerait pas de relation entre l'effet antiradicalaire et la composition quantitative en polyphénols totaux [90]. L'aptitude à piéger les radicaux libres ainsi que l'activité antiradicalaire des polyphénols dépendraient de l'arrangement des groupements fonctionnels par rapport à la structure du noyau. De plus, selon des auteurs tels que CAO *et al* (1997) [91] ainsi que SHEKHER PANNALA *et al* (2001) [92], le nombre et la configuration des groupes hydroxyl donneurs d'hydrogène constitueraient les principales influences du potentiel antiradicalaire des composés polyphénoliques.

Les extraits au dichlorométhane de feuilles, d'écorces et de racines ont montré un effet inhibiteur dose-dépendant avec des IC_{50} respectives de $148,5 \pm 6,3 \mu\text{g/mL}$, de $57.6 \pm 0.68 \mu\text{g/mL}$ et de $51.8 \pm 0.06 \mu\text{g/mL}$. Ces résultats suggéraient que les extraits dichlorométhaniques d'écorce et de racines étaient ceux qui présentaient les meilleurs potentiels antiradicalaires.

Ces résultats corroborent ceux trouvés par SORO *et al* (2005) [88]. Cet auteur a trouvé (par autobiographie au DPPH) un effet antiradicalaire plus marqué avec les extraits au dichlorométhane de racines et d'écorces de tronc.

Nos meilleurs résultats ($72 \pm 0.13 \mu\text{g/mL}$, $57.6 \pm 0.68 \mu\text{g/mL}$ et $51.8 \pm 0.06 \mu\text{g/mL}$) comparés à l'effet de la quercétine (IC_{50} : $2.25 \pm 0.001 \mu\text{g/mL}$) pris comme référence, restaient cependant significativement faibles ($p=0,00004$). Néanmoins, nous pourrions dire que nos extraits possèdent un potentiel antiradicalaire non négligeable. En effet, nos extraits étaient des extraits totaux, non purifiés alors que la quercétine est un composé purifié.

Les extraits qui ont présenté de meilleurs potentiels antiradicalaires étaient les extraits au dichlorométhane ($57.6 \pm 0.68 \mu\text{g/mL}$ et $51.8 \pm 0.06 \mu\text{g/mL}$) et à l'acétate d'éthyle ($72 \pm 0.13 \mu\text{g/mL}$). Cela pourrait s'expliquer par le fait que ces extraits contenaient de nombreux polyphénols (flavonoides, coumarines, tannins) dans l'acétate d'éthyle. Il pourrait également s'agir de l'effet de polyphénols flavonoides liposolubles [8] ou leurs aglycones dans les extraits au dichlorométhane.

En effet, dans de nombreuses études [8, 34, 93, 94], les auteurs liaient l'effet antiradicalaire des extraits de plantes aux polyphénols. L'activité antiradicalaire des polyphénols serait due à leur propriété oxydoréductrice qui jouerait un rôle

important dans l'adsorption, la capture, la neutralisation des radicaux libres ou dans la décomposition des peroxydes [93].

Les espèces chimiques oxydatives (radicaux libres) sont des formes hautement réactives qui sont capables de réagir avec n'importe quelle structure cellulaire (glucides, protéines et lipides). La présence en excès de ces espèces chimiques dans les cellules de l'organisme définit le stress oxydatif.

Les dommages oxydatifs des lipides (peroxydation lipidique) perturberont le fonctionnement des membranes, provoqueront des dépôts de lipides oxydés dans les vaisseaux (formation de plaques d'athéromes) ou dans les tissus âgés et généreront des dérivés carcinogènes.

L'oxydation des protéines dérèglera les signaux cellulaires de prolifération ou de défense, inhibera des enzymes et générera des dépôts responsables d'amyloïdose et de fibrose [95].

Les principales et les plus redoutables cibles des formes oxydatives sont les acides nucléiques (ARN, ADN). Les attaques radicalaires de l'ADN seront sources de rupture et de mort cellulaire, mais surtout de mutations carcinogènes [95]. La rupture du brin conduit à l'activation et à l'augmentation de la glycosylation du matériel chromosomique avec modification de l'expression du gène attaqué (CERUTTI *et al*) [33]. Lorsqu'il s'agit d'oncogènes, ou d'anti-oncogènes, ou de gènes réparateurs d'ADN ou tout autre gène impliqué dans la cancérogénèse, il apparaît un néoplasme.

Ainsi, le stress oxydant sera la principale cause initiale du cancer, de la cataracte, de la sclérose latérale amyotrophique. Le stress oxydant peut aussi être un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles tels que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires [95].

De ce qui précède, nos extraits potentiellement antiradicalaires pourraient être intéressants dans la prévention ou dans la réduction de leurs pathogénies.

En effet, de nombreuses études ont montré que les composés anti-oxydants inhibent de nombreux cancers [34-38]. La réduction du risque de cancer de prostate est associée à la prise régulière de légumes de couleur jaune très riches en caroténoïdes et de tomates qui sont riches en caroténoïdes lycopène [40]. La consommation des légumes du genre *Allium* (oignons, ails) riche en composés anti-oxydants organosulfurés et du sélénium [42] réduirait le risque de cancers de la prostate et des cancers gastrointestinaux [39, 41].

Les polyphénols contenus dans le thé vert réduiraient significativement le risque de survenue des cancers du sein et de l'ovaire chez les sujets asiatiques [43, 44]. Certains flavonoides telles que la quercétine, la curcumine, le resveratrol et des cathéchines inhibent la carcinogénèse sur des modèles cellulaires et animaux [45, 46].

IV.5. L'effet anti-lipooxygénase des extraits d'*E. senegalensis* DC

Les extraits au dichlorométhane de racine ($220,3 \pm 1.30 \mu\text{g/mL}$) et d'écorces de tronc ($214 \pm 3,8 \mu\text{g/mL}$) ainsi que les extraits à l'acétate d'éthyle des racines ($74,14 \pm 2,31 \mu\text{g/mL}$) et d'écorces de tronc ($49,54 \pm 1,2 \mu\text{g/mL}$) d'*E. senegalensis* DC ont montré une inhibition dose-dépendante de la 12-lipooxygénase I-B. Par contre, les extraits méthanoliques de feuilles, de racines et d'écorces de tronc ont présenté des effets inhibiteurs non dose-dépendants sur la lipooxygénase.

Ces résultats suggèrent que nos extraits contiennent des composés capables d'inhiber et qualitativement et quantitativement la 12-lipooxygénase.

Les extraits à l'acétate d'éthyle ont présenté des potentiels inhibiteurs largement supérieurs à ceux d'extraits au dichlorométhane. L'extrait à l'acétate d'éthyle des écorces de tronc a présenté le meilleur potentiel inhibiteur de la 12-lipooxygénase I-B avec une IC_{50} de $49,54 \pm 1,2 \mu\text{g/mL}$

TOGOLA, A *et al* (2009) [96] ont trouvé des tendances inversées aux nôtres. L'auteur a trouvé la majorité des effets anti-lipooxygénase dans l'extrait dichlorométhanique de racines ($14 \pm 1 \mu\text{g/mL}$) qui d'ailleurs étaient meilleurs que les nôtres ($74,14 \pm 2,31 \mu\text{g/mL}$ et $49,54 \pm 1,2 \mu\text{g/mL}$). Les effets de nos extraits restent également faibles par rapports à ceux trouvés par le même auteur avec un composé purifié, la quercétine ($\text{IC}_{50} : 30 \pm 2 \mu\text{M}$).

Néanmoins, nos extraits à l'acétate d'éthyle présentaient de très bons effets anti-lipooxygénase bien que toujours à l'état d'extraits totaux.

Les caractérisations phytochimiques (réaction colorée et CCM) des extraits à l'acétate d'éthyle ont signalé la présence en abondance de flavonosides et de tannins dans les écorces de tronc et la présence peu abondante de flavonoside dans les racines. Ainsi, il serait possible que la présence (dans les écorces) de flavonosides et de tannins de façon contributive soit responsable de la forte activité inhibitrice de la lipooxygénase (synergie d'action).

Ces résultats sont en accord avec les données d'autres auteurs qui ont mis en évidence les effets inhibiteurs des polyphénols (tannins, flavonoides) sur la lipooxygénase. En effet, SCHEWE *et al* (2001) [97] ont rapporté que les procyanidines et la (-) épicatechine (isolées des noix de cacao) induisent une inhibition dose-dépendante de la 15-lipooxygénase-1 de lapin. SHUBERT *et al* (1999) [98] ont montré que les flavonoides extraits des huiles de racines de *Punica granatum* inhibent à 81% la lipooxygénase de soja.

Les lipooxygénases sont une famille d'enzymes retrouvées dans de nombreux tissus végétaux et animaux. Elles possèdent un domaine à fer non-hémunique qui leur sert de site catalytique des réactions stéréo et régiospécifiques de dioxygénation des acides gras polyinsaturés qui possèdent un motif 1,4-pentadiène [64]. Dans notre étude, nous avons utilisé comme modèle, la 12-lipooxygénase de soja (12-lipooxygénase I-B) dont la séquence d'acides aminés présenterait une similitude de 25% avec celui de la 15-lipooxygénase-1[99] impliquée dans la croissance des cellules de cancer de prostate et des cellules de cancer colorectal [3].

En effet, KELAVKAR, U *et al.* (2001) [3] ont démontré que la 15-lipooxygénase-1 était surexprimée dans les cellules cancéreuses colorectales et de la prostate. KIMITA H *et al* (1999) [100] ainsi que NIE *et al* (2001) [15] ont montré que l'inhibition de la 15-lipooxygénase induit la mort de ces cellules cancéreuses par apoptose.

De plus, des inhibiteurs de la 15-lipooxygénase ont été proposés dans le traitement de certains cancers (brevet US2005070588) [96].

Ainsi, nous fournissons là des données intéressantes pour la recherche de principes chimiques inhibiteurs des cellules de cancers de la prostate et des cellules de cancers colorectaux.

IV.6. Les effets antiradicalaires et anti-lipooxygénase des extraits d'*E. senegalensis* DC

L'extrait à l'acétate d'éthyle d'écorce de tronc qui présentait le meilleur effet inhibiteur était non antiradicalaire (IC_{50} -LOX : $49,54 \pm 1,12$ *versus* IC_{50} -DPPH : $114 \pm 12,6$).

Ces résultats suggèrent qu'il pourrait ne pas exister une relation entre l'action antiradicalaire et l'action inhibitrice de la lipooxygénase. Ces mêmes observations ont été retrouvées dans les études de WANGENSTEEN *et al* (2004) [101], de GUNDERSEN LL *et al* (2003) [102], BRÅTHE A *et al* (2002) [103] qui ont indiqué qu'il n'y a pas de corrélation entre les deux activités. NOGUCHI N *et al* (2002) [104] ont montré que ce manque de corrélation pourrait suggérer que les composés inhibiteurs de la lipooxygénase agiraient en se fixant directement sur l'enzyme.

L'extrait à l'acétate d'éthyle de la racine était aussi antiradicalaire qu'inhibiteur de la 12-lipooxygénase de soja (IC_{50} -LOX : $72,14 \pm 2,31$ *versus* IC_{50} -DPPH : 72.7 ± 0.13). Ces résultats suggèrent que l'inhibition de la lipooxygénase aurait nécessité une donation d'atome d'hydrogène. En effet, au cours de la réaction de peroxydation par la lipooxygénase, l'acide gras polyinsaturé doit perdre un atome d'hydrogène puis se réarranger avant de fixer le radical dioxygène [105]. La donation de proton consisterait à compenser cette perte d'hydrogène et de bloquer alors l'étape de dioxygénation.

Toutefois ces deux résultats suggèrent que les extraits à l'acétate d'éthyle de racines et d'écorces de tronc contiennent des composés phytochimiques différents. Cela a été mis en évidence dans les caractérisations chimiques qui signalaient la présence de flavonosides dans l'écorce de tronc et des acides phénoliques dans les racines.

Conclusion

Notre étude portait sur *E. senegalensis* DC (*Fabaceae*) une plante médicinale du Burkina Faso. Les feuilles, les racines et les écorces de tronc de la plante concentraient de nombreux groupes phytochimiques : les flavonoides, les tanins, les coumarines, les saponosides et les stérols et triterpènes.

Nous avons pu mettre en évidence les effets antiradicalaires et les effets anti-lipooxygénase des extraits au dichlorométhane, à l'acétate d'éthyle, au méthanol et les extraits aqueux.

Globalement, les extraits de feuilles étaient moins actifs que les extraits des autres parties de plantes. Les extraits au dichlorométhane et l'acétate d'éthyle ont présenté les meilleurs potentiels antiradicalaires et inhibiteurs de la 12-lipooxygénases.

Les extraits au dichlorométhane ont présenté de puissants effets antiradicalaires sur le DPPH mais sont restés faiblement inhibiteurs de la 12-lipooxygénase. Les extraits à l'acétate d'éthyle possédaient les types d'effets avec une prédominance de l'effet inhibiteur de la 12-lipooxygénase de soja.

La lipooxygénase est une enzyme oxydative dont la surexpression dans les cancers de la prostate et dans les cancers colorectaux est un facteur de pathogénie. Cette enzyme constitue donc une cible pharmacologique efficace dont l'inhibition se présente comme une bonne stratégie anticancéreuse.

Ainsi, les effets inhibiteurs sur l'enzyme et antiradicalaires de nos extraits totaux suggèrent que nous fournissons par cette étude des données intéressantes dans la recherche des principes chimiques anticancéreux.

Perspectives de l'étude

Cette étude, au regard des résultats mérite d'être poursuivie. Nous avons en perspectives de :

- ✓ Fractionner les extraits les plus actifs puis les tester à nouveau
- ✓ Rechercher des effets antiprolifératifs des extraits sur des lignées de cellules cancéreuses de types : *PC-3* (cancer de la prostate), *LoVo* (cancer colorectal) et *A549* (cancer des poumons non à petites cellules)
- ✓ Identifier et isoler le ou les principe chimique à l'origine d'effet antiprolifératif
- ✓ Elucider le mécanisme d'action moléculaire anticancéreuse du ou des principes chimiques actifs
- ✓ Effectuer des pharmacomodulations afin de déterminer les pharmacophores et les éventuels supports de toxicité
- ✓ Déterminer les toxicités des principes chimiques d'intérêt
- ✓ Rechercher *in vivo* les effets anticancéreux des principes chimiques intéressants

Références

[1]. VALKO, M; RHODES C.J; MONCOLA, J ; IZAKOVIC, M ; MAZUR, M.

Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chemico-Biol Interact 160(2006) 1-40

[2]. AMES, B. N; GOLD, L. S. and WILLETT, W. C. *The causes and prevention of cancer.*

Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1995, **92**, 5258–5265.

[3]. KELAVKAR, U. P; NIXON J; COHEN C. (2001) *Overexpression of 15-lipoxygénase-1 (15-LO-1) in PC-3 human prostate cancer cells increases tumorigenesis.* Carcinogenesis, 22: 1765-1773

Mis en forme : Anglais (États Unis)

[4] Organisation Mondiale de la Santé (OMS). 2002. *Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002-2005.* WHO/EDM/TRM/2002, Genève, 65 p.

Mis en forme : Français (France)

[5]. MANN, J. (2002) *Natural products in cancer chemotherapy: past, present and future.*

Nat. Rev. Cancer. 2. 143-148.

Mis en forme

Mis en forme : Anglais (États Unis)

[6]. GNOULA, C., MEGALIZZI, V., DE NEVE, N., SAUVAGE.S., GUISSOU.P., DUEZ, P., DUBOIS, J., INGRASSIA, L., LEFRANC. F., KISS, R., MIJATOVIC, T. (2008). *Balanitins 6 and 7: Diosgenyl Saponins Isolated from Balanites aegyptiaca Del. Display Significant Anti-Tumor Activity In Vitro and In Vivo.* Int J. Oncology **32**, 5-15.

Mis en forme : Anglais (États Unis)

[7]. KOUAME, J. *Etudes des propriétés cytotoxiques et antiradicalaires d'extraits de feuilles et de galls de guiera senegalensis J. F. Gmel (Combretaceae) (Burkina Faso).* Thèse pharm. UFR/SDS. Université de Ouagadougou. Année 2009; p.117

[8]. NACOUUMA, O.G., 1996. *Plantes médicinales et pratiques médicales traditionnelles au Burkina Faso. Cas du plateau central.* Thèse d'état. Université de Ouagadougou, Tome I, 320p, Tome II, 261p.

[9]. ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE. 2008. *Cancer. Facts sheet N°297.*

Disponible sur « G:\WHO Cancer.mht » (consulter le 29/02/2011)

[10]. AXIOS INTERNATIONAL 2009. *Le traitement du cancer et les soins dans les pays en développement.* Disponible sur « [http:// : www.axios.international/cancer dans les pays en developpement.pdf](http://www.axios.international/cancer_dans_les_pays_en_developpement.pdf) » (consulter le 29/04/2010)

[11]. FOFANA, S. *Prise en charge pharmacothérapeutique des patients atteints de cancers au CHU Yalgado OUEDRAOGO de Ouagadougou (Burkina Faso)*. Thèse pharm. UFR/SDS. Université de Ouagadougou. Année 2010; p.117

[12]. FILLEUR S ; COURTIN A.; AIT-SI-ALI S; GUGLIELMI J; MERLE C; HAREL-BELLAN A; CLEZARDIN P; CABON F. (2003). *SiRNA-mediated inhibition of vascular endothelial growth factor severely limits tumor resistance to antiangiogenic thrombospondine-1 and slows tumor vascularisation and growth* . Cancer Res. 63: 3919-3922

[13]. PIDGEON GP, KANDOUZ M, MERAM A, HONN KV. *Mechanisms controlling cell cycle arrest and induction of apoptosis after 12-lipoxygenase inhibition in prostate cancer cells*. Cancer Res, (2002). 62(9): 2721-2727.

[14]. MEYERS CE; GHOSH J. *Lipoxygenase inhibition in prostate cancer*. Eur Urol, 1999. 35(5-6): 395-398.

[15]. NIE D; CHE M; GRIGNON D ; TANG K ; HONN KV . *Role of eicosanoids in prostate cancer progression*. Cancer Metastasis Rev. (2001). 20 (3-4): 195-206

[16]. TOGOLA A; INGVILD A; THEIS A; DIALLO D; PAULSEN BS. *Ethnopharmacological uses of Erythrina senegalensis: a comparison of three areas in Mali, and a link between traditional knowledge and modern biological science*. J Ethnobiol Ethnomed (2008) 4:6

[17]. SAIDU, K; ONAH, J; ORISADIPE, A; OLUSOLA, A; WAMBEBE, C; GAMANIEL, K. *Antiplasmodial, analgesic, and anti-inflammatory activities of the aqueous extract of the stem bark of Erythrina senegalensis*. J Ethnopharmacol 71 (2000) 275-280

Mis en forme : Anglais (États Unis)

[18]. ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE. *New cancer cases in Burkina Faso projection for 2002*. Disponible sur< [http://www.who.int/infobase/graphimages/2030Deaths_-448943672 ESM_Large.png](http://www.who.int/infobase/graphimages/2030Deaths_-448943672_ESM_Large.png), '1024', '1'> (consulté le 19/02/2009)

Mis en forme : Anglais (États Unis)

[19]. MARTINEZ-CAYUELA, M. (1995). *Oxygen free radicals and human disease*. Biochimie 77, 147 -161

[20]. A. BIYI, N. BENRAIS, A. ALBOUZIDI, S. BENOMAR. *Mécanisme de la carcinogenèse à la lumière des données de la biologie moléculaire*. Méd. du Maghreb 1998 n°69

[21]. W. CAVENEE, R. WHITER. *Anomalies génétiques et cancers*. Pour la science. 1995, 211, pp 60 - 88.

[22]. SETON-ROGER, S. *Tumor microenvironment: external influences*. Nat Rev Cancer 9,845-845 (December 2009)

[23] BOVERIS A; CHANCE B. (1973). *The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen*. Biochem J 134:707-16.

[24] CROSS CE, HALLIWELL B, BORISH ET. *Oxygen radicals and human disease*. Annals Intern Med 1987; 107: 526-45.

[25]. BEAUDEUX JL, VASSON MP. *Sources cellulaires des espèces réactives de l'oxygène*. In : Delattre JB, Bonnefont-Rousselot D, eds. *Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques*. Paris : Lavoisier, 2005 : 45-86.

[26]. RICE – EVANS CA, MILLER NJ, PAGANGA G. (1996) *Structure – antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids*. Free Radic. Biol. and Med.. 20 (7): 933-956.

Mis en forme : Français (France)

[27]. WANG H, NAIR MG, STRASBURG GM, CHANG YC, BOOREN AM, GRAY JI, DEWITT DL.. (1999). *Antioxidant and anti-inflammatory activities of anthocyanins and their aglycon, cyanidin, from tartcherries*. J Nat Prod. 62 (2): 294-296. Erratum in: J Nat Prod 1999 May; 62 (5):802.

[28]. ALAOUI K, LAGORCE JF, CHERRAH Y, HASSAR M, AMAROUC H, ROQUEBERT J. *Analgesic and anti-inflammatory activity of saponins of arginia Spinoza*. Ann. Pharm. Fr. 1998. 56 (5): 220-8.

[29]. ARUOMA OI. *Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and diseases*. J Am Chem Soc. 1998. 75: 199

[30]. McCALL MR, FREI B. (1999). *Can antioxidant vitamins materially reduce oxidative damage in humans?* Free Rad Biol Med;26:1034 –53.

[31]. DIZDARAGLU M. (1991). *Chemical determination of free radical-induced damage to DNA*. Free Rad Biol Med 1991;10:225– 42.

[32]. HENLE ES, ROOTS R, HOLLEY WR, CHATTERJEE A. *DNA strand breakage is correlated with unaltered base release after gamma irradiation*. Radiat Res 1995;143:144 – 50.

[33]. CERUTTI. PA. *Prooxidant states and tumor promotion*. Sciences 227; 375-381

[34]. LANGSET, L. (1995). *Oxidants, Antioxidants and Disease Prevention*. ILSI

Europe Concise Monograph Series. Brussels: ILSI Europe/ILSI Press.

Mis en forme : Français (France)

[35]. HECHT, S. S., KENNEY, P. M., WANG, M., TRUSHIN, N., AGARWAL, S., RAO, A. V., & UPADHYAYA, P. (1999). *Evaluation of butylated hydroxyanisole, myoinositol, curcumin, esculetin, resveratrol, and lycopene as inhibitors of benzo[a]pyrene plus 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone-induced lung tumorigenesis in A/J mice*. *Cancer Lett* 137, 123–130.

[36]. CERUTI, A., CERUTI, M., & VIGOLO, G. (1986). Natural antitumor compounds of vegetable origin. *G Batteriol Virol Immunol* 79, 187–98 (Italian).

[37]. EBERHARDT, M.V ; LEE, C.Y ; LUI, R.H. (2000). *Antioxidant activity of fresh apples*. *Nat.* 405, 903– 904.

[38]. ABDULLA, M; GRUBER, P. (2000). *Role of diet modification in cancer prevention*. *Biofactors* 12, 45– 51.

[39]. GREENWALD P, CLIFFORD CK, MILNER JA. (2001). *Diet and cancer prevention*. *Eur J of Cancer* 37:948–65.

[40] SMITH-WARNER SA, GIOVANNUCCI E. *Fruit and vegetable intake and cancer*. In: HEBER D, BLACKBURN GL, GO VLW, editors. *Nutritional Oncology*. San Diego: Academic Press; 1999. p. 153–93.

[41]. STEINMETZ, K.A; POTTER, J.D. *Vegetables, fruit and cancer prevention: a review*. *J Am Diet Assoc* 1996; 96:1027–39.

[42] BOREK C. Antioxidant Health Effects of Aged Garlic Extract. *J Nutrition* 2001;131:1010S– 5S.

[43] WU AH, YU MC, TSENG CC, HANKIN J, PIKE MC. (2003) *Green tea and risk of breast cancer in Asian Americans*. *Int J Cancer* ;106: 574–9.

[44] ZHANG M; BINNS CW; LEE AH. (2002) *Tea consumption and ovarian cancer risk: a case control study in China*. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* ;11: 713–8.

[45]. BOREK C. *Antioxidants and Cancer*. *Sci. Med* 1997; 4:51–62.

[46] **BOREK C.** *Dietary Antioxidants and Human Cancer*. Integrative Cancer Therapies 2004; 3:333–41.

[47]. **JERZY JANKUN, STEVEN H. SELMAN AND EWA SKRZYPCZAK-JANKUN**
Control of the Aggressive Capacity of Prostate Cancer by Nutritional Inhibitors of Urokinase and Lipoxigenase. Int J Hum Genet, 3(2): 127-134 (2003)

[48]. **LANEFELT F, MARTINSSON A (1985)**. Ethanol dependent interaction between prostaglandins and lipoxigenase products in human peripheral lymphocytes.
Acta Pharmacol Toxicol (Copenh), **56(2)**: 149-153.

[49]. **NEEDLEMAN P; TURK J; JAKSCHIK BA; MORRISON AR, LEFKOWITH JB (1986)**.
Arachidonic acid metabolism. *Annu Rev Biochem*, **55**: 69-102.

[50]. **SKRZYPCZAK-JANKUN E, MCCABE NP, SELMAN SH, JANKUN J (2000)**. *Curcumin inhibits lipoxigenase by binding to its central cavity: Theoretical and X-ray evidence*. Int J Mol Med, **6(5)**: 521-526.

[51]. **LOUDARD, S.** *Impact de la biologie cellulaire sur le ciblage thérapeutique dans les cancers*. Cours de cancérologie médicale HEGP. Faculté Necker, Paris V. Presse universitaire. 98p. disponible sur <[http:// www. univ-paris5_facultéNecker/PU/cours de cancérologie médicale.pdf](http://www.univ-paris5-facultéNecker/PU/cours_de_cancérologie_médicale.pdf)>

[52]. **ETIENNE, J ; CLAUSER, E.** *Biochimie génétique/Biologie moléculaire : Cours et exos*. Collection Abrégé. 7^{ème} édition. Masson. Paris 2001.

Mis en forme : Français (France)

[53]. **BISHOP, JM (1987)**. *The molecular genetics of cancer*. Sciences. 235 : 308-311

Mis en forme

[54]. **GEORGE W. SLEDGE JR. (2005)** *What Is Targeted Therapy?* J Clin Oncology. 23, 8 (March 10): pp 1614-1615

[55]. **ESPINOSA, E; ZAMORA, P; FELIU, J; GONZALEZ-BARON, M**
Classification of anticancer drugs, a new system based on therapeutic targets. Cancer Treat. Rev **(2003) 29(6)**, 515-523.

[56] **NEWMAN, D. J; CRAGG, G. M; SNADER, K. M.** (2000). *The influence of natural products on drug discovery*. Nat. Prod. Rep. **17**, 215–234.

[57] **MANN, J.** (2002). *Natural products in cancer chemotherapy: past, present and future*. Nat Rev Cancer **2(2)**, 143-148.

- [58]. **HANDE, K. R.** (1998). *Etoposide: four decades of development of a topoisomerase II inhibitor*. *Eur. J. Cancer*, **34**, 1514–1521
- [59] **REDDY, L., ODHAV, B., BHOOL, K., D.** (2003). *Natural products for cancer prevention: a global perspective*. *Pharm. & Therap.* **99**, 1-13.
- [60]. **HOFLE, G.** *Structure elucidation of epothilones*. *Angew. Chemie* **35**, 1567–1569 (1996).
- [61]. **KERHARO J ; ADAM J.G.** (1974). *The senegalese Traditional pharmacopoeia : medicinal and toxic plants*. Ed. vigot Frères, Paris, p545
- [62] **OLIVER-BEVER, B.** *Medicinal plants in tropical West Africa*; Cambridge University Press: New York, p 100 (1986).
- [63] **ADJANOHOUN, E. J., AKÉ A. L.** (1986). *Contribution aux études ethnobotaniques et floristique au togo. Médecine Traditionnelle et Pharmacopée*. Paris, ACCT.
- [64]. **DALZIEL JM (1948).** *Useful plants of West Tropical Africa*. 2nd ed. Crown Overseas Agents for Colonies, London, p 362
- [65]. **IWU M.M** (1993) *Hand Book of African Medicinal Plants*. CRC, London, pp 179–180
- [66] **TAYLOR RB, CORLEY DG, TEMPESTA MS, FOMUM ZT, AYAFOR JF, WANDJI J, IFEADIKE PN: (1986).** *Erythrina studies. Part 7. 2,3-Dihydroauriculatin, a new prenylated isoflavanone from Erythrina senegalensis. Application of the selective INEPT technique*. *J. Natural Prod* **49**(4):670-673.
- [67] **LINUMA M, OKAWA Y, TANAKA T, HO F, KOBAYASHI Y, MIYAUCHI K:** *Anti-oral microbial activity of isoflavoloids in root bark of Ormosia monosperma*. *Phytochem* 1994, **37**(3):889-891.
- [68] **WANJALA CCW, JUMA BF, BOJASE G, GASHE BA, MAJINDA RRT:** *Erythrinaline alkaloids and antimicrobial flavonoids from Erythrina latissima*. *Planta Medica* 2002, **68**:640-642.
- [69] **OH WK LEE, H S, AHN, S C, AHN, J S, MBAFOR, J T, WANDJI J, FOMUM Z T, CHANG H K, KIM Y H (1999).** *Prenylated isoflavonoids from Erythrina senegalensis*. *Phytochem* 1999, **51**(8):1147-1150

- [70] FOMUM ZT AYAFOR, J. F., WANDJI, J. (1987). Erythrina studies. Part 10. Senegalensein, a novel prenylated flavanone from *Erythrina senegalensis*. *J Natural Prod* 50(5):921-922.
- [71] MERAGELMAN KM, MCKEE TC, BOYD MR: (2001) anti-HIV prenylated flavonoids from *Monotes africanus*. *J Natural Prod* 64:546-548
- [72] SALVATORE M, KING AB, GRAHAM AC, ONISHI R, BARTIZAL KF, ABRUZZO GK, GILL CJ, RAMJIT HG, PITZENBERGER SM, WITHERUP KM. (1998). Antibacterial activity of *Lonchocarpus* A. *J Natural Prod* 61:640-642
- [73] WANDJI J FOMUM Z T, TILLEQUIN F, BAUDOUIN G, KOCH M, SEGUIN E, KOCH M: (1994). Erythrina studies. Part 24. Two isoflavones from *Erythrina senegalensis*. *Phytochem* 1994, 35(1):245-248.
- [74] NKENGFAK AE AZEBAZE A G B, WAFFO A K, FOMUM Z T, MEYER M, HEERDEN R F (2001): *Cytotoxic isoflavones from Erythrina indica*. *Phytochem*, 58:1113-1120.
- [75] MATSUDA H, YOSHIDA K, MIYAGAWA K, ASAO Y, TAKAYAMA S, NAKASHIMA S, XU F, YOSHIKAWA M (2007): *Retenoids and flavonoids with anti-invasion of HT1080, anti-proliferation of U937, and differentiation-inducing activity in HL-60 from Erycibe expansa*. *Bioorg Med Chem* 2007, 15(3):1539-1546.
- [76] HAN XH, HONG SS, HWANG JS, JEONG SH, HWANG JH, LEE MH, LEE MK, LEE D, RO JS, HWANG BY: (2005) *Monoamine oxidase inhibitory constituents from the fruit of Cudrania tricuspidata*. *Arch. Pharm Res* 28(12):1324-1327.
- [77] WANDJI J AWANCHIRI S S, FOMUM Z T, TILLEQUIN F, LIBOT F: (1995) *Isoflavones and alkaloids from the stem bark and seeds of Erythrina senegalensis*. *Phytochem* 39(3):677-681.
- [78] NIWA T, MURAKAMI K, OHTAKE T, ETOH H, SHIMIZU A, SHIMIZU Y, KATO Y, TANAKA (2002). *Peroxynitrite scavenging activities of aromatic compounds isolated from Konnyaku, Amorphophallus konjac K. Koch*. *Bios. Biotech Biochem* 2002, 66(6):1386-1388.
- [79] UDEM S. C.; OBIDOA O; I. U. ASUZU. *Acute and chronic toxicity studies of Erythrina senegalensis DC stem bark extract in mice*. *Comp Clin Pathol*. April 2009
- [80]. CIULEI, I. (1982). *Methodology for analysis of vegetable drugs*. Ministry of Chemical industry, Bucharest, P.67.

- [81]. KIM, KS ; LEE, S ; LEE, YS; YUNG, SH; PARK Y; SHIN SH; KIM, BK. (2003). *Anti-oxidant activities of the extracts from the herb of Artemisia apacea*. J. ethnopharmacol. 85: 69-72
- [82]. MOLYNEUX, P. (2004) *The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimation antioxidant activity*. Songklanakarin J. Sci. Teschnol. 26 (2): 211 - 219
- [83]. LYCKANDER, I.M., MALTERUD, K.E. (1992). *Lipophilic flavonoids from Orthosiphon spicatus as inhibitors of 15-lipoxygenase*. Acta Pharmaceutica Nordica 4, 159-166.
- [84] REYNOLDS T (2002). Hemlock alkaloids from Socrates to poison aloes. Life Sciences 70 (9): 1035-1040
- [85]. GOMES C S F; SILVA J B P, (2007). Minerals and clay minerals in medical geology. Applied Clay Science, 36 (1-3): 4-21
- [86]. PIETERS L; VLIETINCK AJ; (2005). *Bioguided isolation of pharmacologically active plant components, still a valuable strategy for the finding of new lead compounds? 100th volume special section: perspective of ethnopharmacology*. Ethnopharmacol. 100 (1-2): 57-60
- [87]. BOUDET A M. (2007). *Evolution and current status of research in phenolic compounds*. Phytochem 68 (22-24): 2722-2735
- [88]. SORO D ; KONE M W ; KAMANZI K. (2010). *Evaluation of Antimicrobial and Free Radical Scavenging Activities of Some Bioactif Taxons from Côte D'ivoire*. Eur J Sci Res. . 40 (2) pp.307-317
- [89]. MONTALLEB, G; HANACHI, P; KUA S H; FAUZIA, O; ASMAH R. (2005). *Evaluation of phenolic content and total antioxidant activity in Berberis vulgaris fruit extract*. J. Bio. Sci.5(5):618 – 653
- [90]. GALVES, M; MARTIN-CORDERO C; HOUGHTON, P.J; AYUSO M.J (2005). *Antioxidant activity of methanol extracts obtained from Plantago speces*. J. Agric. Food Chem 53 (6): 1927-1933
- [91]. CAO, G ; SOFIC, E ; PRIOR, RL. (1997). *Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships*. Free Radic. Biol. Med. 22: 749 - 760
- [92] SHEKHER PA; CHAN TS; O'BRIEN PJ; RICE-EVANCE CA. (2001). *Flavonoids b-riing chemistry and antioxidant activity: fast reaction kinetics*. Biochem. Biophys. Res. Comm. 282. 1161-1168

- [93]. KAROU, D; DICKO, M.H; SIMPORE, J; TRAORE A.S. (2005). *Antioxidant and antibacterial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of Burkina Faso*. Afr. J. Biotech. 4 (8): 823-828
- [94]. PAIVA, S. A; RUSSELL, R. M. (1999). *Beta-carotene and other carotenoids as antioxidants*. J Am Coll Nutr 18, 426– 433.
- [95]. COOKE M.S; EVANS M.D; DIZDAROGLU M; LUNEC J. (2003). *Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease*, FASEB J. 17 1195–1214.
- [96]. TOGOLA, A; HEDDING, B; THEIS, A; WANGENSTEEN, H; RISE, F; PAULSEN, B.S; DIALLO, D; MALTERUD, K.E. (2009), *15-Lipoxygenase inhibitory effects of prenylated flavonoids from Erythrina senegalensis*. *Planta Med* **75** (10), 1168-1170
- [97]. SCHEWE T; SADIK C; KLOZT LO; YOSHIMOTO T; KUHN H; SIES H. (2001). *Polyphenols of cocoa: inhibition of mammalian 15-lipoxygenase*. Biol Chem 382(12): 1687-1696
- [98]. SCHUBERT SY; LANSKY EP; NEEMAN I. (1999). Antioxidant and eicosanoids enzyme inhibition properties of pomegranate seed oil and fermented juice flavonoids. J Ethnopharmacol. 66(1): 11-17
- [99]. BOYINGTON JC; GAFNEY BJ; AMZEL LM. (1993). Structure of soybean lipoxygenase-1. Biochem Soc Trans. 21 (Pt 3) (3): 744-748
- [100]. KIMITA H; GELLER M; ELING T. (1998). Expression of 15-lipoxygenase by human colorectal carcinoma Caco-2 cells during apoptosis and cells differentiation J. Biol. Chem, 273: 21569-21577
- [101]. WANGENSTEEN H; MIRON A; ALAMGIR M; RAJIA S; SAMUELSEN AB; MALTERUD KE (2006). *Antioxidant and 15-lipoxygenase inhibitory activity of rotenoids, isoflavones and phenolic glycosides from Sarcolobus globosus*. Fitoterapia 77 290–295
- [102]. GUNDERSEN, L.L., MALTERUD, K.E., NEGUSSIE, A.H., RISE, F., TEKLU, S., ØSTBY, O.B., (2003). *Indolizines as novel potent inhibitors of 15-lipoxygenase*. Bioorg & Med Chem 11, 5409–5415.
- [103]. BRÅTHE A, ANDRESEN G, GUNDERSEN LL, MALTERUD KE, RISE F. (2002). *Antioxidant activity of synthetic cytokinin analogues: 6-alkynyl- and 6-alkenylpurines as novel 15-Lipoxygenase inhibitors*. Bioorg Med Chem. May; 10(5):1581-6.

Code de champ modifié

Code de champ modifié

Code de champ modifié

Code de champ modifié

Code de champ modifié

Code de champ modifié

[104]. SENDOBRY SM; CORNICELLI JA.; WELCH K; BOCAN T; TAIT B.; TRIVEDI BK.; COLBRY N; DYER RD; FEINMARK SJ.; ALAN D. (1997) *Attenuation of diet-induced atherosclerosis in rabbits with a highly selective 15-lipoxygenase inhibitor lacking significant antioxidant properties.* Br J Pharmacol 120, 1199 -1206

[105]. HYUN PK, KUN HS, HYEUN WC, SAM SK. (2004). *Anti-inflammatory Plant Flavonoids and Cellular Action Mechanisms.* J Pharmacol Sci 96, 229 – 245

ANNEXES

I. PREPARATION DE QUELQUES REACTIFS DE CARACTERISATION PHYTOCHIMIQUE

1. Chlorure ferrique 2% (m/v)

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

2. Réactif de Dragendorff

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

3. Réactif de Meyer

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

4. Réactif de Shibata

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

5. Anisaldéhyde sulfurique

Mélanger dans 85mL d'éthanol absolu 0,5mL d'anisaldéhyde et 5mL d'acide sulfurique concentré.

II. EVALUATION DE L'EFFET ANTIRADICALAIRE DES EXTRAITS D'*E. senegalensis* DC

1. Mode opératoire du test antiradicalaire au DPPH.

L'effet antiradicalaire des extraits a été déterminé par la méthode spectrophotométrique développée par KIM *et al.* (2003).

Tableau : Préparation des cuves pour la lecture de l'absorbance

Contenu des cuves	Cuve du Blanc	Cuve du contrôle	Cuve du test
Solution DPPH (µL)	-	950	950
Extrait (µL)	50	-	50
Méthanol (µL)	950	-	-
DMSO (µL)	-	50	-
Total volume (µL)	1000	1000	1000

La lecture de la DO des cuves se fait au spectrophotomètre à 520nm. Les doses testées seront calculées en tenant compte du facteur de dilution égal à 1/20

$$\%INHIBITION = [(DO_{ctrl} - DO_{extrait}) / DO_{ctrl}] \times 100$$

Les IC_{50} sont déterminées graphiquement par le logiciel PRISM version 5.0

2. Courbes doses-effets antiradicalaires de quelques extraits d'E. senegalensis DC.

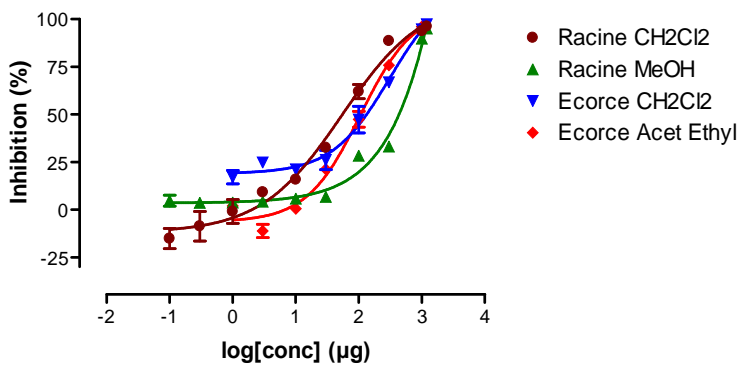


Figure 1 : effets antiradicalaires doses-dépendants des extraits d'E. senegalensis DC

III. EVALUATION DE L'EFFET ANTILIPPOXYGENASE DES EXTRAITS D'E. senegalensis DC
1. Mode opératoire du test d'inhibition de la 12-Lipoxygénase.

L'activité inhibitrice des extraits sur la lipoxygénase a été déterminée par la méthode spectrophotométrique développée par MALTERUD *et al.* (1992).

Tableau : Préparation des cuves pour la mesure de la cinétique enzymatique de la 12-lipoxygénase

Mélange dans la cuve	Contrôle (activité de l'enzyme sans inhibiteur)		Inhibition (activité de l'enzyme + l'inhibiteur)	
	Blanc (µl)	Test (µl)	Blanc (µl)	Test (µl)
Tampon borate	400		400	
Tampon-DMSO (10%)	100	100		
Enzyme		400		400
Extrait			100	100
Incuber pendant 2 minutes à température ambiante				
Substrat	500	500	500	500
Lecture de la cinétique à 234 nm pendant 2 minutes				

Le pourcentage de l'inhibition a été calculé suivant la formule:

%INHIBITION = 100 x [(V_{ctrl} - V_{extrait})/V_{ctrl}]

Où V_{ctrl} est l'activité de l'enzyme sans inhibiteur (extrait) et V_{extrait} l'activité de l'enzyme en présence de l'échantillon.

Les IC₅₀ sont déterminées graphiquement par le logiciel PRISM version 5.0