

Activités Antiproliférative et Antiradicalaire d'extraits Aqueux de Quatre Plantes Médicinales Congolaises

Dianzitoukoulou Matsima Louis Donald, (Docteur, Assistant)

Unité de chimie du végétal et de la vie, Faculté des Sciences et Techniques
Marien N'gouabi, Brazzaville, Congo

***Nsonde Ntandou Gelase Fredy, (Docteur, Maître de
Conférences)***

Laboratoire de Biochimie et Pharmacologie, Faculté des Sciences de la
Santé, Université Marien N'gouabi, Brazzaville, Congo

Vannier Brigitte, (Docteur, Maître de Conférences)

Equipe Récepteurs, Régulation et Cellules Tumorales
Université de Poitiers, France

Muller Jean-Marc, Professeur des Universités

Equipe Récepteurs, Régulation et Cellules Tumorales
Université de Poitiers, France

Gombe Mbalawa Charles, Professeur Titulaire

Institut National de Recherche en Sciences de la Santé,
Cité Scientifique (ex-ORSTOM),

Route de l'Auberge de Gascogne, Makélékélé, Brazzaville- Congo

Ouamba Jean-Maurille, Professeur Titulaire

Unité de Chimie du Végétal et de la Vie, Faculté des Sciences et Techniques
Marien N'gouabi, Brazzaville, Congo

Doi:10.19044/esj.2019.v15n30p317 [URL:http://dx.doi.org/10.19044/esj.2019.v15n30p317](http://dx.doi.org/10.19044/esj.2019.v15n30p317)

Résumé

Le but de ce travail est d'évaluer les propriétés antiproliférative et antiradicalaire des extraits aqueux de quatre plantes médicinales congolaises dont *Morinda lucida*, *Klainedoxa gabonensis*, *Tephrosia vogelii* et *Nauclea latifolia*. L'activité antiproliférative de l'extrait aqueux de chacune des quatre espèces a été évaluée *in vitro* sur une lignée cellulaire cancéreuse (U87-MG) et une lignée cellulaire normale (Hek-293) en utilisant le test MTT. L'activité antiradicalaire a été évaluée en mesurant la capacité de piégeage du radical DPPH. Des analyses phytochimiques des extraits ont été réalisées par chromatographie sur couche mince et par HPLC-PDA. Les extraits aqueux de *Klainedoxa gabonensis* et de *Tephrosia vogelii* ont montré une activité

antiproliférative contre les cellules cancéreuses U87-MG avec des valeurs de CI_{50} inférieures à 90 $\mu\text{g/ml}$. L'extrait aqueux de *Klainedoxa gabonensis* a montré également une activité antiradicalaire remarquable ($CI_{50} = 4 \pm 0,73$ $\mu\text{g/ml}$). En plus, le traitement des cellules cancéreuses U87-MG à la fois par l'extrait aqueux de *Klainedoxa gabonensis* (100 $\mu\text{g/ml}$) et par un inhibiteur de la protéine MEK (1 μM) provoque une suppression totale de la prolifération des cellules U87-MG (glioblastome). L'analyse en HPLC–PDA de l'extrait aqueux *Klainedoxa gabonensis* a montré la présence des composés de type acide gallique (41, 9 %) et quercétine (2,17 %). Notre étude a permis d'identifier deux plantes médicinales aux propriétés antiprolifératives parmi les quatre plantes médicinales congolaises évaluées dont une possédant à la fois les propriétés antiproliférative et antiradicalaire.

Mots clés : Antiproliférative, Antiradicalaire, Plantes médicinales congolaises

Antiproliferative and Antiradical Activities from Congolesse Medicinal Plants Aqueous Extracts

Dianzitoukoulou Matsima Louis Donald, (Docteur, Assistant)

Unité de chimie du végétal et de la vie, Faculté des Sciences et Techniques
Marien N'gouabi, Brazzaville, Congo

***Nsonde Ntandou Gelase Fredy, (Docteur, Maître de
Conférences)***

Laboratoire de Biochimie et Pharmacologie, Faculté des Sciences de la
Santé, Université Marien N'gouabi, Brazzaville, Congo

Vannier Brigitte, (Docteur, Maître de Conférences)

Equipe Récepteurs, Régulation et Cellules Tumorales
Université de Poitiers, France

Muller Jean-Marc, Professeur des Universités

Equipe Récepteurs, Régulation et Cellules Tumorales
Université de Poitiers, France

Gombe Mbalawa Charles, Professeur Titulaire

Institut National de Recherche en Sciences de la Santé,
Cité Scientifique (ex-ORSTOM),

Route de l'Auberge de Gascogne, Makélékélé, Brazzaville- Congo

Ouamba Jean-Maurille, Professeur Titulaire

Unité de Chimie du Végétal et de la Vie, Faculté des Sciences et Techniques
Marien N'gouabi, Brazzaville, Congo

Abstract

The purpose of this work is to evaluate antiproliferative and DPPH radical scavenging activities of aqueous extracts from *Morinda lucida* Smith, *Klainedoxa gabonensis* Pierre ex Engl, *Tephrosia vogelii* Hook f and *Nauclea latifolia* Sm. The antiproliferative activity of the aqueous extract of each of the four species was evaluated *in vitro* on a cancer cell line (U87-MG) and a normal cell line (Hek-293) using the MTT assay. The antiradical activity was evaluated by measuring the scavenger capacity of the DPPH radical. Phytochemical analyzes of the extract were performed by thin layer chromatography and HPLC-PDA. The aqueous extracts of *Klainedoxa gabonensis* and *Tephrosia vogelii* showed antiproliferative activity against U87-MG cancer cells with IC₅₀ values below 90 µg / ml. The aqueous extract of *Klainedoxa gabonensis* also showed remarkable antiradical activity (IC₅₀ =

4± 0,73 µg/ml). In addition, the treatment of U87-MG cancer cells by both the aqueous extract of *Klainedoxa gabonensis* (100 µg / ml) and by an MEK protein inhibitor (1 µM) causes a total suppression of U87-cell proliferation. MG (glioblastoma). HPLC-PDA analysis of the aqueous extract *Klainedoxa gabonensis* showed the presence of gallic acid compounds (41.9%) and Quercetin (2.17%).: Our study identified two medicinal plants with antiproliferative properties among the four Congolese herbal medicines evaluated, one with both anti-proliferative and antiradical properties.

Keywords: Antiproliferative, Antiradicalar, Congolese medicinal plants

1. Introduction

Le cancer figure parmi les maladies non transmissibles dont les statistiques mondiales sur la mortalité et la morbidité sont en constante augmentation. Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), 18,1 millions de nouveaux cas et 9,6 millions de décès dus au cancer ont été enregistrés dans le monde en 2018 (Bray *et al.*, 2018). La recherche des moyens de lutte contre le cancer est devenu un défi mondial majeur. En littérature, plusieurs espèces de plantes ont été signalées avoir des propriétés anticancéreuses présumées (Spjut and Perdue, 1976, Graham, 2000). En plus, plus de 50% d'agents anticancéreux, utilisés en clinique, sont soit issus de produits naturels soit des analogues des molécules naturelles obtenus par hémisynthèse (Newman *et al.*, 2003). Cependant, les données scientifiques disponibles sur les propriétés anticancéreuses des plantes ou de leurs substances actives sont encore limitées (Huet, 2013). Estimée à environ 4538 espèces de plantes vasculaires (Sonke *et al.*, 2010), la biodiversité de la flore congolaise est une source potentielle des molécules bioactives. Plus d'une centaine d'espèces issues de la flore congolaise sont utilisées en médecine traditionnelle au Congo dans les traitements de diverses affections (Bouquet, 1969 ; Adjanohoun *et al.*, 1988). En 2012, les enquêtes ethnobotaniques menées auprès des tradipraticiens de santé, dans les départements de Brazzaville et de la Cuvette, ont montré une utilisation prépondérante en médecine traditionnelle congolaise de quatre espèces dans le traitement des cancers parmi lesquelles *Morinda lucida* Benth, *Klainedoxa gabonensis* Pierre ex Engl, *Nauclea latifolia* Smith et *Tephrosia vogelii* Hook. f. (Dianzitoukoulou, 2017). Des études antérieures ont permis de rapporter des activités biologiques et pharmacologiques telles que l'activité antiplasmodiale des extraits de *Morinda lucida* (Madureira *et al.*, 2002) et de *Nauclea latifolia* (Zirihi *et al.*, 2005), l'activité antibactérienne des extraits de *Klainedoxa gabonensis* (Ekouya *et al.*,2006, Wansi *et al.*, 2010), l'activité antipyrétique des extraits de *Nauclea latifolia* (Taïwe *et al.*, 2011). L'objectif de ce travail était d'évaluer le potentiel antiprolifératif et

anti-radicalaire des extraits de quatre espèces de plantes médicinales congolaises.

2. Matériel et Méthodes

2.1. Matériel végétal

Les feuilles de *Morinda lucida* Benth, les racines de *Nauclea latifolia* Sm et les feuilles de *Tephrosia vogelii* Hook. f. ont été récoltées dans le département du Pool (République du Congo). Les écorces de tronc de *Klainedoxa gabonensis* Pierre ex Engl ont été récoltées dans le département de la Cuvette (République du Congo). Ces récoltes ont été réalisées entre février et mars 2013. Les plantes ont été identifiées par les botanistes du Centre d'Etudes sur les Ressources Végétales (CERVE) à Brazzaville. Les échantillons de *Morinda lucida*, *Klainedoxa gabonensis*, *Tephrosia vogelii*, et de *Nauclea latifolia* ont été comparés respectivement aux récoltes de Descoins n° 10007, Moutsamboté n° 6389, Liben n° 1153 et de Nere n° 258 de l'herbarium national du Congo. Par la suite, ces échantillons ont été séchés à la température ambiante, à l'abri de la lumière et de l'humidité au laboratoire de l'Unité de Chimie de la Vie et du Végétal (U2CV) de la Faculté des Sciences et Techniques de l'Université Marien NGOUABI (Brazzaville-Congo).

2.2. Préparation des extraits

Extrait aqueux

10 g de poudre fine de chaque plante ont été placés dans 100 ml d'eau distillée. L'ensemble est porté à ébullition pendant 15 minutes puis refroidi et filtré. Le décocté obtenu est lyophilisé. Les lyophilisats ont été échantillonnés et conservés à 4°C.

Extraits organiques

Les extraits organiques ont été obtenus par épuisement successif à l'aide de deux solvants de polarité croissante : le chloroforme et la solution hydroéthanolique. Pour ce faire, La poudre séchée de chaque espèce (10 g) a été soumise à une macération pendant 72 heures dans du chloroforme (100 ml) puis dans une solution hydroéthanolique (1 :1, v/v). Les extraits chloroformiques et hydroéthanoliques obtenus ont été concentrés sous pression réduite à 40°C.

2.3. Analyse chimique

Chromatographie sur couche mince (CCM)

Les extraits des plantes à l'étude ont été soumis à une analyse phytochimique préliminaire afin d'identifier les phytoconstituants. Chaque extrait (10 mg/ml) a été analysé sur chromatoplaque (silicagel 60 F254) en utilisant différents gradients de solvant de migration. Après séchage, les

chromatogrammes ont été révélés sous UV/366 nm avec différents révélateurs comprenant le réactif de Liebermann-Burchard pour la détection des stéroïdes et terpènes et le réactif de Neu pour la détection des flavonoïdes (Wagner and Bladt, 1996).

Analyse HPLC-PDA

L'analyse HPLC a été réalisée sur l'extrait aqueux le plus efficace. Le dispositif HPLC utilisé était constitué d'une pompe 626, d'un détecteur photodiode array 996 (waters) une colonne C8 (phenomenex). Un gradient d'éluion a été utilisé par variation de la proportion des solvants A (eau + 0,05%, v/v, acide trifluoroacétique) et B (acétonitrile + 0,05%, v/v, acide trifluoroacétique) avec un débit de 1ml/min, selon le programme : 0-15% B (2 min), 15-60% B (15 min) et 60-100 (2min).

Le volume d'extrait élué était de 20 µl. L'acquisition et le traitement des données ont été faits par le logiciel PDA millenium 32. Ce logiciel compare le spectre UV de chaque pic du composé élué à ceux de la banque de données de divers composés polyphénoliques pré-enregistrés dans le dispositif HPLC-PDA.

2.4. Culture cellulaire

Les cellules des lignées Hek-293 (ATCC, CRL-1573) et U87-MG (ATCC, HTB-14) ont étéensemencées respectivement dans le milieu de culture DMEM à fort taux de glucose (4,5 g/l) et dans le milieu de culture DMEM à faible taux de glucose (1 g/l). Chacun de ces milieux de culture a été complété avec 10% de sérum de veau foetal (Lonza), 100 U/ml de pénicilline et 100 µg/ml de streptomycine (Lonza). Ces cellules ont été ensuite incubées à 37°C, sous atmosphère contenant de l'air humidifié et 5% de CO₂.

2.5. Microculture tetrazolium assay (test MTT)

L'effet des extraits aqueux de quatre espèces sur l'inhibition de la croissance cellulaire a été évalué par le test MTT (Mosmann, 1983). Le test MTT est basé sur la réduction métabolique de 3-(4,5 dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) en formazan. Brièvement, les cellules ont étéensemencées dans les plaques 96 puits à la densité de 2x10³ cellules/100 µl de milieu de culture/puits. Après 24 h d'incubation, les cellules ont été traitées par différentes concentrations des extraits aqueux (2000, 1000, 500, 250, 125, 62,5, et 31,25 µg/ml) pendant 72 heures. Après traitement, le milieu de culture a été soigneusement retiré et changé par un milieu neuf. 20 µl de MTT (5mg/ml) sont ajoutés dans chaque puits ; la plaque 96 puits est incubée pendant 4h à 37°C. Les cristaux de MTT bleu violet formés ont été dissouts dans 100 µl de DMSO après suppression du milieu de culture. L'absorbance de chaque échantillon a été lue à 570 nm en utilisant un lecteur

de microplaques. Les résultats sont exprimés en pourcentage de cellules viables . La CI_{50} a été déterminée par la méthode Curve - fitting de Graphpad Prism 5.

2.6. Evaluation de l'activité antiradicalaire

L'activité antiradicalaire a été mesurée par le test de piégeage du radical DPPH (Kano et al., 2005). Une solution de 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) a été préparée dans l'éthanol (5 mg de poudre/125 ml d'éthanol). Un volume de 5 ml de solution de DPPH ont été additionnés avec 50 μ l d'extrait. Le mélange DPPH et l'extrait sont incubés pendant 30 minutes à l'obscurité. Puis l'absorbance du mélange a été mesurée par analyse au spectrophotomètre à 510 nm. Le zéro est fait avec de l'éthanol et le blanc correspond à la solution de DPPH seule. Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH a été déterminé par la formule :

$$[(\text{absorbance du blanc} - \text{absorbance de l'extrait}) / \text{absorbance du blanc}] * 100$$

Les résultats sont présentés en moyenne \pm SD.

Les extraits hydroéthanolique et aqueux des feuilles de *Morinda lucida*, d'écorces de tronc de *Klainedoxa gabonensis*, des feuilles de *Tephrosia vogelii* et d'écorces de racines de *Nauclea latifolia* ont été testés pour leur capacité de piégeage du radical libre DPPH aux différentes concentrations (6,25 ; 12,5 ; 25 ; 50 ; et 100 μ g/ml).

2.7. Analyse statistique

Les données ont été exprimées en moyenne \pm SD. L'analyse statistique a été faite en utilisant One-way ANOVA du logiciel Graphpadprism 5, avec * P -value < 0,05 considérée statistiquement significative comparée au contrôle.

3. Résultats

3.1 Analyse phytochimique

Chromatographie sur couche mince (CCM)

L'analyse chimique, par CCM, des extraits de plantes investiguées a permis de mettre en évidence la présence des composés de types stéroïdes et dérivés de l'acide gallique respectivement dans les extraits chloroformiques et hydroéthanoliques (Tableau I).

Tableau I. Analyse phytochimique par CCM des extraits de quatre plantes

| PLANTES (FAMILLE) | PARTIES | SOLVANT D'EXTRACTION | GROUPE CHIMIQUE DETECTÉ |
|--|---------|---------------------------------|---|
| <i>Morinda lucida</i> BENTH (RUBIACEAE) | F | Chlorofome ethanol/eau (1:1) | terpenes, stéroïdes flavone, dérivés de l'acide gallique |
| <i>Klainedoxa gabonensis</i> PIERRE ex ENGL. (IRVINGEACEAE) | ET | Chlorofome ethanol/eau (1:1) | stéroïdes dérivés de l'acide gallique |
| <i>Tephrosia vogelii</i> HOOK f. (FABACEAE) | F | Chlorofome ethanol/eau (1:1) | terpenes, stéroïdes Flavone, dérivés de l'acide chlorogénique |
| <i>Nauclea latifolia</i> Sm (RUBIACEAE) | ER | Chlorofome ethanol/eau (1:1) | terpenes, stéroïdes dérivés de l'acide gallique |

F : feuilles ; ET : écorces de tronc ; ER : écorces de racine

Analyse par HPLC de l'extrait aqueux de *Klainedoxa gabonensis*

Les résultats de l'analyse chimique par HPLC-PDA ont montré un chromatogramme présentant plusieurs pics (Figure 1 A). Les spectres UV de tous les pics du chromatogramme ont été comparés avec ceux des standard des polyphénols grâce au logiciel d'analyse PDA millenium 32.

Le composé élué après un temps de rétention de 10, 69 minutes (Pic# 5) a présenté un spectre UV montrant des similitudes avec le spectre UV de l'acide gallique (Figure 1B). Celui élué après un temps de rétention de 22, 5 minutes (pic# 22) a présenté un spectre UV montrant des similitudes avec le spectre UV de la quercétine (Figure 1 C). L'extrait aqueux d'écorces de tronc de *Klainedoxa gabonensis* contiendrait des composés proches de l'acide gallique (représentant 41,9 % de l'aire totale du chromatogramme) et du quercetin (représentant 2, 17 % de l'aire totale du chromatogramme).

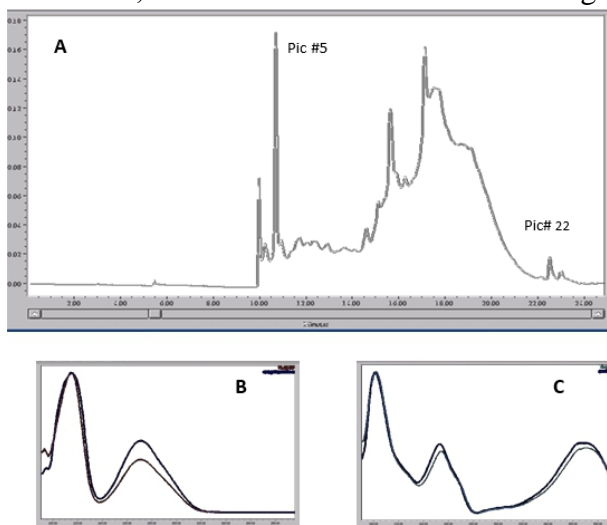


Figure 1. Analyse HPLC de l'extrait aqueux de *Klainedoxa gabonensis*. A : chromatogramme B : spectres UV du pic # 5 et de l'acide gallique. C : spectres UV du pic # 22 et de la quercétine.

3.2. Effet des extraits aqueux de plantes sur la prolifération cellulaire

Les extraits aqueux des feuilles de *Morinda lucida*, d'écorces de tronc de *Klainedoxa ga-bonensis*, et des feuilles de *Tephrosia vogelii* aux concentrations de 31,25 µg/ml à 2000 µg/ml pro-voquent une inhibition de la prolifération cellulaire de manière dose-dépendante sur les lignées cellulaires U87-MG et Hek-293 (Figure 2). Les valeurs de CI50 des extraits aqueux sur les cellules U87-MG et Hek-293 sont indiquées dans le tableau II. Tous les extraits testés sur les cellules Hek-293 ont présenté des valeurs de CI50 > 100 µg/ml. Les extraits aqueux de *Klainedoxa gabonensis* et de *Tephrosia vogelii* exercent une activité antiproliférative sur les cellules U87-MG avec des valeurs de CI50 < 90 µg/ml. Les extraits aqueux d'écorces de racine de *Nauclea latifolia* et des feuilles de *Morinda lucida* ne présentent d'activité antiproliférative sur les cellules U87-MG respectivement qu'à partir de 500 µg/mL (62,93± 0,94 % de cellules viables) et 125 µg/ml (69,80 ± 1,12 % de cellules viables).

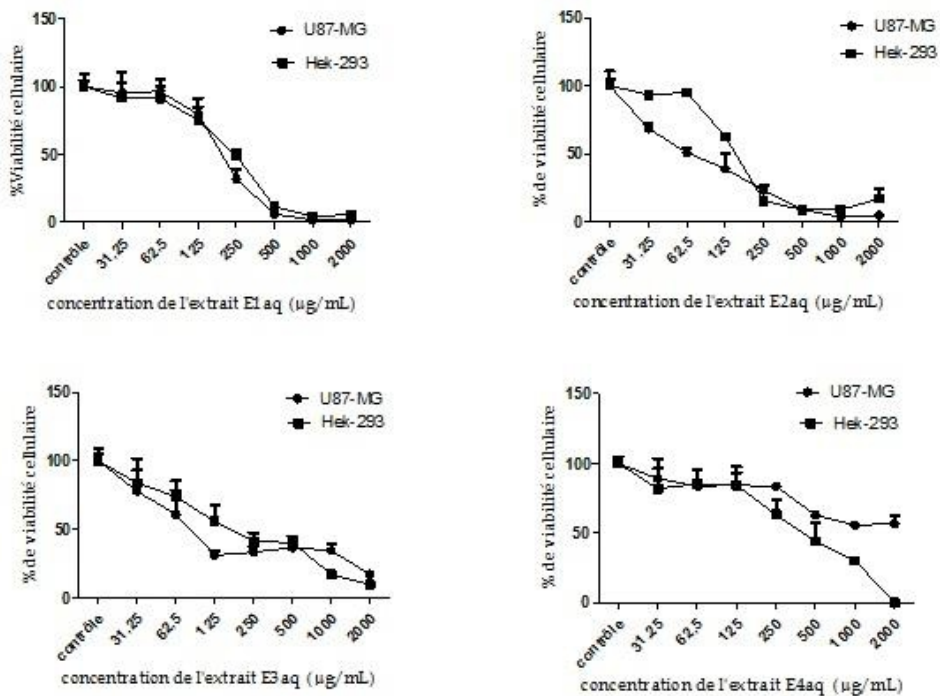


Figure 2. Courbes dose-réponse de deux lignées cellulaires. E1aq , E2aq, E3aq et E4aq représentant respectivement les extraits aqueux des feuilles de *Morinda lucida*, d'écorces de tronc de *Klainedoxa gabonensis*, des feuilles de *Tephrosia vogelii* et d'écorces de racines de *Nauclea latifolia*.

Tableau II. CI₅₀ et CMEO, en µg/ml, des extraits aqueux de quatre espèces (N= 3)

| | CI ₅₀ | | CMEO (% de viabilité cellulaire) | |
|------|------------------|---------------|----------------------------------|---------------|
| | U87-MG | Hek-293 | U87-MG | Hek-293 |
| E1aq | 208 ± 9,15 | 213 ± 7, 02 | 125,0 (69,80) | 125,0 (74,10) |
| E2aq | 68,1 ± 5,83 | 132,7 ± 10,09 | 31,25 (68,57) | 125,0 (62,58) |
| E3aq | 85 ± 10,07 | 164,6 ± 6, 37 | 62,50 (57,40) | 62,50 (73,76) |
| E4aq | > 500 | > 250 | 500,0 (62, 93) | 250 (63, 14) |

CI₅₀ : concentration inhibant 50% la prolifération des cellules

CMEO : concentration minimale avec effet observé..

3.3. Effet du traitement simultané par E2aq et U0126 des cellules U87-MG

Les cellules U87-MG traitées, pendant 24 h, simultanément par l'extrait aqueux d'écorces de *Klainedoxa gabonensis* (100 µg/ml) et par U0126 (1 µM), un inhibiteur de la protéine kinase MEK, montre une suppression totale de la prolifération de ces cellules (Figure 3 C). les cellules U87-MG traitées uniquement par l'extrait aqueux d'écorces de *Klainedoxa gabonensis* (100 µg/ml), pendant 24 h, ne montrent pas une suppression totale de la prolifération des cellules U87-MG (Figure 3 B). Aussi, U0126 (1 µM) n'induit pas une inhibition de la prolifération des cellules U87-MG (Figure 3D) comparé aux cellules non traitées (Figure 3A).

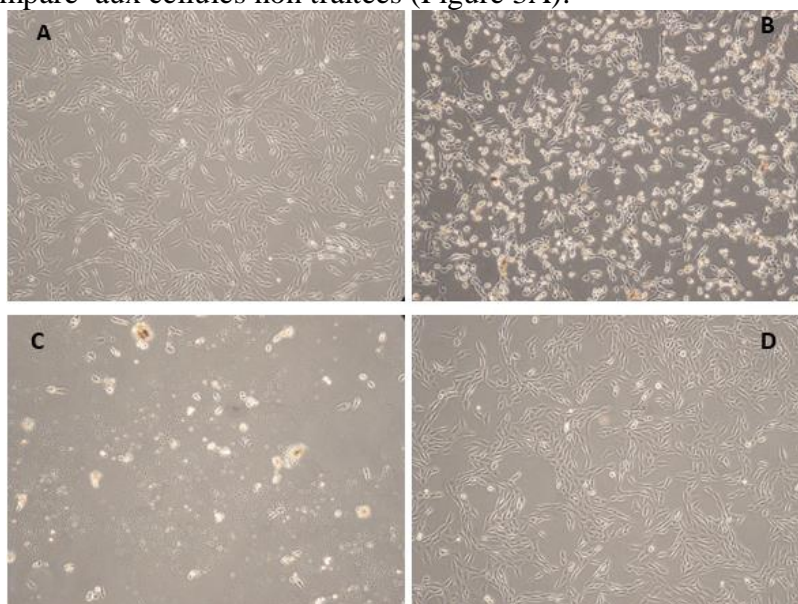


Figure 3. Micrographies des cellules U87-MG traitées par l'extrait aqueux d'écorces de tronc de *Klainedoxa gabonensis* (E2aq) et par un inhibiteur de la protéine kinase MEK. A : cellules non traitées ; B : cellules traitées uniquement par E2aq (100 µg/ml) ; C : cellules traitées à la fois par E2aq (100 µg / ml) et par U0126 (1 µM). D : cellules traitées uniquement par U0126 (1 µM). Toutes les cellules ont été observées à partir d'un microscope à contraste de phase.

3.4 Activité antiradicalaire

Les extraits hydroéthanolique et aqueux des feuilles de *Morinda lucida*, d'écorces de racines de *Nauclea latifolia* et des feuilles de *Tephrosia vogelii* n'ont pas montré d'activité antiradicalaire aux concentrations de 6, 25 µg/ml à 100 µg/ml. Les extraits hydroéthanolique et aqueux d'écorces de tronc de *Klainedoxa gabonensis* ont présenté une remarquable activité antiradicalaire à 25 µg/ml avec des pourcentages d'inhibition du radical DPPH respectivement de 75, 4 et 93,7 % (Tableau III). On note que l'extrait aqueux d'écorces de *Klainedoxa gabonensis* à la concentration de 6,25 µg/ml a présenté une inhibition du radical DPPH de l'ordre de 53%. La concentration correspondant à 50% d'inhibition (CI₅₀) a été de l'ordre de 4± 0,73 µg/ml et 18± 1,04 µg/ml respectivement pour les extraits aqueux et hydroéthanolique de *Klainedoxa gabonensis*.

Tableau III. Activité antiradicalaire des extraits aux solvants de *Klainedoxa gabonensis* (N= 3)

| Extraits | % d'inhibition du radical DPPH | | | | |
|-------------------|--------------------------------|------------------|----------------|----------------|-----------------|
| | 6,25 (µg/ml) | 12,5 (µg/ml) | 25 (µg/ml) | 50 (µg/ml) | 100 (µg/ml) |
| hydro-éthanolique | 24,11 ± 0,24 | 40,57 ± 0,50 | 75,20 ± 0,35 | 82,17 ± 1,02 | 83,48 ± 0,39 |
| aqueux | 53,33 ± 0,25 | 86,15 ± 0,61 | 93,7 ± 0,60 | 96,7 ± 0,71 | 99,3 ± 0,63 |

4. Discussion

Cette étude avait pour but d'évaluer les activités antiproliférative et antiradicalaire des extraits de quatre espèces de plantes sélectionnées parmi les espèces utilisées en médecine traditionnelle congolaise contre diverses affections. L'évaluation de l'activité antiproliférative a porté essentiellement sur les extraits au solvant aqueux. En effet, le solvant aqueux est le principal solvant utilisé en médecine traditionnelle congolaise (Bouquet, 1969).

Notre étude démontre que l'extrait aqueux d'écorces de tronc de *Klainedoxa gabonensis* présenterait une meilleure activité antiproliférative sur la lignée cancéreuse U87-MG parmi les quatre extraits aqueux des espèces sélectionnées dans la présente étude. Aussi, l'extrait aqueux d'écorces de tronc de *Klainedoxa gabonensis* a montré une activité antiproliférative sélective sur les lignées U87-MG (Glioblastome) et Hek -293 (cellules embryonnaire de rein). Au cours d'une précédente étude, nous avons montré que l'extrait aqueux de *Klainedoxa gabonensis* induisait, de manière dose dépendante, une régulation négative de la voie de signalisation PI3K/Akt, provoquait l'autophagie et un arrêt du cycle cellulaire en G1 (Dianzitoukoulou *et al.*, 2016).

Dans la présente étude, nous montrons que l'exposition simultanée des Cellules U87-MG à l'extrait aqueux d'écorces de *Klainedoxa gabonensis* (100 µg/ml) et à U0126 (1µM) provoquerait une suppression totale de la

prolifération cellulaire. Ces résultats pourraient s'expliquer par le rôle majeur des voies de signalisation Ras/MeK/Erk et PI3K/akt/mTOR dans la régulation de la survie et la prolifération cellulaires (Di Nicolantonio *et al.*, 2010). En effet, il a été rapporté que la co-inhibition de ces deux voies permettrait de réduire la croissance tumorale dans les modèles de cancer de la xéno greffe et surtout dans le modèle de souris génétiquement modifié (Kinkade, et al., 2008 ; Engelman *et al.*, 2008). L'extrait aqueux d'écorces de racine de *Nauclea latifolia* a montré une activité antiproliférative insignifiante sur les cellules U87-MG. L'activité antiradicalaire n'a été observée qu'avec les extraits aqueux et hydro-éthanolique d'écorces de tronc *Klainedoxa gabonensis*. L'extrait aqueux d'écorces de tronc de *Klainedoxa gabonensis* ayant présenté la plus grande activité antiradicalaire ($CI_{50} = 4 \pm 0,73 \mu\text{g/ml}$) par rapport à l'extrait hydro-éthanolique ($CI_{50} = 18 \pm 1,04 \mu\text{g/ml}$). Il a été rapporté une activité antiradicalaire de l'extrait au méthanol d'écorces de tronc de *Klainedoxa gabonensis* ($CI_{50} = 10,45 \mu\text{g/ml}$) (Wansi *et al.*, 2010). Ces données suggèrent que l'extrait aqueux de *Klainedoxa gabonensis* posséderait à la fois des propriétés antiproliférative et antiradicalaire remarquables. L'analyse chimique par HPLC-PDA de l'extrait aqueux d'écorces de tronc de *Klainedoxa gabonensis* a montré la présence des composés de type acide gallique et quercétine. Les composés majoritaires de *Klainedoxa gabonensis* pourraient être de type acide gallique. Ces analyses chimiques n'ont pas permis de mettre en évidence tous les composés phytochimiques présents dans l'extrait aqueux de *Klainedoxa gabonensis*. Il serait trop précoce d'établir une relation structure activité à ce stade de l'étude. L'extrait aqueux des feuilles *Tephrosia vogelii* a montré également une activité antiproliférative intéressante contre la lignée cellulaire U87-MG ($CI_{50} = 85 \pm 10,07 \mu\text{g/ml}$). Cependant, l'extrait aqueux des feuilles de *Tephrosia vogelii* n'a pas montré d'activité antiradicalaire. L'extrait aqueux des feuilles de *Morinda lucida* présente une activité antiproliférative significative contre les lignées cellulaires U87-MG et Hek-293 aux concentrations supérieures à $100 \mu\text{g/ml}$ (CMEO = $125 \mu\text{g/ml}$). L'extrait aqueux des feuilles de *Morinda lucida* a montré une activité antiproliférative non sélective contre les lignées cellulaires U87-MG et Hek-293. Il a été rapporté également des activités antiprolifératives non sélectives de l'extrait au méthanol des feuilles de *Morinda lucida* contre les lignées cellulaires MCF-7 et COR-L23 (Ashidi et al., 2010).

Conclusion

Notre étude a permis de montrer que sur les quatre plantes médicinales congolaises étudiées, deux plantes ont présenté une activité antiproliférative sur la lignée cancéreuse U87-MG (glioblastome). Il s'agit de *Klainedoxa gabonensis* et *Tephrosia vogelii*. En plus, l'extrait aqueux de *Klainedoxa*

gabonensis a présenté, à la fois, des propriétés anticancéreuse et antiradicalaire promotteuses. Le résultat qui montre que l'extrait aqueux de *Klainedoxa gabonensis* exerce une activité antiproliférative maximale en présence d'un inhibiteur de la protéine MEK est une découverte importante que nous allons approfondir. Cette étude montre l'intérêt des plantes médicinales congolaises dans la recherche des substances bioactives à visée anticancéreuse.

Conflits d'intérêts

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêt.

References:

1. Adjanohoun, E.J., Ahyi, M.R.A., Ake Assi, L. (1988). Médecine traditionnelle et pharmacopée: contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Congo. ACCT Ed. Paris, 605p.
2. Ashidi, J.S., Houghton, P.J., Hylands, P.J. (2010). Ethnobotanical survey and cytotoxicity testing of plants of south-western Nigeria used to treat cancer, with isolation of cytotoxic constituents from *Cajanus cajan* Mill sp. Leaves. *Journal of Ethnopharmacology* 128: 501-512.
3. Bouquet, A. (1969). Féticheurs et médecine traditionnelle au Congo Brazzaville. Paris, *Memoires ORSTOM.*, 282p
4. Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A. and Jemal, A. (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 68: 394-424.
5. Di Nicolantonio, F., et al. (2010). Deregulation of the PI3K and KRAS signaling pathways in human cancer cells determines their response to everolimus. *J Clin Invest.* 120 (8):2858–66
6. Dianzitoukoulou Matsima, L.D., Muller, J.-M., Gombert, J.-M., Ouamba, J.-M., Séité, P. and Vannier, B. (2016). Cytotoxicity and mode of action of *Klainedoxa gabonensis* Pierre ex Engl. on U87 glioblastoma cancer cell line. *Journal of Medicinal Plants studies* 4 (4): 169-173.
7. Dianzitoukoulou Matsima, L.D. (2017). Etudes ethnobotanique, phytochimique et évaluation des propriétés anticancéreuses des plantes couramment utilisées dans la médecine traditionnelle congolaise (thèse de doctorat). Université Marien Ngouabi, Brazzaville, Congo.
8. Ekouya, A., Itoua, G.B., Ouabonzi, A., Ouamba, J.M. (2006). Isolement du gallate méthyle et évaluation de l'activité antibactérienne et antitumorale de quelques extraits de *Klainedoxa gabonensis* Pierre ex Engl. *Phytopharmacologie* 3, 117-120.

9. Engelman, J.A., et al.(2008). Effective use of PI3K and MEK inhibitors to treat mutant Kras G12D and PIK3CA H1047R murine lung cancers. *Nat Med.* 14(12):1351–6.
10. Graham, J.G., Quinn, M.L., Fabricant, D.S., Farnsworth, N.R. (2000). Plants used against cancer an extension of the work of Jonathan Hartwell. *Journal of Ethnopharmacology* 73: 347-377.
11. Huet, M. (2013). Les plantes médicinales chez les malades atteints de cancers : pratiques courantes et éléments de leur évaluation. *Bull. Cancer* 100: 485-94.
12. Kano, M., Takayanagi, T., Harada, K., Makino, K., and Ishikawa, F. (2005). Antioxidative activity for anthocyanins from purple sweet potato *Ipomoea batatas* cultivar *Ayamurasaki*. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* 69: 979-988.
13. Kinkade CW, et al. Targeting AKT/mTOR and ERK MAPK signaling inhibits hormone-refractory prostate cancer in a preclinical mouse model. *Journal of Clinical Investigation.* 2008; 118(9):3051–64.
14. Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological. Methods.* 65: 55-63.
15. Sonke, B., Lachenaud O., Simo, M., Taedoumg, H., Droissart, V., Lemaire, B., Stévert, T. and Dessein, S. (2010). Botanical survey in central Africa : Taxonomical novelties and new records for the flora of Cameroun. 19th AETFAT Congress, 25-30/04/2010. Antananarivo, Madagascar.
16. Spjut, R.W., and Perdue, Jr. (1976). Plant folklore: a tool for predicting sources of antitumor activity? *Cancer Treat. Rep.* 60, 979-985.
17. Taiwe, G.S., Bum, F.R., Talla, E., Dimo, T., Weiss, N., Sidiki, N., Moto, F.C., et al. (2011). Antipiretic and antinociceptive effects of *Nauclea latifolia* root decoction and possible mechanisms of action. *Pharm. Biol.* 49(1), 15-25.
18. Wagner, H., Bladt S.(1996). *Plant Drug Analysis.*
19. Wansi, J.D., Chiozem, D.D., Tcho, A.T., Toze, F.A.A., et al. (2010). Antimicrobial and antioxidant effects of phenolic constituents of *Klainedoxa gabonensis*. *Pharmaceutical Biology* 48(10), 1124-1129.
20. Zirihi, N.G., Mambu, L., Guedie-Guina, F., Bodob, B., Grellier, P. (2005). In vitro antiplasmodial activity and cytotoxicity of 33 West African plants used for treatment of malaria. *Journal of Ethnopharmacology* 98, 281–285.