

Evaluation préliminaire de l'activité antiproliférative de la teinture extraite du cœur de bois de *Pterocarpus soyauxii* Taub (Fabaceae) utilisée par les populations autochtones en République du Congo

Aimé Bertrand Madiélé Mabika

Unité de Chimie du Végétal et de la Vie (UC2V),
Faculté des Sciences et Techniques, Université Marien Ngouabi

Louis Donald Diazitoukoulou Matima

Laboratoire de Microbiologie et de Biochimie des Substances Naturelles,
Faculté des Sciences et Techniques, Université Marien Ngouabi

Rodrigues De Garde Elion Itou

Laboratoire de Pharmacologie et de Biochimie,
Faculté des Sciences de la Santé, Université Marien Ngouabi
Institut National de Recherche en Sciences de la Santé (IRSSA),
Cité Scientifique, Brazzaville, Congo

Guy Moussavou

Unité de Chimie du Végétal et de la Vie (UC2V),
Faculté des Sciences et Techniques, Université Marien Ngouabi

Jean Maurille Ouamba

Institut National de Recherche et d'Etude en Sciences Humaines (INRESH),
Cité Scientifique, Brazzaville, Congo

Doi: 10.19044/esipreprint.12.2024.p100

Approved: 08 December 2024
Posted: 10 December 2024

Copyright 2024 Author(s)
Under Creative Commons CC-BY 4.0
OPEN ACCESS

Cite As:

Madiélé Mabika A.B., Diazitoukoulou Matima L.D., Rodrigues De Garde E.I., Moussavou G. & Maurille Ouamba J. (2024). *Evaluation préliminaire de l'activité antiproliférative de la teinture extraite du cœur de bois de Pterocarpus soyauxii Taub (Fabaceae) utilisée par les populations autochtones en République du Congo*. ESI Preprints.

<https://doi.org/10.19044/esipreprint.12.2024.p100>

Résumé

Le but de ce travail est d'évaluer les propriétés antiprolifératives de l'extrait aqueux du bois de cœur de *Pterocarpus soyauxii*. L'activité antiproliférative de l'extrait a été évaluée *in vitro* sur deux lignées cellulaires cancéreuses, la lignées cellulaires CRL11147 (cellules de

mélanome) et MCF-7 (cellules tumorales mammaires) en utilisant le test de MTT. Les extraits aqueux du bois de cœur de *Pterocarpus soyauxii* à différentes concentrations ont montré une activité antiproliférative contre les cellules cancéreuses avec des valeurs d'inhibition supérieures à 50% à des concentrations supérieures à 55 µg/ml. Cependant les extraits dont les concentrations sont comprises entre 55 µg/ml et 30 µg/ml n'induisent aucune inhibition de la prolifération sur les deux lignées cellulaires. Notre étude a permis d'identifier le *Pterocarpus soyauxii* comme plantes médicinales aux propriétés antiprolifératives.

Mots clés : Antiprolifératives, *Pterocarpus soyauxii*, Populations autochtones, Test de MTT

Preliminary evaluation of the antiproliferative activity of the dye extracted from the heartwood of *Pterocarpus soyauxii* Taub (Fabaceae) used by indigenous populations in the Republic of Congo

Aimé Bertrand Madiélé Mabika

Unité de Chimie du Végétal et de la Vie (UC2V),
Faculté des Sciences et Techniques, Université Marien Ngouabi

Louis Donald Diazitoukoulou Matima

Laboratoire de Microbiologie et de Biochimie des Substances Naturelles,
Faculté des Sciences et Techniques, Université Marien Ngouabi

Rodrigues De Garde Elion Itou

Laboratoire de Pharmacologie et de Biochimie,
Faculté des Sciences de la Santé, Université Marien Ngouabi
Institut National de Recherche en Sciences de la Santé (IRSSA),
Cité Scientifique, Brazzaville, Congo

Guy Moussavou

Unité de Chimie du Végétal et de la Vie (UC2V),
Faculté des Sciences et Techniques, Université Marien Ngouabi

Jean Maurille Ouamba

Institut National de Recherche et d'Etude en Sciences Humaines (INRESH),
Cité Scientifique, Brazzaville, Congo

Abstract

The aim of this study was to evaluate the antiproliferative properties of the aqueous extract of *Pterocarpus soyauxii* heartwood. The antiproliferative activity of the extract was assessed in vitro on two cancer

cell lines, CRL11147 (melanoma cells) and MCF-7 (breast tumour cells) using the MTT assay. Aqueous extracts of *Pterocarpus soyauxii* heartwood at different concentrations showed antiproliferative activity against cancer cells, with inhibition values of over 50% at concentrations above 55 µg/ml. However, extracts with concentrations between 55 µg/ml and 30 µg/ml did not induce any inhibition of proliferation in the two cell lines. Our study identified *Pterocarpus soyauxii* as a medicinal plant with antiproliferative properties.

Keywords: Antiproliferative, *Pterocarpus soyauxii*, Native populations, MTT test

Introduction

Les teintures contiennent naturellement des composés (les phénols, tannins et les quinones) bioactifs qui peuvent inhiber la croissance des micro-organismes (Cardon, 2007) susceptibles de se développer sur le textile et qui peuvent provoquer des allergies et des irritations cutanées. En effet, les fibres naturelles sont faites de molécules organiques (cellulose) qui sont un milieu favorable à la croissance bactérienne (Singh, 2005). Il est important de noter que toutes les teintures naturelles ne sont pas biodégradables. Elles peuvent contenir des métaux lourds ou tout autre forme de toxicité, provoquant ainsi des allergies ou des cancers. 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, 2003). Cependant, les données scientifiques disponibles sur les propriétés anticancéreuses des plantes tinctoriales ou de leurs substances actives sont encore limitées (Huet, 2013). La biodiversité de la flore congolaise est une source potentielle des molécules bioactives. Plus d'une centaine d'espèces tinctoriales issues de la flore congolaise sont utilisées en médecine traditionnelle au Congo dans les traitements de diverses affections (Bouquet, 1969 ; Adjanohoun, 1988). Les enquêtes ethnobotaniques menées par Madiélé (2024) et soutenue par une étude réalisée par l'Institut National de Recherche et d'Etude en Sciences Humaines (INRESH) (Anonyme, 2022) auprès des peuples autochtones, dans le département de la Lékoumou, ont montré une utilisation prépondérante en médecine traditionnelle des espèces supposées tinctoriales. Cette étude révèle que les peuples autochtones utilisaient les teintures naturelles comme pommades cosmétiques corporelles. *Pterocarpus soyauxii* est cité pour sa production d'une teinture naturelle. C'est pour vérifier son innocuité que cette étude est menée autour de la teinture extraite

de son bois de cœur, dont son utilisation est prépondérante par les populations autochtones du département de la Lékoumou au sud du Congo. Des études antérieures (Burkill, 1995 ; Cardon, 2003) ont permis de rapporter des activités biologiques et pharmacologiques liées à cette espèce. *Pterocarpus soyauxii*, le padouk d'Afrique, autrefois connu sous le nom de bois de santal, bois corail, bois rouge ou bois de teinture rouge, est une espèce d'arbres du genre *Pterocarpus* de la famille des Fabacées. Cette espèce pousse en Afrique tropicale et équatoriale. L'espèce est présente au Nigeria, au Bénin, au Cameroun, en Centrafrique, en Guinée équatoriale, au Gabon, au Congo-Brazzaville, au Congo-Kinshasa et en Angola (Burkill, 1995). Le padouk est un grand arbre de 30 m de hauteur, au tronc présentant de légers accotements (figure 1).



Figure 1 : tronc de padouk

Le bois de cœur est la source de la teinture rouge. En Afrique, cette teinture est utilisée pour teindre en rouge des tissus, des fibres et des vêtements, tels que les ornements en fibre de raphia (Cardon, 2003). Appelé *Tukula* au Congo, les populations autochtones de la région de la Lékoumou y préparent une teinture de qualité, mélangée à l'huile de palme et utilisée comme pommade cosmétique pour les cérémonies rituelles, liées à la circoncision, à l'initiation, au mariage, à l'accouchement et au veuvage. En effet, pour ces derniers, cette peinture corporelle est chargée de pouvoirs magiques. La littérature renseigne que le bois de cœur de *Pterocarpus soyauxii* contient des biflavonoïdes rouges : la santaline A, la santaburine A et la Santaburine B, des isoflavonoïdes dont la ptérocarpine, la formononétine et la prunétine, un isoflavanequinone : la claussequinone, et des isoflavanes : le vestitol et le mucronulatol (Cardon, 2003). Le bois est également riche en tanins, ce qui contribue au mordantage dans le processus de teinture. Dans le Colour Index, le padouk est cité comme source de rouge

naturel n°22. Par ailleurs, Les enquêtes menées par Madiélé (2024) auprès des populations autochtones rapportent que, pour l'extraction de teinture, on coupe en forêt de préférence des arbres âgés et creux, et on récupère le bois de cœur. Souvent les arbres sont abattus et laissés sur place en forêt pendant 2 à 3 ans avant de prendre le bois de cœur en vue de la teinture. Par la suite le bois de cœur est débité en rondins et en copeaux qui sont séchés et ensuite pilés dans des mortiers pour les réduire en poudre. On ajoute un peu d'huile à cette poudre de bois, et on la moule en pain pour le stockage.

Matériel et Méthodes

Matériel végétal

Les tests de l'activité antiproliférative ont été réalisés avec l'extrait aqueux. La poudre de bois moulée en forme de pain qui constitue le produit tinctorial utilisée a été livrée après échange des présents avec les populations autochtones du village Missama situé à 30 km de Sibiti (capitale du département de la Lékoumou).

Le produit tinctorial est broyé à l'aide d'un broyeur électrique pour obtenir une poudre ; cette dernière est récupérée après tamisage et conservée dans des flacons en verre fermés hermétiquement et stockés à l'abri de la lumière jusqu'à utilisation.

Matériel biologique

L'activité antiproliférative décrite dans cette étude correspond à l'inhibition de la croissance cellulaire de cellules cancéreuses. L'activité a été évaluée sur les lignées cellulaires CRL11147 (cellule de mélanome) et MCF-7 (cellules tumorales mammaires).

Préparation de l'extrait

Une quantité de 50 g de poudre fine ont été placés dans 250 ml d'eau distillée. L'ensemble est porté à ébullition pendant 15 minutes puis refroidi et filtré à l'aide d'un papier filtre de type whatman. Le filtrat obtenu est ensuite évaporé dans une étuve à une température de 40°C pour éliminer l'eau.

On pèse 5 g d'extrait sec que l'on solubilise dans du DMSO. On prépare ensuite une solution mère de 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. A partir de la solution mère, on prépare par dilution des solutions filles à différentes concentrations :

Extraits	E ₂	E ₃	E ₄	E ₅	E ₆	E ₇	E ₈	E ₉	E ₁₀	E ₁₁	E ₁₂	E ₁₃	E ₁₄	E ₁₅
C $\mu\text{g}/\text{mL}$	95	90	85	80	75	70	65	60	55	50	45	40	35	30

La teneur en DMSO dans les solutions à tester ne doit pas excéder 1 %.

Protocole d'évaluation de l'activité antiproliférative des extraits

L'activité antiproliférative des extraits est déterminée par l'utilisation du test de MTT. Ce test est basé sur la réduction métabolique de 3-(4,5 diméthylthiazol-2-yl) 2,5-diphényltétrazolium bromide (MTT) en formazan (Mosmann, 1983).

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 550 nm en utilisant un lecteur de microplaques. Les résultats sont exprimés en pourcentage de cellules viables.

Dépôt des cellules

Le test au MTT est réalisé dans des plaques de 96 puits. Le milieu de culture contenant les cellules est ajouté en raison de 50 µL dans chacun des puits. Le nombre de cellules par puits est de 4000. Pour dénombrer les cellules, on place une lamelle de verre sur la cellule de Malassez, sur laquelle on ajoute entre 15 µL de cellules en suspension. Après avoir attendu quelques minutes pour que les cellules se sédimentent, on peut compter le nombre de cellule dans 10 carrés (quadrillés). Le volume d'un carré quadrillé étant de 0,01 µL, en comptant 10 carrés, il suffit alors de multiplier le résultat par 100 pour obtenir le nombre de cellules par mL.

Pour notre cas, 40 cellules sont observables sur 10 carrés, on obtient un total de 4000 cellules par mL.

Dépôt des extraits

Pour chaque extrait, 50 µL des différentes dilutions sont ajoutés dans la plaque 96 puits. Le volume final dans chacun des puits est donc de 100 µL.

La plaque est maintenue sous incubation pendant 72 h à 37 ° C sous une atmosphère contrôlée à 5% de CO₂ et à 95% d'humidité.

Révélation de la croissance

Après le temps d'incubation de 72 h, 20 µL de MTT à 5 mg.L⁻¹ préparé dans du tampon PBS (Phosphate Buffered Saline) (pH = 7,4 ; 0,1 M) sont ajoutés dans chacun des puits. La plaque est maintenue à incuber pendant 5 h à 37 ° C sous une atmosphère contrôlée à 5% de CO₂ et à 95% d'humidité.

Le milieu de culture est ajouté, et les cristaux de formazan sont ajoutés dans le DMSO (200 µL dans chacun des puits). L'absorbance dans

chaque puits est mesurée à 550 nm par un lecteur de microplaques (Molecular Devices, Versa Max, tunable microplate reader)

Détermination du pourcentage d'inhibition

Le pourcentage d'inhibition est calculé pour 72 h d'incubation des cellules, en phase exponentielle de croissance selon l'équation ci-dessous :

$$\%I = 100 - \frac{DO_{\text{test}}(550 \text{ nm}, 72\text{h})}{DO_{\text{témoin}}(550 \text{ nm}, 72\text{h})} \times 100$$

Avec :

%I : Pourcentage d'inhibition d'une concentration donnée en extrait.

$DO_{\text{test } 550 \text{ nm}, 72 \text{ h}}$ = Absorbance mesurée à 550 nm après 72 h d'incubation des cellules en présence d'une concentration donnée en extrait.

$DO_{\text{témoin } 550 \text{ nm}, 72 \text{ h}}$ = Absorbance mesurée à 550 nm après 72 h d'incubation des cellules en absence d'extrait (témoin)

Traitement et analyse des données

L'analyse et l'interprétation statistiques des résultats de l'étude de l'activité antiproliférative des substances à tester ont été réalisées par le test de student. Les données ont été exprimées en $\text{ntipro} \pm \text{SD}$.

Résultats et discussion

Les résultats de l'activité antiproliférative des extraits du cœur de bois de *Pterocarpus Soyauxii* sur les lignées cellulaires cancéreuses sont représentés dans le tableau I. Ils révèlent une disparité des pourcentages d'inhibition selon les concentrations des extraits. Les résultats reportés dans le Tableau I, indiquent des variances significatives et la viabilité cellulaire est diversement affectée par différentes concentrations utilisées.

Tableau I : Résultat du pourcentage d'inhibition. Les valeurs correspondent à la Moyenne de deux répétitions (n=2)

Extraits (solutions)	Concentration ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	% Inhibition	
		MCF-7	CRL11147
E1	100,00	89,29 \pm 5,15** 55,42 \pm 3,98*	94,31 \pm 4,36**
E2	95,00	87,45 \pm 4,29**	93,67 \pm 3,19**
E3	90,00	66,45 \pm 5,35**	67,50 \pm 5,12**
E4	85,00	60,78 \pm 4,41**	64,38 \pm 5,47**
E5	80,00	56,63 \pm 7,16*	60,85 \pm 4,21**
E6	75,00	52,43 \pm 9,10*	57,38 \pm 4,06*
E7	70,00	50,81 \pm 9,50*	55,21 \pm 5,82*
E8	65,00	44,02 \pm 6,29*	48,95 \pm 2,59*
E9	60,00	42,42 \pm 6,68*	43,69 \pm 9,01*
E10	55,00	37,88 \pm 6,07	35,02 \pm 6,94
E11	50,00	33,78 \pm 7,49	25,30 \pm 8,73
E12	45,00	30,25 \pm 6,34	24,24 \pm 6,00

E ₁₃	40,00	28,85± 7,28	20,96± 6,68
E ₁₄	35,00	23,40± 5,16	4,68± 6,01
E ₁₅	30,00	17,40± 8,16	0,67± 3,54

*inhibition moyenne

** grande inhibition

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 montre que l'extrait aqueux du bois de cœur de *Pterocarpus soyauxii* présenterait une bonne activité antiproliférative sur les deux lignées cancéreuses. Les données indiquent une diminution de la viabilité cellulaire en fonction de la concentration ($\mu\text{g}/\text{mL}$).

L'analyse de ces résultats montre que les extraits colorants E₁, E₂, E₃, E₄ et E₅ ont une activité significative sur les deux lignées cellulaires cancéreuses. Les extraits E₆, E₇, E₈ et E₉ aussi montré une activité antiproliférative sur les lignées, mais moyenne. Par contre les extraits E₁₀, E₁₁, E₁₂, E₁₃, E₁₄ et E₁₅ n'induisent aucune inhibition de la prolifération sur les deux lignées cellulaires. Il faut cependant noter que selon la lignée cellulaire le pouvoir cytotoxique peut varier. Il sied de constater que les extraits dont la concentration est supérieure à 55 $\mu\text{g}/\text{mL}$ sont actives sur les souches cellulaires cancéreuses. On peut à priori noter que la concentration induit sur le potentiel d'inhibition des extraits, car on observe une régression linéaire des valeurs d'inhibition.

L'espèce *Pterocarpus soyauxii* est bien connue pour sa composition très variable en composés phénoliques (Biflavonoïdes, isoflavonoïdes, isoflavanes) (Cardon, 2003). Nombreuses études ont attribué aux polyphénols les propriétés anti cancérigènes (Bakana, 1984 ; Leven, 1979 ; Marshall, 1994). Les études les plus récentes portant essentiellement sur le rôle des composés phénoliques en tant qu'agents thérapeutiques dans le traitement de tumeurs tels que les mélanomes humains nous permettent de mettre un accent particulier sur les composés phénoliques de *Pterocarpus soyauxii*. Aussi, ces composés phénoliques ont prouvé leur activité antimicrobienne (Okoli, 2002), et leur pouvoir cytotoxique (Nkengfack, 2002). Cette analyse est en accord avec celle effectuée dans notre étude où les mêmes composés ont été identifiés comme inhibiteur de la prolifération des cellules cancéreuses.

Conclusion

Plusieurs travaux scientifiques ont été réalisés sur l'espèce *Pterocarpus soyauxii* et ont montré toute son importance sur le plan socio-économique à travers les multiusages dont elle fait l'objet. Ces travaux ont le mérite d'aborder des sujets ayant trait à l'écologie, la biologie de l'espèce

de même que l'anatomie de son bois. Ces dits travaux ont également le mérite de proposer des pistes relatives à la valorisation de l'espèce dans le domaine des teintures naturelles. La présente étude montre l'intérêt de l'espèce *Pterocarpus soyauxii* dans la recherche des substances bioactives à visée anticancéreuse. Elle a permis de montrer que *Pterocarpus soyauxii* présente une activité antiproliférative sur les lignées cancéreuses CRL11147 et MCF-7. Les résultats montrent que l'extrait aqueux de *Pterocarpus soyauxii* exerce une activité antiproliférative maximale sur les lignées cancéreuses. Au regard du potentiel activité antiproliférative démontrée, des études complémentaires *in vivo* sur modèle animal et cliniques appropriées devront être menées afin de garantir l'innocuité et l'efficacité des extraits colorants de l'espèce.

Remerciement

Les auteurs remercient les autorités locales du département de la Lékoumou, pour nous avoir facilité le contact avec les peuples autochtones pendant les enquêtes menées dans les différents villages.

Déclaration de disponibilité des données: L'ensemble de données générées et analysées au cours de la présente étude ne sont pas accessibles au public, mais sont disponibles auprès de l'auteur correspondant sur demande raisonnable.

Conflit d'intérêts : Les auteurs n'ont signalé aucun conflit d'intérêts.

Déclaration de financement : Les auteurs n'ont obtenu aucun financement pour cette recherche.

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. Anonyme (2022). Connaissance et promotion des cultures des peuples autochtones. Rapport de l'Institut National de Recherche et Etude en Sciences Humaines (INRESH).
3. Bakana, P. (1984). Recherché Systématique de l'Activité Biologique Attribuée à quelques Plantes médicinales Africaines. Thèse de Doctorat, Universiteit Antwerpen (U.I.A), 212 p.
4. Bouquet, A. (1969). Féticheurs et médecine traditionnelle au Congo Brazzaville. Paris, Memoires ORSTOM., 282p.

5. Burkill, H.M (1995): the useful plants of West Tropical Africa. 2nd Edition. Volume 3. Famillies J-L.Royal Botanic Garden, Kew, Richmond, United Kingdom. 857 pp.
6. Cardon, D. (2003). Le monde des teintures naturelles. Belin. Paris, France. 586 pp.
7. Cardon, D. (2007). Natural Dyes: Sources, Tradition, Technology and Science, Archetype publications, London, 576 p.
8. 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.
9. Huet, M. (2013). Les plantes médicinales chez les malades atteints de cancers : pratiques courantes et éléments de leur évaluation. *Bull. Cancer* 100: 485-94.
10. Leven, M., Vanden Berghe, D. A., Marten, L., Vlietinck, A., Iomweas, E. C. (1979). Screening of higher plants for biological activity. *Planta Medica*, 36, 311 – 312.
11. Madiélé Mabika, A.B., Elouma Ndinga, A.M., Bonazaba Milandou, L.J.C. et al (2024). Ethnobotanical Inventory and Evaluation of the dyeing potential of some species of Congolese flora, sources of naturel dyes among the craftsmen of Brazzaville. *International Journal of Development Research* 14 (6): 66045-66048.
12. Marshall, S. J., Russel, P. F., Wright, C. W., Anderson, M. M., Phillipson, J. D., Kirby, G. C., Warhurst, D. C., Schiff, P. L. Jr. (1994). In vitro antiplasmodial, antiamoebic, and cytotoxic activities of a series of benzylisoquinoline alkaloids. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 38, 96 – 103.
13. Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological. Methods*. 65: 55-63.
14. Nkengfack, A.E., Azebaze, G.A., Vardamides, J.C., Fomum, Z.T., Heerden, F.R.V. (2002). A prenylatedxanthone from *Allanblackia floribunda*, *Phytochemistry* 20, 381-384.
15. Okoli, A.S., Okeke, M.I., Iroegbu, C.U. and Ebo, P.U. (2002). Antibacterial activity of *Harungana madagascariensis* leaf extracts. *Phytotherapy Research*. 16, 174-179.
16. Singh, R., Jain, A., Panwan, S, Gupta, D., Khare, S. K. (2005) – Antimicrobial activity of natural dyes. *Dyes Pigm.*, 66, 99 – 102.
17. Spjut, R.W., and Perdue, Jr. (1976). Plant folklore: a tool for predicting sources of antitumor activity? *Cancer Treat. Rep.* 60, 979-985.