

Toxicité aiguë, cytotoxicité et effet antiradicalaire de l'extrait méthanolique des feuilles de l'asphodèle, *Asphodelus microcarpus*

H. Hosni, A. Salama, A. Abudunia, Y. Cherrah, A. Ibrahim, K. Alaoui

DANS **PHYTOTHÉRAPIE** 2020/5 Vol. 18 , PAGES 284 À 290
ÉDITIONS **JLE**

ISSN 1624-8597

DOI 10.3166/phyto-2019-0136

Date de mise en ligne : 27/09/2024

Article disponible en ligne à l'adresse

<https://stm.cairn.info/revue-phytotherapie-2020-5-page-284?lang=fr>



Découvrir le sommaire de ce numéro, suivre la revue par email, s'abonner...
Scannez ce QR Code pour accéder à la page de ce numéro sur Cairn.info.



Distribution électronique Cairn.info pour JLE.

Vous avez l'autorisation de reproduire cet article dans les limites des conditions d'utilisation de Cairn.info ou, le cas échéant, des conditions générales de la licence souscrite par votre établissement. Détails et conditions sur cairn.info/copyright.

Sauf dispositions légales contraires, les usages numériques à des fins pédagogiques des présentes ressources sont soumises à l'autorisation de l'Éditeur ou, le cas échéant, de l'organisme de gestion collective habilité à cet effet. Il en est ainsi notamment en France avec le CFC qui est l'organisme agréé en la matière.

Toxicité aiguë, cytotoxicité et effet antiradicalaire de l'extrait méthanolique des feuilles de l'asphodèle, *Asphodelus microcarpus*

Acute Toxicity, Cytotoxicity and Antioxidant Activities of Methanolic Extract of Asphodel Leaves, *Asphodelus microcarpus*

H. Hosni · A. Salama · A. Abudunia · Y. Cherrah · A. Ibrahimi · K. Alaoui

© Lavoisier SAS 2019

Résumé *Asphodelus microcarpus* (A.m.) est une plante largement utilisée en médecine traditionnelle marocaine pour ses propriétés médicinales qui restent variées et générales. Une extraction des principes actifs contenus dans les feuilles d'A.m. a été réalisée par macération à froid au méthanol. L'extrait obtenu a fait l'objet d'une étude in vitro de cytotoxicité qui a révélé un effet cytotoxique sur un modèle de cellules myéloïdes d'origine humaine ($IC_{50} = 7,81 \mu\text{g/ml}$). Par ailleurs, l'évaluation de l'extrait quant à son activité antioxydante par la méthode du réactif DPPH s'est révélée positive ($IC_{50} = 310 \mu\text{g/ml}$), et l'étude de sa toxicité aiguë in vivo sur un modèle animal (souris Swiss) lui confère une totale innocuité ($DL_{50} > 5\ 000 \text{ mg/kg}$). Ces études ont été complétées par un criblage phytochimique afin de mettre en évidence les familles de métabolites secondaires majoritaires identifiées ici comme des anthracénosides, tannins et phénols ; les alcaloïdes sont peu présents. Ainsi, la faible toxicité in vivo et l'éventuel pouvoir antiprolifératif de l'extrait fixe d'A.m. in vitro justifieraient son évaluation future sur différents modèles tumoraux.

Mots clés *Asphodelus microcarpus* · Toxicité aiguë · Cytotoxicité · Antioxydant · DPPH · MTT

Abstract *Asphodelus microcarpus* (A.m.) is one of the important plants used in traditional medicine in Morocco due to its various interesting chemical composition. An extraction of the bioactive compounds contained in leaves was carried out by cold maceration with methanol; cytotoxicity of A.m. extract was assessed using MTT (Tetrazolium bromide salt solution) and tumoral cells of myeloid cell lines ($IC_{50} = 7.81 \mu\text{g/ml}$). Also the extract was assessed for antioxidant activity using DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyle) method and it gave a positive result ($IC_{50} = 310 \mu\text{g/ml}$). The study of acute toxicity in vivo using Swiss mice as an animal subject was conducted to verify the safety of the leaves of A.m. at different doses ($DL_{50} > 5,000 \text{ mg/kg}$). These studies were completed with a phytochemical screening to identify the bioactive secondary metabolites such as anthocyanosides, tannins and phenols. Alkaloids were not abundant. Thus, the low toxicity in vivo and the antiproliferative potency of extract of A.m. leaves in vitro would justify its future evaluation on different tumor models.

Keywords *Asphodelus microcarpus* · Acute toxicity · Cytotoxicity · Antioxydant · DPPH · MTT

H. Hosni (✉) · K. Alaoui

Équipe de recherche de toxicité et pharmacodynamie des plantes aromatiques et médicinales (ERTP.PAM), laboratoire de pharmacologie et de toxicologie, faculté de médecine et pharmacie de Rabat (FMPR), université Mohammed-V (UMV), Maroc
e-mail : hosni.hanae@gmail.com

A. Salama · A. Abudunia · A. Ibrahimi
Laboratoire de biotechnologie Med-Biotech, FMPR, UMV, Maroc

Y. Cherrah
Laboratoire de pharmacologie et de toxicologie, FMPR, UMV, Maroc

Introduction

La phytothérapie est l'art de se soigner par les plantes médicinales ; elle est improprement dite « médecine douce », « douce » s'apparentant généralement à « sans danger ». Or, la phytothérapie peut être dangereuse selon les plantes et les doses administrées, et l'on parlera plutôt de « médecine issue de la tradition ». La médecine traditionnelle est définie comme la somme totale des connaissances, compétences et pratiques qui reposent, rationnellement ou non, sur les théories, croyances et expériences propres à une culture et qui sont utilisées pour garder les êtres humains en bonne santé ainsi que pour prévenir, diagnostiquer, traiter et guérir des

maladies physiques et mentales. Dans certains pays, les appellations médecine parallèle/alternative/douce sont synonymes de médecine traditionnelle [1].

La situation géographique du Maroc, privilégié par une double façade maritime ainsi que par sa diversité orographique avec quatre grandes chaînes montagneuses (Rif, Moyen Atlas, Haut Atlas et Anti-Atlas à altitudes dépassant 2 000 m dans le Rif, 3 000 m dans le Moyen Atlas et 4 000 m dans le Haut Atlas), lui confère une grande variabilité climatique accompagnée d'une diversité importante du couvert végétal et d'une flore riche et variée. La flore vasculaire compte 3 913 espèces et 1 298 sous-espèces (dont 426 sous-espèces types), réparties en 155 familles et 981 genres. Le nombre d'espèces endémiques s'élève à 640 espèces (16 %) et 280 sous-espèces (32 %) [2].

Ces chiffres traduisent fidèlement la richesse et la diversité de la flore marocaine. Les connaissances empiriques en matière de médecine traditionnelle par les plantes au Maroc se sont transmises oralement à travers les générations et se sont enrichies grâce à une situation géographique stratégique. Actuellement, les chercheurs se fondent de plus en plus sur la médecine traditionnelle et son savoir-faire pour extraire, identifier et doser à partir de la plante d'intéressantes molécules ou des principes actifs qui peuvent être utilisés en thérapeutique et répondre ainsi à des problèmes de santé humaine.

Par ailleurs, l'exploitation et le commerce des plantes aromatiques et médicinales (PAM) représentent, pour plusieurs familles marocaines dans le monde rural, une source de revenus non négligeable, il suffit de constater l'épanouissement du marché des plantes médicinales et la multiplication des vendeurs de PAM et des produits à base de plantes.

Le présent travail s'inscrit ainsi dans le cadre d'un programme de valorisation des PAM marocaines. Il a pour objectif d'étudier la toxicité aiguë (in vivo), la cytotoxicité (in vitro) et l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de l'asphodèle, *Asphodelus microcarpus* (A.m.).

Un criblage phytochimique a été réalisé afin de mettre en évidence les familles de métabolites secondaires majoritaires dotés de propriétés anticancéreuses, antioxydantes et anti-inflammatoires importantes [3], délimitant le screening pharmacologique réalisé dans cette étude.

Le choix de la plante objet de ce travail s'est porté sur l'asphodèle « A.m. » ou (البروق الصيفي) au vu de son utilisation traditionnelle ; elle pousse autour du bassin méditerranéen sur des terrains pauvres et moyennement arrosés, dans des régions sableuses et rocailleuses, généralement dans les forêts du Nord de l'Afrique [4]. En dialecte marocain, elle répond à différentes appellations telles *berwag*, *igri*, *îmegri*, *bliluz*, *âbliluz*.

Matériels et méthodes

Collecte et séchage de la plante

La plante a été récoltée au mois de mars 2015 dans la zone d'Ain Aouda, près de Rabat, elle a été identifiée par les botanistes de l'Institut scientifique de Rabat, et un échantillon d'A.m. est déposé sous le n° RAB78996, dans l'Herbier national, dont l'index Herbariorum est RAB [5], qui correspond au nom de la ville de Rabat, siège de cet herbier.

Mode d'extraction

Après séchage à température ambiante et à l'abri du soleil, les feuilles d'A.m. ont été broyées avant de faire l'objet d'une extraction par macération à froid au méthanol, répétée jusqu'à épuisement, suivie d'une filtration. Le filtrat est concentré à l'aide d'un rota-vapeur (60 °C), et l'extrait obtenu est conservé dans des flacons opaques et entreposé dans un endroit frais et sec.

Caractérisation phytochimique

La caractérisation et la mise en évidence des familles chimiques d'extrait des feuilles de l'A.m. ont été réalisées ici par les tests :

- anthracénosides : dérivés phénoliques de l'anthracène, ils sont souvent présents dans les plantes sous forme hétérosidique et mis en évidence par la réaction de Borntraeger [6] ;
- alcaloïdes : molécules organiques hétérocycliques azotées basiques, elles forment un précipité blanc ou coloré en réaction de Mayer et de Dragendorff [7] ;
- saponosides : hétérosides naturels, ils ont comme propriétés physicochimiques les plus caractéristiques la modification de la tension superficielle et le pouvoir moussant en solution aqueuse [6] ;
- tannins : complexes polyphénoliques capables de précipiter les protéines, ils sont détectables par la réaction de Batesmith [8,9] ;
- polyphénols : les teneurs en polyphénols totaux des différents extraits sont déterminées selon la méthode de Folin-Ciocalteu [10] ;
- flavonoïdes : responsables de la coloration des fleurs et des fruits et sont mises en évidence par la réaction de « cyanidine » qui est colorimétrique. L'apparition d'une couleur rouge indique la présence de flavonoïdes [11] ;
- quinones : composés aromatiques, leur recherche se fait par la réaction de Borntraeger. La présence de quinones libres est confirmée par addition de quelques gouttes de NaOH 0,1 M, lorsque la phase aqueuse vire au jaune, rouge ou violet [12].

Dosage des polyphénols

La teneur des phénols a été déterminée par spectrophotométrie selon la méthode de Folin-Ciocalteu par Spanos et Wroldstad [13] et modifiée par Lister et Wilson [14]. 0,5 ml de l'extrait méthanolique des feuilles d'A.m. sont mis en présence de 2,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu dilué à 1/10 à l'eau distillée. Le milieu est agité à l'aide d'un vortex, puis sont rajoutés 4 ml d'une solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3 : 7,5 %). Le mélange est ensuite incubé dans un bain-marie à 45 °C pendant 30 minutes, et l'absorbance est lue à 765 nm par spectrophotométrie UV-Vis-2450 Shimadzu contre un blanc. Une courbe d'étalonnage est préparée en utilisant l'acide gallique comme standard, les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g ES).

Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes a été déterminée par spectrophotométrie selon la méthode décrite par Dewanto et al. [15] ; 1 ml d'échantillon est rajouté à 6,4 ml d'eau distillée puis à 0,3 ml de NaNO_2 à 5 %. 0,3 ml d' AlCl_3 à 10 % est rajouté après cinq minutes, puis le mélange est laissé au repos. Après six minutes de repos, 2 ml de NaOH 1M sont rajoutés, l'ensemble est alors mélangé puis incubé à l'ombre à température ambiante pendant 30 minutes. L'absorbance est enregistrée contre un blanc à 510 nm. La rutine à 50–400 µg/ml est utilisée comme standard, et la teneur en flavonoïdes est exprimée en équivalent rutine par gramme d'extrait sec (mg ER/g ES).

Étude de la toxicité aiguë

La DL_{50} d'A.m. a été déterminée suivant la ligne directrice de l'Organisation de coopération et de développement économique (OCDE), n° 423 [16].

Les animaux utilisés dans les tests sont des souris Swiss, adultes, âgées de 2 à 2,5 mois et pesant 20 à 30 g provenant de l'élevage de l'animalerie centrale de la faculté de médecine et de pharmacie de Rabat. En l'absence de données sur la toxicité de la substance d'essai et pour des raisons liées au bien-être des animaux, la dose initiale utilisée est celle recommandée par la ligne directrice de l'OCDE, Ligne 423, soit 300 mg/kg par voie orale [16]. La dose de 2 000 mg/kg VO a par la suite été évaluée.

Test de l'activité antiradicalaire par méthode au DPPH

Le DPPH, 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle, radical libre de couleur violette, est réduit en un composé de couleur jaune en présence de composés antiradicalaires [17].

Un antioxydant aura la capacité de donner un électron au radical synthétique DPPH de coloration violette pour le stabiliser en DPPH^- de coloration jaune [18].

La mesure de la diminution de la coloration violette à la fin de l'expérience permet de déterminer l' IC_{50} , définie comme la concentration de l'extrait correspondant à 50 % d'inhibition.

Cinquante microlitres de différentes concentrations des échantillons de l'extrait sont mis en présence de 1 ml de la solution méthanolique (0,5 g/5 ml) de DPPH ; le volume est ajusté à 3 ml par ajout de méthanol dans chaque tube.

Les tubes sont ensuite mis à l'obscurité à température ambiante pendant 30 minutes. L'absorbance est mesurée à 517 nm. L'absorbance d'un échantillon témoin contenant la même quantité de méthanol et la solution de DPPH est utilisée comme témoin négatif. La quercitrine est utilisée comme témoin positif. L'activité antioxydante, ou le pourcentage d'inhibition du radical DPPH par les échantillons, a été calculée selon la formule suivante :

$$\text{AA}(\%) = ((\text{Abs control} - \text{Abs ech}) / \text{Abs control}) \times 100$$

avec AA(%) : activité antioxydante

Abs control : absorbance du témoin (DPPH/méthanol)

Abs ech : absorbance de l'échantillon (DPPH/extrait à tester)

Pour chaque concentration, le test est répété trois fois. L' IC_{50} est définie comme étant la concentration inhibitrice de l'échantillon nécessaire pour piéger 50 % du DPPH.

Étude de la cytotoxicité

Une lignée cancéreuse myéloïde provenant d'un patient suivi pour un cancer du sang de type LMA (leucémie myéloïde aiguë) au service d'oncologie du CHU de Fès a été utilisée afin d'évaluer l'effet antileucémique in vitro de l'extrait à l'étude. La croissance cellulaire globale a été évaluée au moyen du test colorimétrique MTT (3[4,5-diméthylthiazol-2yl]-bromure de diphényltétrazolium, Sigma Aldrich, France).

Test MTT

Ce test d'évaluation de la prolifération cellulaire est fondé sur la capacité des cellules vivantes à réduire le MTT, de couleur jaune, en bleu de formazan de couleur violette.

Les cellules ont été mises en culture dans un milieu MEC (matrice extracellulaire) fourni par la société Biopharma (Rabat) contenant un milieu de base MEM (*minimum essential medium*) supplémenté de 10 % de FBS (*fetal bovine serum*), 0,2 % d'antibiotiques, 0,2 % d'antifongiques et 1 % de L-glutamine, sur microplaque de 96 puits (à raison de 10 000 cellules par puits) dans un incubateur à CO_2 sous 5 % de CO_2 à 37 °C.

Après 24 heures d'incubation, l'extrait d'A.m. dont on souhaite mesurer l'effet sur la croissance cellulaire est rajouté à chaque puits. La plaque est incubée une seconde fois pendant 72 heures au terme desquelles est rajouté le MTT. Trois heures après ce rajout apparaît une coloration violette d'intensité proportionnelle au nombre de cellules vivantes dans chaque puits. Cette coloration a été évaluée quantitativement par spectrophotométrie en utilisant un lecteur de microplaque (ELx808 de marque Biotek) à une longueur d'onde de 550 nm [19].

L'essai a été analysé en tétraplication avec 12 dilutions en cascade 1 ; 1/2 ; 1/4 ; 1/8... à partir de la solution mère à 1 mg/ml.

Le pourcentage d'inhibition est calculé selon la formule :

$$\text{Pourcentage d'inhibition} = ((C - T)/C) \times 100$$

avec C : absorbance du témoin

T : absorbance du traitement

Résultats

Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction méthanolique obtenu par macération froide au méthanol des feuilles de l'A.m. est de 27,3 % (m/m).

Criblage phytochimique

Il ressort de l'analyse du tableau 1 que les feuilles d'A.m. sont riches en anthracénosides, en tannins flavaniques, en polyphénols et en flavonoïdes. Elles contiennent également des alcaloïdes à l'état de trace.

Dosage des polyphénols

L'analyse quantitative des phénols a été déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage dressée à partir d'une

gamme de solutions standard d'acide gallique établie séparément. La quantité des phénols totaux dans les extraits est exprimée en mg EAG/g ES.

La quantité de polyphénols est évaluée à 39,7 mg EAG/g ES.

Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé par la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl₃), en adaptant la même procédure, utilisant la courbe d'étalonnage de la rutine, et la quantité des flavonoïdes est exprimée en mg ER/g ES.

La quantité des flavonoïdes est évaluée à 45 mg ER/g ES.

Étude de la toxicité aiguë

La dose initiale de 300 mg/kg VO avec une répétition d'essai n'a induit aucun cas de décès. Selon les règles dictées par l'OCDE 423, la dose d'essai a été augmentée à 2 000 mg/kg VO. Avec un test confirmatif dans les mêmes conditions expérimentales, aucun décès n'a également été enregistré.

Ainsi, d'après les résultats obtenus (Fig. 1), et selon la ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, méthode par classe de toxicité aiguë, adoptée le 17 décembre 2001, l'on peut conclure que la DL₅₀ de l'extrait fixe des feuilles d'A.m. est supérieure à 5 000 mg/kg VO.

Étude de l'effet antiradicalaire

Les résultats présentés sur la figure 2 quant à l'activité antiradicalaire de l'extrait méthanolique des feuilles d'A.m. montrent une IC₅₀ évaluée à 310 µg/ml, soit 0,310 mg/ml.

Étude de la cytotoxicité

Pour étudier l'effet antileucémique de l'extrait méthanolique des feuilles d'A.m., une série de dilutions en cascade (1 000–0,48 µg/ml) a été préparée à partir d'une concentration de 1 g/ml de ce même extrait. Par la suite, les cellules ont été

Tableau 1 Familles de composés chimiques mis en évidence dans les différents extraits	
Test	Feuilles
Détection des anthracénosides	+
Détection des alcaloïdes	(+/-)
Détection des saponosides	-
Détection des tannins (flavaniques)	+
Détection des polyphénols	+
Détection des flavonoïdes	+
Détection des quinones	-
- : absence ; (+/-) : faible présence ; + : abondant	

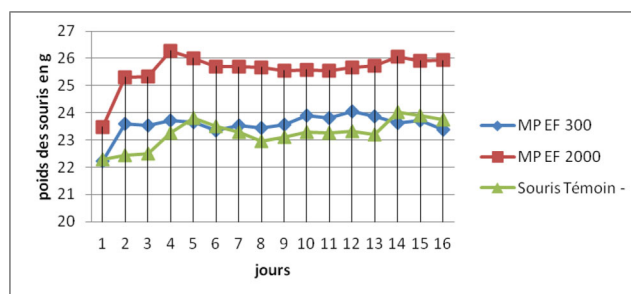


Fig. 1 Évolution de la moyenne des poids des souris après administration de l'extrait méthanolique des feuilles d'*Asphodelus microcarpus* à 300 mg/kg VO et 2 000 mg/kg VO

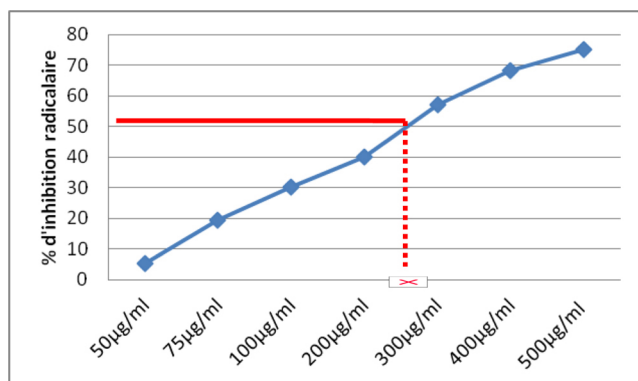


Fig. 2 Évolution du pourcentage d'inhibition radicalaire par l'extrait méthanolique des feuilles d'A.m. en fonction de la concentration

traitées par les différentes dilutions et incubées à 37 °C pendant 48 heures. La viabilité et la prolifération des cellules ont été analysées en utilisant le test de MTT. Les pourcentages d'inhibition de la croissance cellulaire sont représentés sur la figure 3. Enfin a été déterminée l'IC₅₀ ou concentration inhibitrice de 50 % du taux de croissance de la population cellulaire considérée après trois jours de culture en présence de l'extrait fixe d'A.m. à 7,81 µg/ml. Ces résultats indiquent que l'extrait méthanolique des feuilles d'A.m. induit une activité antiproliférative sur les cellules myéloïdes à partir de la concentration 7,81 µg/ml.

Discussion

À travers le monde, la médecine traditionnelle joue un rôle important dans la prévention et le traitement de plusieurs maladies [20,21].

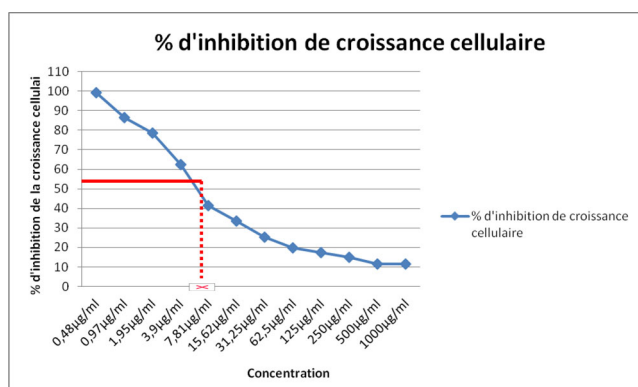


Fig. 3 Pourcentage de croissance des cellules cancéreuses myéloïdes en fonction des différentes concentrations de l'extrait méthanolique des feuilles d'A.m.

Au Maroc, les PAM sont utilisées de manière empirique, d'où la nécessité de mieux les valoriser pour qu'elles soient utilisées dans la thérapie et en tirer scientifiquement, ce qui pourrait être utile à la santé et au bien-être. Dans cette perspective, le présent travail, qui s'inscrit dans le cadre d'un programme de valorisation des PAM marocaines, a été consacré à l'étude de la toxicité aiguë (in vivo), l'activité antioxydante et l'effet cytotoxique (in vitro) de l'extrait méthanolique de l'asphodèle, A.m. Le rendement d'extraction méthanolique obtenu par macération froide au méthanol des feuilles d'A.m. a été évalué à 27,3 % (m/m).

Le criblage phytochimique a permis de mettre en évidence la richesse des feuilles de l'Asphodèle en anthracénosides, ce qui confirme les travaux antécédents de Hammouda et al. [22] et El-Ghaly [23]. Une autre recherche réalisée par Di Petrillo et al. [24] a mis en évidence des teneurs élevées en polyphénols et en flavonoïdes, ce que nous confirmons dans la présente étude.

Le criblage phytochimique a également révélé la présence de quelques traces d'alcaloïdes, et puisque cette plante est utilisée en médecine traditionnelle marocaine et par voie interne, une étude de son innocuité a été effectuée via l'évaluation de la toxicité aiguë in vivo, qui a soulevé que la DL₅₀ de l'extrait fixe des feuilles d'A.m. est supérieure à 5 000 mg/kg VO, ce qui confère à l'extrait une toxicité classée très faible, voire absente [25].

Nous nous sommes intéressés par la suite à l'évaluation de l'activité antioxydante, puisque les antioxydants jouent un rôle important dans le métabolisme humain. En effet, le déséquilibre entre les antioxydants et les radicaux libres conduit au stress oxydatif [26]. À cet effet, nous avons effectué le test antioxydant fondé sur le piégeage du radical libre DPPH, révélant une IC₅₀ de l'extrait méthanolique de 310 µg/ml.

Selon Di Petrillo et al. [27], l'extrait éthanolique a un pouvoir antioxydant supérieur, avec une IC₅₀ de 55,9 µg/ml, tandis que l'extrait méthanolique des feuilles d'A.m. a montré une IC₅₀ de 140,85 µg/ml, lui conférant un pouvoir antiradicalaire deux fois plus important que celui de l'extrait méthanolique de notre espèce végétale, ce qui signifie que les composés chimiques extraits d'une plante sont variables selon le type de solvant d'extraction et l'origine géographique de la plante récoltée.

Une forte relation entre l'activité antioxydante et la teneur en polyphénols a été montrée par plusieurs travaux antécédents [28–34]. À cet effet, on a effectué un dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes afin de déterminer leurs teneurs dans l'extrait méthanolique d'A.m.

Les résultats de ce dosage consistent en une quantité des polyphénols = 39,7 mg EAG/g ES et de flavonoïdes = 45 mg ER/g ES. Di Petrillo et al. ont évalué un taux équivalent en polyphénols (35,48 mg EAG/g ES) contrairement aux flavonoïdes en faible quantité (17,28 mg ER/g ES)

[27]. Cette variation peut être expliquée par l'effet des conditions pédoclimatiques du pays d'origine.

La présence des anthracénosides, tannins flavaniques, polyphénols, flavonoïdes, ainsi que quelques traces d'alcaloïdes a été mise en évidence. Ces métabolites secondaires présents dans la plante peuvent être responsables de plusieurs activités pharmacologiques, notamment des propriétés antitumorales [34,35]. Ainsi, l'étude de l'activité cytotoxique a montré que l'extrait méthanolique des feuilles d'A.m. induit une activité antiproliférative sur les cellules myéloïdes LMA à partir de la concentration 7,81 µg/ml. Une étude antérieure menée par Aboul-Enein et al. a montré que l'effet anticancéreux de l'A.m. induit sur les cellules EACC, une lignée isolée de la tumeur d'ascite chez la souris, est très réduit (extrait aqueux : 9,09 % ; extrait éthanolique : 1,94) en le comparant à d'autres plantes égyptiennes telles *Atriplex* Sp., *Astragalus pinosus*, *Cistache phelypaea* et *Solanum nigrum* [36].

Ghoneim et al. ont réussi à isoler et à caractériser des anthraquinones antileucémiques à effet cytotoxique sur les cellules HL60 et K562, avec IC₅₀ respectivement pour : l'asphodéline-10'-oxanthrone-10'-β-D-arabinopyranoside (1) (0,07 µm ; 0,29 µm), l'asphodéline-10'-oxanthrone-10'-β-D-xylopyranoside (2) (0,35 µm ; 0,36 µm), chrysalodine-10'-oxanthrone-10'-β-D-glucopyranoside (3) (3,10 µm) ; 4,10 µm) et également des anthraquinones connues ; la ramosine (4) (1,50 µm ; 2,50 µm) et l'émodine (5) (1,50 µm ; 2,90 µm), dans lesquelles 1, 2 et 3 sont nouveaux [37], et dans une autre étude, Ghoneim et al. ont isolé neuf autres nouveaux composants dont 7 et 9 sont doués d'un potentiel cytotoxique plus important contre les lignées leucémiques HL60 (0,08 µm ; 0,024 µm) et K562 (0,15 µm ; 0,065 µm) [38].

Pour l'extrait éthanolique des feuilles d'A.m., l'étude menée par Di Petrillo et al. a montré qu'il n'y a pas d'effet cytotoxique sur les cellules A549 (IC₅₀ > 100 µg/ml) [24].

L'extrait d'A.m. a influencé la croissance des cellules LMA de la présente étude et des cellules HL60 et K562 de l'étude menée par Ghoneim et al. [38] ; par contre, il n'a pas d'action sur les cellules A549 selon l'étude réalisée par Di Petrillo et al. [24].

Cette variation d'activité cytotoxique peut être expliquée par un effet cytotoxique sélectif.

Conclusion

Le criblage phytochimique a montré une richesse des feuilles d'A.m. en anthracénosides, tannins flavaniques, polyphénols et flavonoïdes. Elles contiennent également quelques traces d'alcaloïdes.

L'étude de la toxicité aiguë a permis de prouver que l'extrait méthanolique des feuilles est faiblement toxique in

vivo par voie orale (DL₅₀ > 5 000 mg/kg VO), ce qui lui confère un caractère d'innocuité.

In vitro, l'étude de l'activité cytotoxique a montré un effet anti leucémique significatif de l'extrait à partir de la concentration 7,81 µg/ml, l'on en déduit que les feuilles d'A.m. agissent sur les cellules leucémiques. Selon la littérature [24], les feuilles n'ont pas influencé la croissance d'autres lignées cellulaires cancéreuses, ce qui confère à leur potentiel anticancéreux un caractère sélectif.

Un pouvoir antiradicalaire à partir de la concentration 310 µg/ml a été mis en évidence, il peut être dû à la présence des polyphénols (39,7 mg EAG/g ES) et des flavonoïdes (45 mg ER/g ES) dans les feuilles d'A.m.

La richesse de l'A.m. du Maroc en métabolites secondaires ouvre de nouvelles perspectives expérimentales à envisager telles que la recherche de propriétés anti-inflammatoires des extraits in vivo. En raison de sa faible toxicité in vivo et de son potentiel antiprolifératif in vitro, il serait nécessaire de tester maintenant l'extrait des feuilles sur d'autres différents modèles tumoraux.

Remerciements Nos sincères remerciements sont adressés en premier lieu au Dr El Fehri Senane Haddou pour l'intérêt qu'elle avait porté à ce travail de recherche. Nous tenons à lui exprimer notre profonde gratitude pour son aide et ses qualités humaines incomparables.

Nous remercions également le Pr Taleb Mohamed Sghir et le Dr Khamar Hamid pour avoir assuré l'identification botanique du matériel végétal, ainsi que leur soutien aussi bien moral que matériel tout au long de ces travaux de recherche

Liens d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts.

Références

1. Organisation mondiale de la santé (2000) Principes méthodologiques généraux pour la recherche et l'évaluation relatives à la médecine traditionnelle. WHO_EDM_TRM_2000.1
2. Bellakhdar J (1997) La pharmacopée marocaine traditionnelle : médecine arabe ancienne et savoir populaire. Ed Ibis Press, Paris (France), 759 p
3. Verpoorte R, Alfermann AW (2000) Metabolic engineering of plant secondary metabolism. Kluwer Academic Publishers, RO. Box 17, 3300 AA Dordrecht, The Netherlands
4. Aafi A, Taleb MS, Fechtal M (2002) Espèces remarquables de la flore du Maroc. Centre national de la recherche forestière, BP 763 Agdal-Rabat, Maroc
5. Thiers B (2018) [continuously updated] Index Herbariorum: a global directory of public herbaria and associated staff. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium
6. Dohou N, Yamni K, Badoc A, et al (2003) Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine, *Thymelaea lythroides*. Bull Soc Pharm Bordeaux 142:61-78

7. Daoudi A, Hrouk H, Belaidi R, et al (2016) Valorisation de *Ruta montana* et *Ruta chalepensis* : étude ethnobotanique, screening phytochimique et pouvoir antibactérien. *J Mater Environ Sci* 7:926–35
8. Julkunen-Tiitto R (1985) Phenolic constituents in the leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics. *J Agric Food Chem* 33:213–7
9. Kumar G, Karthik L, Vankata, K, et al (2013) Phytochemical composition and in vitro antioxidant activity of aqueous extract of *Aerva lanata* (L.) Juss. ex Schult. Stem (Amaranthaceae). *Asian Pac J Trop Med* 6:180–7
10. Zahin M, Aqil F, Ahmad I (2009) The in vitro antioxidant activity and total phenolic content of four Indian medicinal plants. *Int J Pharm Pharm Sci* 1:88–95
11. Shibata K, Nagai I, Et Kishida M (1916) The occurrence and physiological significance of flavone derivatives in plants. *J Biol Chem* 28:93–108
12. Alilou H, Bencharki B, Hassani LMI, et al (2014) Screening phytochimique et identification spectroscopique des flavonoïdes d'*Asteriscus graveolens* sub sp. odorus. *Rev Int Sci Technol* 10:3
13. Spanos GA, Wrolstad RE (1990) Influence of processing and storage on the phenolic composition of Thompson seedless grape juice. *J Agric Food Chem* 38:1565–71
14. Lister E, Wilson P (2001) Measurement of total phenolics and ABTS assay for antioxidant activity. *Crops Research Institute, Lincoln, New Zealand*
15. Dewanto V, Wu X, Liu RH (2002) Processed sweet corn has higher antioxidant activity. *J Agric Food Chem* 50:4959–64
16. Ligne directrice de L'OCDE pour les essais de produits chimiques, 17 décembre 2001, 423. Toxicité orale aiguë : méthode par classe de toxicité aiguë
17. Sánchez-Moreno C (2002) Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Sci Technol Int* 8:121–37
18. Li H, Cheng K, Wong C, et al (2007) Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food Chem* 102:771–6
19. Abudunia AM, Marmouzi I, Faouzi ME, et al (2017) Anticandidal, antibacterial, cytotoxic and antioxidant activities of *Calendula arvensis* flowers. *J Mycol Med* 27.1:90–7
20. Mehta RG, Murillo G, Naithani R, et al (2010) Cancer chemoprevention by natural products: how far have we come? *Pharm Res* 27:950–61
21. Soobrattee MA, Bahorun T, Aruoma OI (2006) Chemopreventive actions of polyphenolic compounds in cancer. *Biofactors* 27:19–35
22. Hammouda FM, Rizk AM, Seif El-Nasr MM (1974) Quantitative determination and seasonal variation of the anthraquinones of certain Egyptian *Asphodelus* species. *Pharmazie* 29.9:609–10
23. El-Ghaly ES (2017) Phytochemical and biological activities of *Asphodelus microcarpus* leaves. *J Pharmacogn Phytochem* 6:259–64
24. Di Petrillo A, Fais A, Pintus F, et al (2017) Broad-range potential of *Asphodelus microcarpus* leaves extract for drug development. *BMC Microbiol* 17:159
25. Raynaud Par J, Abdel-Gawad MM (1974) Contribution à l'étude chimiotaxinomique du genre *Asphodelus* (Liliaceae). Publications of the Lyon Linnéenne Society, Lyon, France
26. Yopez B, Espinosa M, López S, et al (2002) Producing antioxidant fractions from herbaceous matrices by supercritical fluid extraction. *Fluid Phase Equilibria* 194–197:879–84
27. Di Petrillo A, González-Paramás AM, Era B, et al (2016) Tyrosinase inhibition and antioxidant properties of *Asphodelus microcarpus* extracts. *BMC Complement Altern Med* 16:453
28. Yun Suk H, Tae Hee H, Won Hi H (2004) Effective extraction of oligomeric proanthocyanidin (OPC) from wild grape seeds. *Bio-technol Bioprocess Eng* 9:471–5
29. Makris DP, Boskou G, Andrikopoulos NK (2007) Recovery of antioxidant phenolics from white vinification solid by-product employing water/ethanol mixtures. *Bioresour Technol* 98:2963–7
30. Baydar NG, Özkan G, Yaşar S (2007) Evaluation of the antiradiation and antioxidant potential of grape extracts. *Food Control* 18:1131–6
31. Li H, Wang X, Li P, et al (2008) Comparative study of antioxidant activity of grape (*Vitis vinifera*) seed powder assessed by different methods. *J Food Drug Anal* 16:67–73
32. Angelov G, Boyadzhiev L, Georgieva S (2008) Antioxidant properties of some Bulgarian wines. *J Int Sci Publ: Mater Methods Technol* 3:143–50
33. Adawi K (2017) Comparison of the total phenol, flavonoid contents and antioxidant activity of methanolic roots extracts of *Asphodelus microcarpus* and *Asphodeline lutea* growing in Syria. *Int J Pharmacogn Phytochem Res* 9:159–64
34. Sparg SG, Light ME, Van Staden J (2004) Biological activities and distribution of plant saponins. *J Ethnopharmacol* 94:219–43
35. Fiot J, Sanon S, Azas N, et al (2006) Phytochemical and pharmacological study of roots and leaves of *Guiera Senegalensis* J.F. Gmel (Combretaceae). *J Ethnopharmacol* 106:173–8
36. Aboul-Enein A, Abu F, Ela E, et al (2012) Traditional medicinal plants research in Egypt: Studies of antioxidant and anticancer activities. *J Med Plants Res* 6:689–703
37. Ghoneim MM, Ma G, El-Hela AA, et al (2013) Antileukemic anthraquinones from *Asphodelus microcarpus*. *Planta Med* 79: PN17, DOI: 10.1055/s-0033-1348698
38. Ghoneim MM, Ma G, El-Hela AA, et al (2013) Biologically active secondary metabolites from *Asphodelus microcarpus*. *Nat Prod Commun* 8:1117–9