

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

المدرسة الوطنية العليا للفلاحة الحراش –الجزائر-  
ECOLE NATIONALE SUPERIEURE AGRONOMIQUE EL-HARRACH –ALGER-

## Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de master

Département : Technologie alimentaire  
Spécialité : Nutrition humaine

### THEME

L'évaluation de l'activité pharmaco-toxicologique de l'extrait  
éthanolique des feuilles du Graviola (*Annona muricata*).

Soutenu le : 28/09/2017

Présenté par : Mlle MAHIOUTI Taous

#### Jury :

Président : M.BELLAL M.	Professeur à l'ENSA.
Promoteur : M. MEKIMENE L.	Maitre de conférences A à l'ENSA.
Co-promoteur : M.CHADER H.	Maitre de conférences A à la F. Médecine Alger.
Examineurs : M. BENCHABANE O.	Maitre de conférences A à l'ENSA.
Mlle BECHOHRA L.	Maitre de conférences B à l'USTHB.

Promotion 2012-2017

# Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale.....	1
Chapitre I : présentation de l'espèce <i>Annona muricata</i> .....	3
1. Noms communs.....	3
2. Classification.....	3
3. Distribution et description botanique.....	3
4. valeur nutritionnelle.....	4
5. Utilisations alimentaires.....	5
6. Usages en médecine traditionnelle .....	5
7. Phytochimie.....	6
7.1. Les acétogénines.....	6
7.2. Les alcaloïdes .....	7
7.3. Les composés phénoliques.....	7
8. Activités pharmacologiques .....	8
8.1. Activité cytotoxique .....	8
8.2. Activité antidiabétique .....	8
8.3. Activité antioxydante.....	9
8-4 Activité antibactérienne.....	9
9. toxicité.....	9
Chapitre II : culture cellulaire .....	11
1. Introduction .....	11
2. Propriétés biologiques d'une cellule .....	11
2.1. Le cycle cellulaire.....	11
2.2. La mort cellulaire .....	12
3. Origine et obtention des cellules (la culture primaire).....	13
3.1. Récolte d'échantillon .....	13
3.2. Obtention des cellules.....	13
4. Lignées cellulaires.....	14
5. Les exigences de base des cellules en culture.....	14
5.1. Les milieux de culture .....	14
5.2. Environnement physico-chimique.....	15
5.3. Entretien des cultures.....	16
6. Domaines d'application.....	16
Chapitre III : Le Cancer .....	17
1. Généralités.....	17
2. Caractéristiques d'une cellule cancéreuse.....	17
3. Le stress oxydatif .....	18

4. Les défenses antioxydantes .....	19
5. Cancer et Phytothérapie .....	19
<b>Chapitre I : Matériels et méthodes .....</b>	<b>21</b>
1. Introduction .....	21
1.1. Terrains de stage.....	21
1.2. Origine de la matière première utilisée dans notre étude .....	21
1.3. Préparation de l'extrait sec (extraction éthanolique).....	22
2. Analyse phytochimique et activité antioxydante .....	22
2.1. Dosage des phénols totaux .....	22
2.2. Dosage des flavonoïdes .....	23
2.3. Evaluation de l'activité antioxydante.....	23
3. L'étude <i>In vitro</i> .....	24
3.1. Matériels.....	24
3.1.1. Matériel biologique.....	24
3.1.2. Matériel végétal.....	25
3.1.3. Equipements .....	25
3.1.4. Consommable et petit matériel.....	25
3.2. Méthodes.....	25
3.2.1. Évaluation de l'effet cytotoxique.....	25
3.2.1.1. Test MTT.....	25
3.2.1.2. Test du rouge neutre.....	26
3.2.2. Quantification du stress oxydatif « Dosage du malondialdéhyde (MDA) ».....	27
3.2.3. Evaluation de l'effet antiprolifératif et cytostatique.....	28
3.2.3.1 Test de clonogénicité.....	28
3.2.3.2. Test d'effet cytostatique.....	29
4. Etude Statistique.....	31
<b>Chapitre II : résultats et discussions.....</b>	<b>33</b>
1. Analyse phytochimique et activité antioxydante .....	33
1.1. Dosage des phénols totaux et des flavonoïdes.....	33
1.2. Evaluation de l'activité antioxydante.....	34
2. L'étude <i>In vitro</i> .....	36
2.1. Tests de viabilité cellulaire.....	36
2.1.1. Test MTT.....	36
2.1.2. Test de rouge neutre.....	39
2.2. Quantification du stress oxydatif « Dosage du malondialdéhyde (MDA) .....	40
2.3. Evaluation de l'effet antiprolifératif et cytostatique .....	42
2.3.1. Test de clonogénicité.....	42
2.3.1. Test d'effet cytostatique .....	44
<b>Conclusion et perspectives .....</b>	<b>45</b>

**Références bibliographiques .....47**

**Annexes**

## Résumé

L'espèce *Annona muricata* connue sous le nom de «Graviola» a été largement utilisée dans la médecine traditionnelle pour le traitement des tumeurs. Le but de cette étude est d'évaluer les propriétés cytotoxiques et antiprolifératives de l'extrait éthanolique des feuilles du Graviola sur deux lignées cellulaires tumorales HT-29 l'adénocarcinome colorectal humain et A549 l'adénocarcinome alvéolaire humain. Cette étude consiste aussi à déterminer leur composition phytochimique, et ses propriétés anti-oxydantes. Nos résultats ont démontré la richesse de notre extrait en phénols et en flavonoïdes ce qui lui confère une activité anti-oxydante plus au moins importante. Pour l'étude in vitro la concentration de notre extrait avait un effet très hautement significatif sur l'activité cytotoxique révélé par le test MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium) et sur l'activité anti proliférative révélé par le test de clonogenicité et le test cytotatique. Ces résultats peuvent être considérés comme une base scientifique pour la réalisation d'autres études et de confirmer le pouvoir anticancéreux des feuilles du Graviola.

**Mots clés :** *Annona muricata* , activité cytotoxique ,activité antiproliférative , Activité antioxydante.

The *Annona muricata* species known as "Graviola" has been widely used in traditional medicine for the treatment of tumors. The aim of this study is to evaluate the cytotoxic and antiproliferative properties of the ethanolic extract of the Graviola leaves on two human tumor cell lines HT-29 human colorectal adenocarcinoma and A549 human alveolar adenocarcinoma. This study also consists in determining their phytochemical composition, and its antioxidant properties. Our results have demonstrated the richness of our extract in phenols and flavonoids which gives it an antioxidant activity more or less important. For the in vitro study, the concentration of our extract had a very highly significant effect on the cytotoxic activity revealed by the MTT test (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium) and the anti-proliferative activity revealed by the clonogenicity test and the cytostatic test. These results can be considered as a scientific basis for further studies and to confirm the anticancer potency of Graviola leaves.

**Key words** *Annona muricata*, cytotoxic activity, antiproliferative activity, antioxidant activity.

لقد استخدمت نبتة الغرافيو لا على نطاق واسع في الطب التقليدي لعلاج الأورام. الغرض من هذه الدراسة هو تقييم فعالية المستخلص الايتانولي لاوراق الغرافيو لا في القضاء على الخلايا السرطانية وإيقاف تكاثرها وذلك بتجربتها على نوعين من الخلايا السرطانية خلايا سرطان القولون وخلايا سرطان الرئة. هذه الدراسة تهدف أيضا الى تحديد تركيبها الكيميائي وخصائصها المضادة للأكسدة. لقد أظهرت النتائج ثراء المستخلص بالفينولات والفلافونويدات مما يعطيها نشاط مضاد للأكسدة. ومن جهة أخرى التراكيز المختلفة للمستخلص أظهرت تأثيرا كبيرا جدا في القضاء على الخلايا السرطانية وإيقاف تكاثرها. ويمكن اعتبار هذه النتائج كقاعدة علمية لاجراء المزيد من الدراسات لتأكيد تأثير أوراق الغرافيو لا على الخلايا السرطانية.

**كلمات مفتاحية** الغرافيو لا، الخلايا السرطانية، نشاط مضاد للأكسدة.