

Le projet « Conservation de la Biodiversité et Découverte de Médicaments à Madagascar » s'insère dans le programme « International Cooperative Biodiversity Group (ICBG) ». Un de ses objectifs consiste à chercher des nouvelles substances biologiquement actives à partir des ressources naturelles de Madagascar. Les résultats obtenus de trois plantes à propriété antiplasmodiale ont fait l'objet de synthèse dans le précédent chapitre.

J'ai également contribué à la recherche de substances à propriété anticancéreuse menée dans le cadre de ce projet. Les résultats obtenus dans ce domaine sont surtout marqués par l'isolement et l'identification d'un grand nombre de composés biologiquement actifs aussi bien nouveaux que connus à partir des parties de plantes récoltées dans deux sites à l'Est et au Nord de Madagascar. Ces composés appartiennent à différentes familles chimiques : triterpénoïdes, flavonoïdes, alcaloïdes, limonoïdes, anthraquinones, saponines, cardénolides, diterpènes, xanthones, acétogénines, polyphénols, lignanes, etc. Ils ont donné lieu à 47 publications pour lesquelles je suis co-auteur. Ce quatrième chapitre se propose de rapporter les principaux résultats obtenus de plantes à propriété anticancéreuse.

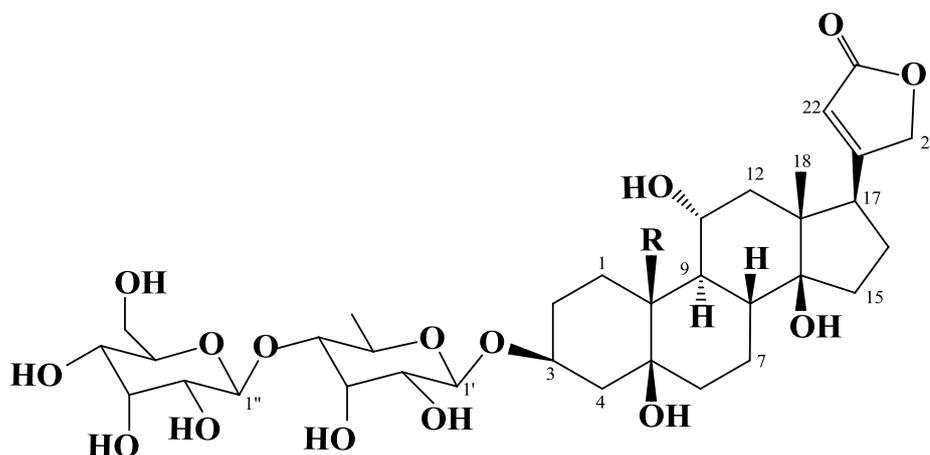
Parmi les plantes examinées figurent *Elaeodendron alluadianum* (Celastraceae), *Macaranga alnifolia* (Euphorbiaceae) et *Mallotus oppositifolius* (Euphorbiaceae). Leurs investigations chimiques ont conduit à l'isolement de nouveaux composés avec une très forte cytotoxicité sur la lignée de cellules cancéreuses A2780 de l'ovaire humain.

I. Cas d'*Elaeodendron alluadianum* H. Perrier

Elaeodendron (Celastraceae) est un genre comprenant 40 espèces que l'on rencontre au Mexique, en Afrique, Inde, Mélanésie et Australie.¹⁰⁸ Il renferme des flavonoïdes, terpénoïdes et cardénolides. A Madagascar, certaines plantes appartenant à ce genre sont connues sous les noms vernaculaires « Hazondrano, Fanindravina, Moina », et sont rapportées toxiques en causant des vertiges et éblouissements.

¹⁰⁸ Archer, R.H., Van Wyck, A.E.S. (1998). A taxonomic revision of *Elaeodendron* (Celastraceae) in Africa. S. Afr. J. Bot., 64: 93 - 109

L'extrait éthanolique des tiges d'*E. alluadianum* a montré une activité cytotoxique sur la lignée de cellules cancéreuses A2780 de l'ovaire avec une valeur de Cl_{50} égale à 3,3 $\mu\text{g/mL}$. Son fractionnement bio-guidé a conduit à l'isolement de deux nouveaux hétérosides cardiotoniques dénommés elaeodendroside V (**8.1**) et elaeodendroside W (**8.2**) (Figure 16).



8.1 : R = CH_2OH

8.2 : R = CHO

Figure 16: Structures chimiques des produits **8.1** – **8.2** issus d'*E. alluadianum*

Les structures chimiques d'elaedendroside V (**8.1**) et elaeodendroside W (**8.2**) diffèrent par l'état d'oxydation du carbone en position 19, avec un groupement hydroxyméthyle pour le premier produit et un aldéhyde pour le second.

Les deux produits **8.1** et **8.2** ont montré une forte cytotoxicité sur la lignée cellulaire cancéreuse A2780 de l'ovaire avec des valeurs de Cl_{50} égales à 0,12 et 0,07 μM , respectivement. Le témoin positif constitué par le paclitaxel admet une valeur de Cl_{50} égale à 0,024 μM . Bien qu'ils soient très cytotoxiques, elaeodendroside V (**8.1**) et elaeodendroside W (**8.2**) n'ont pas trouvé d'applications cliniques en tant qu'anticancéreux du fait de leur toxicité. En effet, les hétérosides cardiotoniques sont connus pour leur effet cardiaque qui peut être nocif.

Les résultats obtenus d'*E. alluudianum* ont été valorisés sous forme d'une publication dans la revue « Bioorganic and Medicinal Chemistry ».¹⁰⁹

II. Cas de *Macaranga alnifolia* Baker

Macaranga est un large genre de la famille Euphorbiaceae, mais peu représenté à Madagascar avec seulement une dizaine d'espèces. Il a déjà fait l'objet d'un certain nombre d'investigations chimiques qui rapportent la caractérisation de terpénoïdes, flavonoïdes et tannins.^{110,111,112} *Macaranga alnifolia* Baker est une espèce endémique de Madagascar utilisée en médecine traditionnelle contre la toux et les rhumes. Plusieurs parties de la plante ont été récoltées à l'extérieur du Parc National de Zahamena dans la région Atsinanana en 2002.

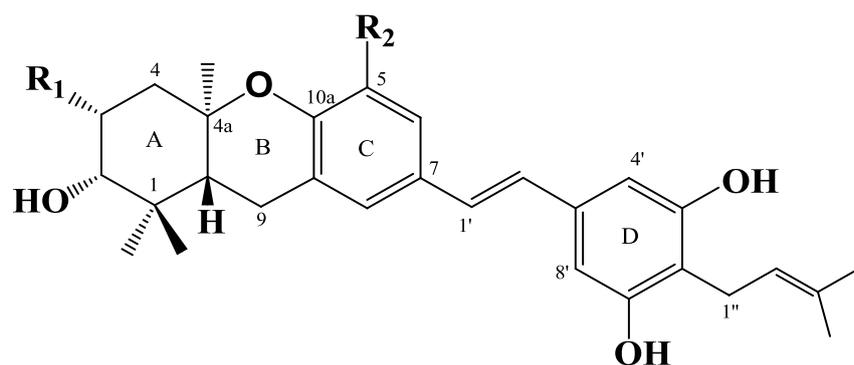
L'extrait éthanolique des fruits de *M. alnifolia* a été soumis à un fractionnement bioguidé car il a montré une cytotoxicité sur la lignée de cellules cancéreuses A2780 de l'ovaire avec une valeur de CI_{50} égale à 3,5 $\mu\text{g/mL}$. Quatre nouveaux *trans*-stilbènes prénylés, schweinfurthine E (**9.1**), schweinfurthine F (**9.2**), schweinfurthine G (**9.3**) et schweinfurthine H (**9.4**), et un *trans*-stilbène prénylé connu, la védélianine (**9.5**) ont été ainsi isolés et identifiés (Figure 17).

¹⁰⁹ Hou, Y.P., Cao, S., Brodie, P.J., Callmander, M., Ratovoson, F., Randrianaivo, R., Rakotobe, E., **Rasamison, V.E.**, Rakotonandrasana, S., TenDyke, K., Suh, E.M., Kingston, D.G.I. (2009) - Antiproliferative Cardenolide Glycosides of *Elaeodendron alluudianum* from the Madagascar Rainforest. *Bioorg. Med. Chem.*, 17: 2215-2218.

¹¹⁰ Salah, M.A., Bedir, E., Toyang, N.J., Khan, I.A., Harries, M.D., Wedge, D.E. (2003) - Antifungal Clerodane Diterpenes from *Macaranga monandra* (L) Muell. et Arg. (Euphorbiaceae). *J. Agric. Food Chem.*, 51: 7607 – 7610.

¹¹¹ Jang, D.S., Cuendet, M., Hawthorne, M.E., Kardono, L.B.S., Kawanishi, K., Fong, H.H.S., Mehta, R.G., Pezzuto, J.M., Kinghorn, A.D. (2002) - Prenylated flavonoids of the leaves of *Macaranga confier* with inhibitory activity against cyclooxygenase-2. *Phytochemistry*, 61: 867 – 872.

¹¹² Lin, J-H., Ishimatsu, M., Tanaka, T., Nonaka, G-I., Nishioka, I. (1990) - Tannins and related compounds. XCVI.: Structures of macaranins and macarinins, new hydrolyzable tannins possessing macaranoyl and tergalloy ester groups, from the leaves of *Macaranga sinensis* (BAILL.) MUELL.-ARG. *Chem. Pharm. Bull.*, 38: 1844 – 1851.

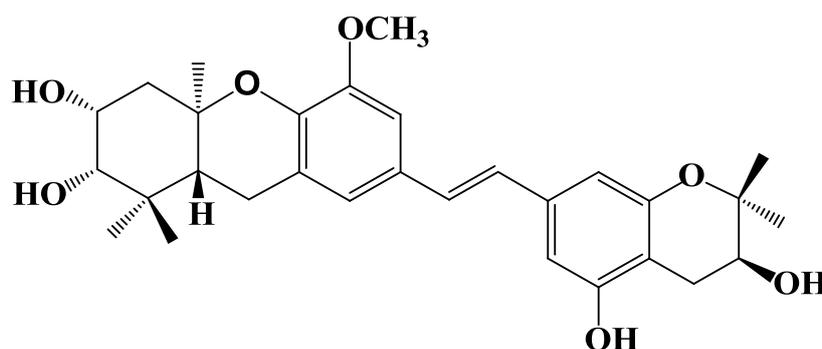


9.1 : $R_1 = \text{OH}$, $R_2 = \text{OCH}_3$

9.2 : $R_1 = \text{H}$, $R_2 = \text{OCH}_3$

9.3 : $R_1 = \text{H}$, $R_2 = \text{OH}$

9.5 : $R_1 = \text{OH}$, $R_2 = \text{OH}$



9.4

Figure 17: Structures chimiques des produits 9.1 – 9.5 issus de *M. alnifolia*

La védélianine (**9.5**) a montré la plus forte cytotoxicité parmi les cinq stilbénoides isolés de *M. alnifolia* avec une valeur de Cl_{50} égale à $0,13 \mu\text{M}$ (Tableau 3). Elle est également la plus polaire en possédant des groupements hydroxyles sur le carbone C-3 par comparaison avec schweinfurthine G (**9.3**) ($\text{Cl}_{50} = 0,39 \mu\text{M}$) et sur le carbone C-5 au lieu d'un méthoxyle comme dans le cas de schweinfurthine E (**9.1**) ($\text{Cl}_{50} = 0,26 \mu\text{M}$). D'après ces résultats, l'activité cytotoxique augmente avec la polarité de ces produits du groupe des schweinfurthines tétracycliques et prénylés.

Tableau 3: Cytotoxicité des produits 9.1-9.5

Produits	Cytotoxicité (A2780) CI₅₀ (µM)
Schweinfurthine E (9.1)	0,26
Schweinfurthine F (9.2)	5,0
Schweinfurthine G (9.3)	0,39
Schweinfurthine H (9.4)	4,5
Védélianine (9.5)	0,13

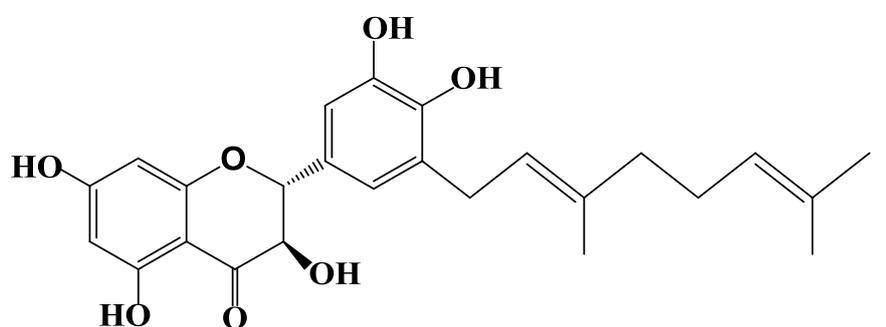
Schweinfurthine E a été testé sur 60 lignées de cellules cancéreuses humaines à National Cancer Institute (NCI). Il s'est montré hautement cytotoxique envers toutes les lignées leucémiques utilisées. Les lignées cellulaires cancéreuses les plus sensibles à ce produit sont celles A-498 et CAKI-1 du rein et SF-295 du cerveau ainsi que la lignée leucémique MOLT-4. Les lignées cellulaires cancéreuses les plus résistantes sont celles de l'ovaire (OVCAR-3, -4, -8 et SKOV-3).

Des études plus récentes menées par Bao et al. ont révélé, lors des mêmes essais à NCI que les schweinfurthines F et G présentent chacun un profil d'activité cytotoxique presque identique à celui du schweinfurthine E en termes de puissance et sélectivité.¹¹³ A ce sujet, les résultats obtenus par ces mêmes auteurs mettent en évidence un nouveau mécanisme d'action selon lequel les schweinfurthines exercent sélectivement et très fortement une activité antiproliférative sur certaines cellules cancéreuses. Sur le plan chimique, Kodet et al. ont préparé des dérivés ayant des profils d'activité cytotoxique similaires à celui des schweinfurthines naturels, mais beaucoup plus stables, en particulier des analogues indoliques obtenus en remplaçant le cycle D basé sur une sous-structure de

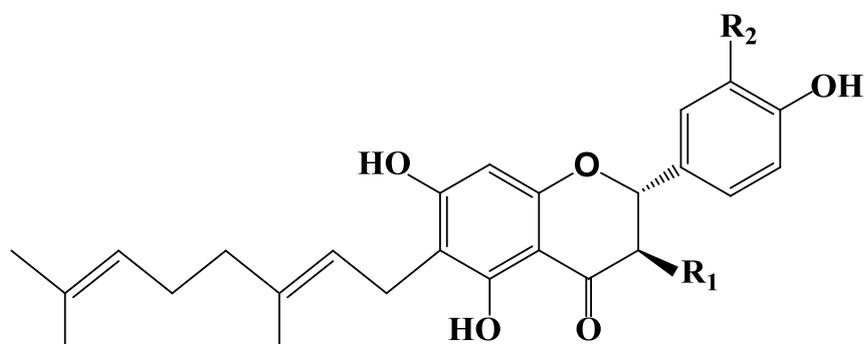
¹¹³ Bao, X., Zheng, W., Sugi, N.H., Agarwala, K.L., Xu, Q., Wang, Z., Tendyke, K., Lee, W., Parent, L., Li, W., Cheng, H., Shen, Y., Taylor, N., Dezso, Z., Du, H., Kotake, Y., Zhao, N., Wang, J., Postema, M., Woodall-Jappe, M., Takase, Y., Uenaka, T., Kingston, D.G.I., Nomoto, K. (2014) - Small molecule schweinfurthins selectively inhibit cancer cell proliferation and mTOR/AKT signaling by interfering with trans-Golgi-network trafficking. *Cancer Biol. Ther.*, 16: 589-601.

résorcinol par un motif indole.¹¹⁴ Tous ces travaux suggèrent l'importance accordée aux schweinfurthines dans la recherche contre le cancer.

Outre les schweinfurthines, cinq flavonoïdes substitués par un groupement géranyle **9.6 – 9.10** ont été également obtenus du même extrait éthanolique des fruits de *M. Alnifolia* (Figure 18). Le flavanonol **9.6** dénommé alnifoliol est décrit pour la première fois. Les deux flavanonols **9.7** et **9.8** sont connus et correspondent respectivement au bonanniol A et au diplacol. Les deux flavanones **9.9** et **9.10** ont été identifiés respectivement au bonannione A et au diplacone.



9.6



9.7 : R₁ = OH, R₂ = H

9.8 : R₁ = R₂ = OH

9.9 : R₁ = R₂ = H

9.10 : R₁ = H, R₂ = OH

Figure 18: Structures chimiques des produits **9.6 – 9.10** issus de *M. alnifolia*

¹¹⁴ Kodet, J.G., Beutler, J.A., Wiemer, D.F. (2014) - Synthesis and structure activity relationships of schweinfurthin indoles. *Bioorg. Med. Chem.*, 22: 2542 – 2552.

Les flavonoïdes **9.6 – 9.10** sont moins cytotoxiques vis-à-vis de la lignée cellulaire cancéreuse A2780 de l’ovaire que les schweinfurthines. Le plus actif étant le diplacone (**9.10**) qui admet une valeur de CI_{50} égale à 10,5 μ M.

Ces résultats ont fait l’objet d’une publication dans la revue « Journal of Natural Products ».¹¹⁵ En outre, ils ont été présentés lors d’une communication orale à l’Académie Malgache avec ceux obtenus d’autres plantes.¹¹⁶

III. Cas de *Mallotus oppositifolius* Mull. Arg.

Le genre *Mallotus* appartient à la famille Euphorbiaceae et comprend environ 150 espèces d’arbres et arbustes. Il est classé dans la même tribu Acalypheae que le genre *Macaranga*.¹¹⁷ La rottlerine (ou mallotoxine) isolée de *M. philippinensis* est un polyphénol qui a fait l’objet de nombreuses études pharmacologiques.^{118,119} *M. oppositifolius* (Geiseler) Mull. Arg. est une espèce que l’on rencontre en Afrique et à Madagascar. Outre des éléments minéraux, cette plante renferme des saponines, tannins, flavonoïdes et alcaloïdes détectés lors de son screening phytochimique.¹²⁰

Lors du criblage d’activités cytotoxique et antiplasmodiale effectué à VPISU, l’extrait éthanolique des feuilles et inflorescences de *M. oppositifolius* s’est montré fortement actif sur la lignée cellulaire cancéreuse A2780 de l’ovaire et la souche multi-résistante Dd2 de *Plasmodium falciparum*. Son fractionnement chimique guidé par l’activité cytotoxique a conduit à l’isolement de trois phloroglucinols dimériques dont deux nouveaux, la

¹¹⁵ Yoder, B.J., Cao, S., Norris, A., Miller, J.S., Ratovoson, F., Razafitsalama, J., Andriantsiferana, R., **Rasamison, V.E.**, Kingston, D.G.I. (2007) - Cytotoxic Prenylated Stilbenes and Flavonoids from *Macaranga alnifolia* from the Madagascar Rainforest. J. Nat. Prod., 70: 342-346.

¹¹⁶ **Rasamison, V.E.**, Rakotondraibe, H.L., Rakotonandrasana, S., Kingston, D.G.I., Rafidinarivo, E. (Janvier 2017) – Quelques aspects de valorisation scientifique de plantes de Madagascar. Communication orale présentée à l’Académie Malgache en Séance des Sections Scientifiques III et IV, Antananarivo.

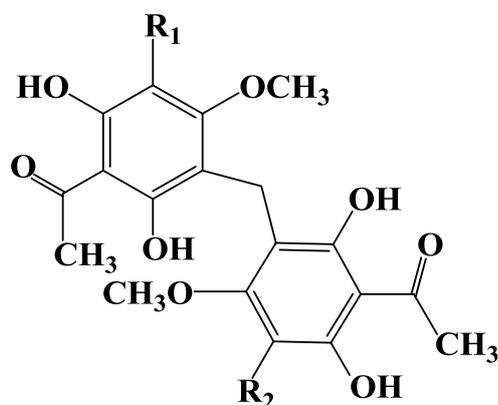
¹¹⁷ Radcliffe-Smith, A. (2001) - Genera Euphorbiacearum; Royal Botanic Gardens: Kew, UK.

¹¹⁸ Liao, Y.-F., Hung, Y.-C., Chang, W.-H., Tsay, G. J., Hour, T.-C., Hung, H.-C., Liu, G.-Y. (2005) - The PKC delta inhibitor, rottlerin, induces apoptosis of haematopoietic cell lines through mitochondrial membrane depolarization and caspases' cascade. Life Sci., 77: 707–719.

¹¹⁹ Sharma, V. (2011) - A polyphenolic compound rottlerin demonstrates significant in vitro cytotoxicity against human cancer cell lines: isolation and characterization from the fruits of *Mallotus philippinensis*. J. Plant Biochem. Biotechnol., 20: 190–195.

¹²⁰ Okwu, D. E., Ekei, O. (2003) - Phytochemical screening and mineral composition of chewing sticks in South Eastern Nigeria. J. Pure Appl. Sci., 9: 235–238.

mallotojaponine B (**10.1**) et la mallotojaponine C (**10.2**), et un déjà connu, la mallotophénone (**10.3**) (Figure 19).



10.1 $R_1 = \text{CH}_3$ $R_2 = \text{CH}_2\text{CH} = \text{C}(\text{CH}_3)_2$

10.2 $R_1 = R_2 = \text{CH}_2\text{CH} = \text{C}(\text{CH}_3)_2$

10.3 $R_1 = R_2 = \text{CH}_3$

Figure 19 : Structures chimiques des produits **10.1** – **10.3** issus de *M. oppositifolius*

Les trois produits **10.1** – **10.3** ont été évalués pour leur cytotoxicité et leur activité antiplasmodiale sur la lignée cellulaire cancéreuse A2780 de l’ovaire et la souche Dd2 de *P. falciparum*, respectivement (Tableau 4). Les mallotojaponines B (**10.1**) et C (**10.2**) sont très cytotoxiques avec des valeurs de Cl_{50} égales à 1,10 et 1,3 μM , respectivement. En outre, elles ont montré une forte activité antiplasmodiale avec des valeurs de Cl_{50} égales à 0,75 et 0,14 μM , respectivement.

Tableau 4: Activités cytotoxique et antiplasmodiale des produits **10.1** – **10.3**

Produits	Cytotoxicité (A2780)	Activité antiplasmodiale (Dd2)
	Cl_{50} (μM)	Cl_{50} (μM)
Mallotojaponine B (10.1)	1,10	0,75
Mallotojaponine C (10.2)	1,3	0,14
Mallotophénone (10.3)	6,3	Inactive

Au vu de ces valeurs de CI_{50} , le groupement prényle présent dans les structures chimiques des mallotojaponines B (**10.1**) et C (**10.2**) joue un rôle déterminant dans leurs activités biologiques, surtout antiplasmodiale.

Les résultats obtenus de *Mallotus oppositifolius* ont donné lieu à une publication dans la revue « Journal of Natural Products ».¹²¹

¹²¹ Harinantenaina, L., Bowman, J.D., Brodie, P.J., Sleboznick, C., Callmander, M.W. Rakotobe, E., Randrianaivo, R., **Rasamison, V.E.**, Gorka, A., Roepe, P.D., Cassera, M.B., Kingston, D.G.I. (2013) - Antiproliferative and antiplasmodial dimeric phloroglucinols from *Mallotus oppositifolius* from the Madagascar dry forest. *J. Nat. Prod.*, 76 : 388-393.