



Etude des propriétés anti-oxydantes, anti-inflammatoires, anti-prolifératives et anti-migratoires des huiles essentielles de quelques plantes médicinales du Burkina Faso sur des lignées cellulaires du cancer de la prostate et de glioblastomes

Bagora Bayala

► To cite this version:

Bagora Bayala. Etude des propriétés anti-oxydantes, anti-inflammatoires, anti-prolifératives et anti-migratoires des huiles essentielles de quelques plantes médicinales du Burkina Faso sur des lignées cellulaires du cancer de la prostate et de glioblastomes. Sciences agricoles. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II; Université Joseph Ki-Zerbo (Ouagadougou, Burkina Faso), 2014. Français. <NNT : 2014CLF22502>. <tel-01166321>

HAL Id: tel-01166321

<https://theses.hal.science/tel-01166321v1>

Submitted on 22 Jun 2015

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



HAL Authorization

UNIVERSITE BLAISE PASCAL

U.R.R. Sciences et Technologies

N° D. U. 2502

Année 2014

**ECOLE DOCTORALE DES SCIENCES DE LA VIE, SANTE,
AGRONOMIE ET ENVIRONNEMENT**

N° d'ordre : 644

THESE

Présentée Pour obtenir le grade de

DOCTEUR D'UNIVERSITE

Spécialité : Physiologie et génétique moléculaire

Par

BAYALA Bagora

**Etude des propriétés anti-oxydantes, anti-inflammatoires,
anti-prolifératives et anti-migratoires des huiles essentielles de
quelques plantes médicinales du Burkina Faso sur des lignées
cellulaires du cancer de la prostate et de glioblastomes**

Soutenue le 17 Octobre 2014 devant le jury composé de :

Philippe SANKARA, Professeur Titulaire, Université Ouagadougou : Président du jury

Marc POIROT, Professeur Titulaire, Université Toulouse III–Paul Sabatier : Rapporteur

Rokia SANOGO, Professeur Titulaire, Université de Bamako : Rapporteur

Sylvain OUEDRAOGO, Directeur de recherche, CNRST, Ouagadougou : Rapporteur

Imael H. N. BASSOLE, Maître de conférences, HDR, Université Ouagadougou : Invité

Jacques SIMPORE, Professeur Titulaire, Université Ouagadougou : Directeur de thèse

Jean-Marc A. LOBACCARO, Professeur Titulaire, Université Blaise Pascal : Directeur de thèse

Dédicace

Dédicace

A la mémoire

de mon père Babou

et de mon frère aîné Célestin

que vos âmes reposent en paix

A toute la famille BAYALA

A mon épouse

A mon fils

Et A tous les miens

Remerciements

Remerciements

Ce travail a été réalisé en cotutelle au Laboratoire de Biologie Moléculaire et de Génétique (LABIOGENE de l'UFR-SVT) et au Centre de Recherche Biomoléculaire Pietro Annigoni (CERBA) de l'Université de Ouagadougou au Burkina Faso, et au Laboratoire de Génétique Reproduction et Développement (GReD de l'UFR-ST) de l'Université Blaise Pascal en France

Je tiens à remercier et à exprimer ma profonde gratitude au Professeur Jacques SIMPORE, Directeur de cette thèse, membre du jury et Directeur du Laboratoire de Biologie Moléculaire et de Génétique (LABIOGENE de l'UFR/SVT), du CERBA et du Laboratoire du Centre Médical Saint Camille de Ouagadougou, et également Recteur de l'Université Saint Thomas d'Aquin (USTA). Merci pour le soutien financier de cette recherche, pour la pertinence du thème de recherche, pour avoir facilité mon accès au CERBA et mis à ma disposition la logistique nécessaires pour la réussite de la thèse. Encore merci pour vos précieux conseils, pour vos encouragements et votre grande disponibilité malgré vos multiples fonctions. Je tiens à vous exprimer ma profonde reconnaissance et mon profond respect.

Je remercie également le Professeur Jean-Marc A. LOBACCARO, Directeur de cette thèse, membre du jury, Directeur de l'équipe de recherche Liver X Receptor (LXR) du cancer de la prostate, Directeur de l'école Doctorale Science de la Vie, santé, Agronomie et Environnement. J'ai été très sensible à votre grande disponibilité, à vos encouragements, à la confiance que vous avez bien voulu placer en moi et à toutes vos initiatives à trouver les accompagnements nécessaires à la réalisation de cette cotutelle de thèse. Merci pour votre soutien inconditionné. Votre grande expérience et votre engagement ont permis la réalisation de la thèse. Je vous prie de bien vouloir trouver ici l'expression de ma profonde gratitude et de mon profond respect.

Je remercie le Professeur Philippe SANKARA (Université de Ouagadougou, Burkina Faso), en acceptant de lire, instruire et de juger cette Thèse. Merci pour avoir accepté de présider le jury de cette thèse et pour votre contribution à l'amélioration de ce document. Trouvez ici l'expression de toute ma reconnaissance et de mon profond respect.

Je suis sensible à l'honneur que me fait le Professeur Marc POIROT (Université Toulouse III – Paul Sabatier, France), en acceptant de lire, critiquer, instruire et juger cette Thèse. Je suis très heureux de bénéficier de vos recommandations et je tiens à vous exprimer ma sincère reconnaissance pour cette marque d'intérêt.

Je remercie le Professeur Rokia SANOGO (Université de Bamako, Mali), pour avoir accepté de lire, instruire et juger cette Thèse. Merci pour votre contribution à l'amélioration de ce document. Veuillez Trouvez ici l'expression ma profonde reconnaissance.

Remerciements

Je remercie le Professeur Sylvain OUEDRAOGO (Directeur de recherche, Directeur de l'IRSS, Burkina Faso), en acceptant de lire, instruire et juger cette Thèse. Merci pour votre contribution à l'amélioration de ce document. Trouvez ici l'expression de toute ma reconnaissance.

Que Monsieur Imaël H. N. BASSOLE trouve ici l'expression de mes sincères remerciements pour sa disponibilité et pour l'intérêt qu'il a porté à ce travail, et pour avoir accepté de le juger.

Mes remerciements vont également à l'endroit du Docteur Charlemagne GNOULA (Université de Ouagadougou) pour avoir permis et suivi mes travaux de stage au CERBA.

Je tiens à adresser mes sincères remerciements à Monsieur le Professeur Lorent MOREL (Université Blaise Pascal) pour sa disponibilité, ses nombreux conseils et sa sympathie.

Je remercie la Conférence Episcopale Italienne (CEI), l'Union Economique Monétaire Ouest Africaine (UEMOA PECER 2) et Campus France à travers le programme SCAC, la Fondation BNP-Paris, la Région Auvergne, le Fonds Européen de Développement Régional (FEDER), l'Association de Recherche sur les Tumeurs Prostatiques (ARTP), la Fondation ARC et la Ligue contre le cancer pour leur appui financier.

Je tiens à remercier aussi les membres de l'équipe LXR, en particulier, Amalia TROUSSON, Aurelie VEGA, David VOLLE et Silvère BARON, pour leur soutien moral et leur disponibilité.

A Mesdames et Messieurs, Angelique DE HAZE, Antoine MARTINEZ, Françoise CAIRA, Gaëlle LOUBEAU, Isabelle BARNOLA, Jean-Paul SARU, Marie MARTINEZ, Pierre VAL, Florence BRUGNON, Annabel BERTHON et Julie DUFOUR du laboratoire GReD, une vive reconnaissance pour leur disponibilité.

J'adresse mes chaleureux remerciements à toute la famille LOBACCARO pour avoir bien pris soin de moi pendant tous mes séjours de recherche.

Je tiens à remercier mes camarades et collègues doctorants de l'Université Blaise Pascal, Marine BAPTISSARD, Coralie DRELON, Rafik BOUDRA, Emilie PASTEL, Salwan MAQDASY, Anthony ALIOUI, Emmanuelle MARTINOT, Typhanie DUMONTET, pour leur sympathie et leur soutien amical. Qu'ils trouvent ici l'assurance de mon amitié et de ma disponibilité à leur égard. Les travaux intenses et les fous rires partagés ont toujours été pour moi des moments inoubliables.

Je ne saurais terminer sans remercier l'ensemble de ma famille ainsi que mes amis, pour leur patience, leurs encouragements, et leurs soutiens multiformes. Je leur témoigne ma profonde affection, car ce travail est en partie le fruit de leur soutien. Je leur suis très reconnaissant. Leur fierté à mon égard aujourd'hui est pour moi la meilleure des récompenses.

Table des matières

TABLE DES MATIERES

LISTE DES FIGURES	viii
LISTE DES TABLEAUX	xi
SIGLES ET ABREVIATIONS	xii
RESUME.....	xiv
ABSTRACT	xvi
INTRODUCTION GENERALE.....	1
Objectifs de la thèse	3
Objectif général	3
Objectifs spécifiques :	3
PREMIERE PARTIE : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	1
CHAPITRE 1 : HUILES ESSENTIELLES ET PLANTES	4
I LES HUILES ESSENTIELLES	4
I.1 Définition des huiles essentielles	4
I.2 Les sources et procédés d'extraction des huiles essentielles.....	4
II.3 Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles	4
II.4 Composition chimique des huiles essentielles	5
II PLANTES DE L'ETUDE.....	8
II.1 <i>Cymbopogon giganteus</i> Chiov.....	8
II.2 <i>Cymbopogon citratus</i> [DC] Stapf	9
II.3 <i>Ocimum americanum</i> Linnæus.....	11
II.4 <i>Ocimum basilicum</i> Linnæus	13
II.5 <i>Hyptis spicigera</i> Lamarck	15
II.6 <i>Lippia multiflora</i> Moldenke	17
II.7 <i>Ageratum conyzoides</i> Linnæus.....	18
II.8 <i>Eucalyptus camaldulensis</i> Dehnhardt	20
II.9 <i>Zingiber Officinale</i> Roscoe	21
CHAPITRE 2: STRESS OXYDATIF, INFLAMMATIONS ET CANCERS.....	24
I. LE STRESS OXYDATIF	24
I-1. Les radicaux libres.....	24
I-2. Mécanisme de production et d'élimination des radicaux dans l'organisme	24
I-3. Les antioxydants	25
I-4. Définition du stress oxydatif.....	26

Table des matières

II. L'INFLAMMATION ET LES LIPOXYGENASES	27
II-1. L'inflammation.....	27
II-2. Définition et notions sur les lipoxgénases	27
II-3. Les lipoxgénases et les maladies inflammatoires	28
III. LE CANCER.....	28
III-1. Généralités sur le cancer	28
III-2. Le cancer de la prostate.....	32
III-3. Le glioblastome	35
IV. RELATION ENTRE LA PRODUCTION DES RADICAUX LIBRES A L'ORIGINE DU STRESS OXYDATIF, L'INFLAMMATION ET LE CANCER.....	38
CHAPITRE 3 : LE CYCLE CELLULAIRE	43
I. GENERALITES SUR LE CYCLE CELLULAIRE	43
I-1. Définition des différentes phases du cycle cellulaire.....	43
I-2. Chronologie du cycle cellulaire	44
I-3. Déroulement et mécanismes des différentes phases du cycle cellulaire	44
II. REGULATION DU CYCLE CELLULAIRE	48
III. LES DIFFERENTS TYPES DE MORT CELLULAIRE.....	50
III-1. L'apoptose.....	50
III-2. La nécrose	54
III-3. L'autophagie	55
DEUXIEME PARTIE : PARTIE EXPERIMENTALES.....	56
CHAPITRE 4 : CADRE ET MATERIEL DE L'ETUDE.....	56
I. CADRE DE L'ETUDE.....	56
II. MATERIEL VEGETAL.....	56
III. MATERIEL BIOLOGIQUE	56
III-1. Justification du choix des lignées cellulaires étudiées	56
III-2. Description des lignées cellulaires étudiées	57
III-3. Morphologie et source des lignées cellulaires étudiées	57
CHAPITRE 5 : METHODES	59
I. EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES.....	59
II. ANALYSE CHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES	59
II-1. Analyse par GC/FID.....	59
II-2. Analyse par GC/MS	60
II-3. L'identification des composants	61

Table des matières

III. ACTIVITE ANTIOXYDANTE DES HUILES ESSENTIELLES	61
III-1. Activité antiradicalaire par la méthode DPPH.....	61
III-2. Activité antiradicalaire par la méthode ABTS	61
IV. ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE DES HUILES ESSENTIELLES PAR INHIBITION DE LA LIPOXYGENASE	62
V. ACTIVITE ANTIPROLIFERATIVE DES HUILES ESSENTIELLES	62
V-1. Culture cellulaire	62
V-2. Cytotoxicité des huiles essentielles	63
VI. TEST DE RESISTANCE A L'ANOÏKIS	64
VII. TEST DE SCRATCH (Test de comblement de la brèche)	64
VIII. ANALYSE DES PROTEINES	65
VIII-1. Préparation des extraits protéiques totaux.....	65
VIII-2. Analyse des protéines par Western Blot.....	65
IX. ANALYSES STATISTIQUES	66
TROISIEME PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSION	67
CHAPITRE 6. RESULTATS	67
I. PREMIERE PARTIE DE L'ETUDE : RESULTATS DU PREMIER ARTICLE	67
I.1 Composition des différentes huiles essentielles	67
I.2 Activité antioxydante des différentes huiles essentielles	73
I.3 Activité anti-inflammatoire des différentes huiles essentielles	73
I.4 Activité antiproliférative des huiles essentielles	74
II. DEUXIEME PARTIE DE L'ETUDE : RESULTATS DU DEUXIEME ARTICLE	77
II.1 Composition des huiles essentielles de <i>C. giganteus</i> et de <i>C. citratus</i>	77
II.2 Activité antioxydante et anti-inflammatoire de l'huile essentielle de <i>C. giganteus</i> et <i>C. citratus</i>	82
II.3 Activité antiproliférative des huiles essentielles de <i>C. giganteus</i> et de <i>C. citratus</i>	82
III. TROISIEME PARTIE DE L'ETUDE : RESULTATS DU TROISIEME ARTICLE.....	86
III.1 Action des huiles de <i>C. citratus</i> , du citral et du cisplatine sur la morphologie cellulaire .	86
III.2 Action de l'huile essentielle de <i>C. citratus</i> , du citral et du cisplatine sur la résistance à l'anoïkis.....	88
III.3 Action de l'huile essentielle de <i>C. citratus</i> , du Citral et du Cisplatine sur la migration des cellules LNCaP.....	89
III.4 Analyse des protéines par Western Blot.....	91
IV. QUATRIEME PARTIE DE L'ETUDE : RESULTATS DES TRAVAUX COMPLEMENTAIRES	93

Table des matières

CHAPITRE 7. DISCUSSION GENERALE.....	94
I. COMPOSITION CHIMIQUE DES DIFFERENTES HUILLES ESSENTIELLES	94
II. ACTIVITE ANTIOXYDANTE DES HUILLES ESSENTIELLES.....	97
III. ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE DES HUILLES ESSENTIELLES PAR INHIBITION DE LA LIPOXYGENASE.....	98
IV. ACTIVITE ANTIPROLIFERATIVE DES HUILLES ESSENTIELLES ET COMPOSES.....	99
V. ACTION DE L'HUILE ESSENTIELLE DE <i>C. CITRATUS</i> , DU CITRAL ET DU CISPLATINE SUR LA MORPHOLOGIE CELLULAIRE	103
VI. ACTION DE L'HUILE ESSENTIELLE DE <i>C. CITRATUS</i> , DU CITRAL ET DU CISPLATINE SUR LA RESISTANCE A L'ANOÏKIS.....	104
VII. ACTION DE L'HUILE ESSENTIELLE DE <i>C. CITRATUS</i> , DU CITRAL ET DU CISPLATINE SUR LA MIGRATION DES CELLULES LNCaP DE LA PROSTATE	104
VIII. ANALYSE DES PROTEINES	105
CONCLUSION GENERALE	107
PERSPECTIVES.....	108
REFERENCES	109
ANNEXES	13940

Liste des figures

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Structure de quelques terpènes	6
Figure 2: Structure de quelques terpénoides	6
Figure 3: Structures de quelques composés aromatiques	7
Figure 4: Photo de <i>C. giganteus</i> (BAYALA Bagora, Août 2011, Gampéla)	8
Figure 5: Photo de <i>C. citratus</i> (BAYALA Bagora, Août 2011, Gampéla)	10
Figure 6: Photo de <i>O. americanum</i> (BAYALA Bagora, Août 2011, Gampéla)	12
Figure 7: Photo de <i>O. basilicum</i> (BAYALA Bagora, Août 2011, Gampéla)	14
Figure 8: Photo de <i>H. spicigera</i> (BAYALA Bagora, Août 2011, Gampéla)	15
Figure 9: Photo de <i>L. multiflora</i> (BAYALA Bagora, Août 2011, Gampéla)	17
Figure 10: Photo de <i>A. conyzoides</i> (BAYALA Bagora, Août 2011, Gampéla)	18
Figure 11: Photo de <i>E. camaldulensis</i> (BAYALA Bagora, Août 2011, Gampéla)	20
Figure 12: Photo de <i>Z. officinale</i> (BAYALA Bagora, Août 2011, Gampéla)	22
Figure 13: Représentation schématique des divers activateurs et inhibiteurs de production d'espèces réactives de l'oxygène (Reuter et al., 2010).	25
Figure 14: Réaction du DPPH avec une molécule donneuse de proton	25
Figure 15: Modèle d'équilibre entre les pro-oxydants et les antioxydants	26
Figure 16: Projections des décès établies par l'OMS publiées dans Globocan	29
Figure 17: Association de la voie de signalisation de NF-KB avec la tumorigenèse	31
Figure 18: Localisation (A) et anatomie de la prostate humaine (B)	32
Figure 19: Représentation schématique de la progression du cancer de la prostate	33
Figure 20: Glioblastome multiforme du lobe frontal droit	36
Figure 21: Anatomie du cerveau	36
Figure 22: Principales voies de signalisation des gliomes malins et les agents ciblés correspondants dans le développement des glioblastomes	37
Figure 23: Modèle de la sensibilité des cellules normales contre les cellules cancéreuses à des espèces réactives de l'oxygène	39
Figure 24: Représentation schématique des différents facteurs de transcription qui sont modulés par les espèces réactives de l'oxygène (Reuter et al., 2010)	40
Figure 25: Diagramme montrant les deux issues des interactions entre l'infiltration des cellules tumorales et des cellules inflammatoires et/ou immunitaires dans le microenvironnement tumoral	41

Liste des figures

Figure 26: Les quatre phases du cycle cellulaire et le stade G0	44
Figure 27: Le déroulement du cycle cellulaire de cellules eucaryotes	47
Figure 28: Abondance et succession des principaux complexes Cycline/Cdk au cours du cycle cellulaire	48
Figure 29: Schéma de la régulation du cycle cellulaire	49
Figure 30: Déclenchement de l'apoptose par des facteurs extracellulaire ou intracellulaire	51
Figure 31: Anoïkis et mécanisme de résistance à l'anoïkis des cellules tumorales migrantes	53
Figure 32: Les étapes de la métastase cancéreuse	54
Figure 33: Photo des lignées cellulaires LNCaP (A), PC-3 (B), SF-767 (C) et SF-763 (D)	58
Figure 34: Photo du montage utilisé pour l'extraction des huiles essentielles (BAYALA Bagora, 2011)	59
Figure 35: Photo du GC/FID Agilent Modèle 6890 (BAYALA Bagora, 2011)	60
Figure 36: Photo du GC/MS Agilent Modèle 7890 (BAYALA Bagora, 2011)	60
Figure 37: Photo de test MTT avant révélation (A) et après révélation (B) (BAYALA Bagora, 2012)	63
Figure 38: Photo du montage loupe binoculaire (BAYALA Bagora, 2014)	64
Figure 39: Photo du système MF-ChemiBIS 3.2 (BAYALA Bagora, 2014)	66
Figure 40: Structures chimiques des principaux composés présents dans les huiles essentielles analysés	71
Figure 41: Chromatogrammes des différentes huiles essentielles avec leurs principaux composés identifiés	72
Figure 42: Concentration-dépendante de l'activité anti-proliférative des huiles essentielles après 72 heures d'induction	75
Figure 43: Temps-dépendant de l'activité anti-proliférative des huiles essentielles après 24, 48 et 72 heures d'induction.	76
Figure 44: Activité anti-proliférative concentration-dépendante de composés majoritaires purifiés et de leur combinaison avec les huiles essentielles	76
Figure 45: Structures chimiques des principaux composés présents dans les huiles essentielles de <i>C. giganteus</i> et de <i>C. citratus</i>	80
Figure 46: Chromatogrammes de l'huile essentielle de <i>C. giganteus</i> et de <i>C. citratus</i> avec leurs principaux composés identifiés	81
Figure 47: Concentration-dépendante de l'activité anti-proliférative des huiles essentielles, et composés après 72 heures d'induction des cellules LNCaP, PC-3 du cancer de la prostate, et SF- 767 et SF- 763 du glioblastome	83

Liste des figures

Figure 48: Activité anti-proliférative de l'huile essentielle de <i>C. citratus</i> , du Citral et du Cisplatine après 24, 48 et 72 heures d'induction des cellules LNCaP du cancer de la Prostate	84
Figure 49: Photo de l'action de l'huile essentielle de <i>C. citratus</i> , du Citral et du Cisplatine sur la morphologie cellulaire	87
Figure 50: Photo de la mise en évidence de la résistance à l'anoïkis	88
Figure 51: Pourcentage de clones formés après 15 jours d'induction	89
Figure 52: Photo du test de Scratch	90
Figure 53: Quantification du pourcentage de la brèche comblée du test de scratch	91
Figure 54: Spots Westerns Blots des protéines après 72 heures d'induction	92
Figure 55: Quantification des protéines analysées par Western Blot	92
Figure A. Préparation du milieu 2X dans un Becher	139
Figure C. Préparation du « Top agar plus cellules »	139
Figure D. Tampons de préparation des extraits protéiques	140
Figure E. Tampons utilisés pour le <i>Western Blot</i>	140

Liste des tableaux

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Données statistiques des dix principaux types de cancers estimés aux Etats Unis selon les cas et les décès par cancer par sexe en 2010 (Jemal et al., 2010).	30
Tableau 2: Récapitulatif des caractéristiques des différents types de mort cellulaire	55
Tableau 3: Composition chimique des huiles essentielles des 7 plantes testées	68
Tableau 4: Activité antiradicalaire par la méthode DPPH et ABTS	73
Tableau 5: Pourcentage d'inhibition de la Lipoxgénase par les huiles essentielles	74
Tableau 6: IC ₅₀ des huiles essentielles testées sur la lignée LNCaP et PC-3 du cancer de la prostate, et la lignée SF-767 et SF-763 de glioblastomes.	74
Tableau 7: Composition chimique des huiles essentielles de <i>Cymbopogon giganteus</i> et de <i>Cymbopogon citratus</i> .	78
Tableau 8: Activités antioxydante et anti-inflammatoire de l'huile essentielle de C. giganteus et C. citratus.	82
Tableau 9: IC ₅₀ des huiles essentielles et composés testés sur les cellules LNCaP et PC-3 du cancer de la prostate et sur les lignées cellulaires SF-767 et SF-763 de glioblastome.	84
Tableau 10: IC ₅₀ des huiles essentielles et composés testés sur LXR +/+ et LXR -/- de la prostate dorsale de souris.	85
Tableau 11: IC ₅₀ des composés majoritaires des huiles essentielles testées sur les cellules LNCaP du cancer de la prostate et celles SF-767 de glioblastome.	93

Liste des sigles et abréviations

SIGLES ET ABREVIATIONS

AR : androgen receptor

BHT : Butylated hydroxytoluene

CAK : cdk-activating kinase;

cdk : cyclin-dependent kinase

COX-2, la cyclooxygénase-2

DNA : deoxyribonucleotic acid

D-PBS : Dulbecco's Phosphate Buffered Salin

EAR : Espèces Azotées Réactives

EOR : Espèces Oxygénées Réactives

GBM : Glioblastome Multiforme

GM : Gray Matter

HDAC : Histone Deacetylase

HGF : le facteur de croissance des hépatocytes

IC₅₀ : Concentration Inhibitrice 50

ICAM-1 : intercellulaire adhérence molécule-1

INK4 : inhibitor of cdk4

KIP : kinase inhibitor protein;

LCR : Liquide Céphalo-Rachidien

LNCaP : lymph node cancer prostate

LXR -/- : Liver X Receptor double KO

LXR : liver X receptor

LXR +/+ : Liver X Receptor wild type control

Liste des sigles et abréviations

MPE : Mouse Prostatic Epithelial cells

NF- κ B : Nuclear Factor-kappa B

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PCNA : Proliferating Cell Nuclear Antigen

PIN : Néoplasie Intra-épithéliale prostatique

pRB : retinoblastoma protein

PSA : Prostate Specific Antigen

PTK : Protéine Tyrosine Kinase

Rb : Rétinoblastome

ROS : Reactive Oxygène Specis,

SNC : système nerveux central

SVF : sérum de veau fœtal

TBST : Tris Buffered Saline-Tween

WM : White Matter

RESUME

Les huiles essentielles sont des complexes naturels de molécules volatiles et odorantes, synthétisées par les plantes aromatiques. Elles possèdent des propriétés anti-infectieuses, antioxydantes, anticancéreuses.... Le présent travail a concerné l'étude des propriétés anti-oxydantes, anti-inflammatoires, anti-prolifératives et anti-migratoires des huiles essentielles de *Cymbopogon giganteus* Chiov., *Cymbopogon citratus* [DC] Stapf, *Ocimum basilicum* Linnæus, *Ocimum americanum* Linnæus, *Hyptis spicigera* Lamarck, *Lippia multiflora* Moldenk, *Ageratum conyzoides* Linnæus, *Eucalyptus camaldulensis* Dehnhardt et *Zingiber officinale* Roscoe du Burkina Faso sur des lignées cellulaires LNCaP et PC-3 du cancer de la prostate et SF-767 et SF-763 de glioblastome.

Les huiles essentielles ont été extraites par hydrodistillation à l'aide d'un appareil type Clevenger adapté et analysées par GC/MS et GC/FID. L'activité antioxydante a été évaluée par les méthodes DPPH et ABTS, et l'activité anti-inflammatoire par l'inhibition de la lipoxigénase. L'activité antiproliférative a été réalisée par le test MTT sur des lignées cellulaires LNCaP et PC- 3 du cancer de la prostate et des SF-767 et SF-763 du glioblastome. L'action des huiles essentielles sur la résistance à l'anoikis par la méthode Soft agar, leur action sur la migration cellulaire par le test de Scratch et leur action sur le cycle cellulaire par l'analyse des protéines par Western Blot.

Les constituants majoritaires sont principalement : α -terpineol (59,78%) pour *O. basilicum* ; 1, 8-cineol (31,22%) pour *O. americanum* ; β -caryophyllène (21%) et α -pinène (20,11%) pour *H. spicigera* ; p-cymène (25,27%) pour *L. multiflora* ; precocene (82,10%) pour *A. conyzoides* ; eucalyptol (59,55%) pour *E. camaldulensis* ; arcurcumène (16,67%) et camphène (12,70%) pour *Z. officinale* ; géraniol ou citral A (48,18%) et néral ou Citral B (34,37%) pour *C. citratus* ; limonène (19,33%) et mentha-1(7),8-dien-2-ol cis (17,34%) pour *C. giganteus*. Toutes les huiles ont présenté une activité antioxydante et anti-inflammatoire. *C. citratus* a présenté la meilleure capacité à piéger les radicaux DPPH \cdot (%I= 67,58%) et *L. multiflora* la plus forte capacité à réduire les radicaux ABTS $^{+}$ (1,02 μ molET/g). *Z. officinale* a présenté la meilleure inhibition de la lipoxigénase (100% d'inhibition à 8mg/ml et 50,9% à 0,4 mg/ml). Seules les huiles essentielles de *C. giganteus*, *C. citratus*, *O. basilicum*, *Z. officinale*, *L. multiflora* et *A. conyzoides* ont présenté des propriétés antiprolifératives. *C. citratus* a présenté la meilleure activité antiproliférative aussi bien sur les lignées cellulaires LNCaP (IC₅₀ = 6,36 μ g/ml) et PC-3 (IC₅₀ = 32,1 μ g/ml) du cancer de la prostate que sur celles SF-767 (IC₅₀ =

Resumé

45,13µg/ml) et SF-763 ($IC_{50} = 172,05\mu\text{g/ml}$) du glioblastome. Statistiquement, l'activité du citral sur les cellules LNCaP du cancer de la prostate est égale à celle de *C. citratus* et correspond au tiers de celle présentée par le cisplatine, un anticancéreux de référence utilisé dans la chimiothérapie. *C. citratus* et le citral induisent l'anoikis et empêchent la migration cellulaire tout comme le cisplatine. *C. citratus* et le citral entraînent également la répression de Rb, l'activation de p21 et de P27 du cycle.

Les résultats de ces travaux montrent que les huiles essentielles de certaines plantes médicinales aromatiques du Burkina Faso ont un potentiel anti-tumoral sur les lignées cellulaires LNCaP et PC-3 du cancer de la prostate, et les lignées cellulaires SF-767 et SF-763 de glioblastome.

Mots clés : Huiles essentielles, antioxydant, anti-inflammatoire, antiproliférative et anti-migratoire

ABSTRACT

Essential oils are natural complex of volatile and odorous molecules, synthesized by aromatic plants. They have anti-infective, antioxidant, anticancer properties... The present work concerned the chemical composition, antioxidant, anti-inflammatory and anticancer properties of essential oils of *Cymbopogon giganteus* Chiov., *Cymbopogon citratus* [DC] Stapf, *Ocimum basilicum* Linnæus, *Ocimum americanum* Linnæus, *Hyptis spicigera* Lamarck, *Lippia multiflora* Moldenk, *Ageratum conyzoides* Linnæus, *Eucalyptus camaldulensis* Dehnhardt and *Zingiber officinale* Roscoe of Burkina Faso.

The essential oils were extracted by hydrodistillation using a Clevenger-type apparatus adapted and analyzed by GC/MS and GC/FID. The antioxidant activity was evaluated by DPPH and ABTS methods, and anti-inflammatory activity by inhibition of lipoxygenase. The antiproliferative activity was performed by the MTT assay on LNCaP and PC-3 cell lines of prostate cancer and SF-767 and SF-763 cell lines of glioblastoma. The action of essential oils on the resistance to anoikis through by soft agar method, their effect on cell migration by Scratch test and their action on the cell cycle by protein analysis by Western Blot.

The major constituents are mainly: α -terpineol (59.78%) for *O. basilicum* ; 1, 8-cineol (31.22%) for *O. americanum* ; β -caryophyllene (21%) and α -pinene (20.11%) for *H. spicigera* ; p-cymene (25.27%) for *L. multiflora* ; precocene (82.10%) for *A. conyzoides* ; eucalyptol (59.55%) for *E. camaldulensis* ; arcurcumene (16.67%) and camphene (12.70%) for *Z. officinale* ; geranial or citral A (48.18%) and neral or citral B (34.37%) for *C. citratus* ; limonene (19.33%) and mentha-1 (7) ,8-dien-2-ol cis (17.34%) for *C. giganteus*. All oils were presented antioxidant and anti-inflammatory activity. *C. citratus* has presented the best ability to scavenge DPPH \cdot radicals (% I = 67.58%) and *L. multiflora* strongest ability to reduce ABTS $^{+}$ radicals (1.02 μ mol ET / g). *Z. officinale* has submitted the best lipoxygenase inhibition (100% inhibition at 8mg/ml and 50.9% at 0.4 mg / ml). Only essential oils of *C. giganteus*, *C. citratus*, *O. basilicum*, *Z. officinale*, *L. multiflora* and *A. conyzoides* showed antiproliferative properties. *C. citratus* has submitted the best antiproliferative activity on both cell lines LNCaP (IC₅₀ = 6.36 μ g/ml) and PC-3 (IC₅₀ = 32.1 μ g/ml) of prostate cancer than those SF-767 (IC₅₀ = 45.13 μ g/ml) and SF-763 (IC₅₀ = 172.05 μ g/ml) of glioblastoma. Statistically, citral activity on LNCaP prostate cancer is equal to that of *C. citratus* and correspond third of that presented by cisplatin, a reference used in cancer chemotherapy. *C. citratus* and citral induce anoikis and

Abstract

prevent cell migration as cisplatin. *C. citratus* and citral also lead repression of Rb, activation of p21 and P27 of cycle.

The results of this work show that essential oils of some aromatic medicinal plants from Burkina Faso have anti-tumor potential on LNCaP and PC-3 cell lines of prostate cancer, and the SF-767 and SF-763 glioblastoma cell lines.

Key words : Essential oils, antioxidant, anti-inflammatory, anti-proliferative and anti-migratory

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

Le cancer est une tumeur maligne qui est une maladie caractérisée par une prolifération cellulaire anormalement importante au sein d'un tissu normal de l'organisme conduisant à l'envahissement des tissus voisins par une croissance illimitée, l'invasion et la métastase des cellules (Chang et al., 2011; Takahashi et al., 2006). Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, le cancer est une cause majeure de décès dans le monde à l'origine de 7,6 millions de décès en 2008, soit près de 13% de la mortalité mondiale (OMS, 2013). D'après les projections, la mortalité due au cancer dans le monde va continuer à augmenter pour dépasser 13,1 millions de décès en 2030 (Globocan 2008, IARC, 2010, 2013). Contrairement aux apparences, les populations des pays en développement sont également concernées. En effet, plus de 70% des décès dus au cancer surviennent dans les pays à faible revenu ou à revenu intermédiaire (OMS, 2013). De plus, le nombre de nouveaux cas de cancer augmenterait de 50% entre 2005 et 2020 et parallèlement le nombre de décès dû au cancer croîtrait de 149% au cours de la même période, principalement en raison du vieillissement constant de la population et de l'augmentation de la pollution (Rastogi et al., 2004). Au Burkina Faso, les données statistiques laissent penser que la maladie cancéreuse est une affection fréquente et pourrait être une préoccupation médicale dans les années à venir. En effet, l'OMS a estimé, en 2002, à environ 8000 cas de cancer avec 3% de décès. En 2005, les cancers représentaient 3,3% des causes de décès; et représenteraient en 2030 environ 6,0% des causes de décès (OMS, 2005). En l'absence d'un registre national du cancer, ces estimations pourraient être sous évaluées.

Comme dans la majorité des pays d'Afrique sub-saharienne dont le Burkina Faso, les services de santé manquent cruellement de moyens pour la détection précoce, le diagnostic, le traitement et la prise en charge adéquate du cancer. La majorité des cancers y sont donc diagnostiqués à des stades avancés, augmentant de ce fait la mortalité. Or, un cancer détecté précocement permet d'augmenter considérablement les chances de survie. En effet, près de 90% des patients atteints d'un cancer décèdent de leurs métastases (Mehlen et Puisieux, 2006). De ce fait, la recherche de nouvelles thérapies anti-tumorales devraient s'orienter vers la recherche de composés capables d'empêcher la migration des cellules tumorales et/ou d'inhiber la prolifération de cellules métastatiques.

Les plantes sont une source potentielle de découverte de médicaments et de développement de drogue de chimioprévention de cancer (Graham et al., 2000; Liu, 2004). En effet, entre 1983 et 1994, 61% des agents anticancéreux approuvés provenaient des plantes (Cragg et al, 1997).

Introduction Générale

La matière première végétale utilisée dans la médecine traditionnelle Africaine et burkinabé particulièrement peut être une source importante pour la recherche de médicaments anti-tumoraux. Nous pouvons citer *Calotropis procera* et *Balanites aegyptiaca* qui font l'objet de multiples usages au Burkina Faso et dont l'activité anti-tumorale d'extraits de diverses parties a été démontrée (Van Quaquebeke et al., 2005; Mijatovic et al., 2007a; Mijatovic et al., 2007b ; Gnoula et al., 2008). Les dernières avancées dans le domaine de la technologie pharmaceutique à travers les méthodes d'encapsulation permettent d'envisager l'utilisation de composés volatils en thérapeutique. Ceci permet d'explorer d'autres sources de métabolites secondaires comme les huiles essentielles. En effet, de nombreuses études ont mis en évidence d'intéressantes propriétés anti-tumorales des huiles essentielles de certaines plantes aromatiques (Yousefzadi et al., 2014; Rashid et al., 2013; Kpoviessi et al., 2014; El-Readi et al., 2013) particulièrement sur le cancer de la prostate et le glioblastome (Fogang et al., 2014; Ferraz et al., 2013; Bou et al., 2013; Walia et al., 2012). *Cymbopogon giganteus*, *Cymbopogon citratus*, *Ocimum basilicum*, *Ocimum americanum*, *Hyptis spicigera*, *Lippia multiflora*, *Ageratum conyzoides*, *Eucalyptus camaldulensis* et *Zingiber officinale* sont des plantes aromatiques utilisées dans la médecine traditionnelle Africaine en particulier au Burkina Faso pour le traitement de nombreuses pathologies dont des maladies liées au stress oxydatif tel le diabète, l'hypertension artérielle et les maladies inflammatoires tel que les arthrites, les arthroses, les rhumatismes et les hémorroïdes (Noudogbessi et al., 2013; Takayama et al., 2011; Santin et al., 2009). Or, l'inflammation chronique est connu pour contribuer au développement du cancer de la prostate (Sfanos et al., 2008 ; Nelson et al. 2004) et des glioblastomes (Issazadeh-Navikas, 2013). De plus, il existe une relation entre la production excessive de radicaux libres dans l'organisme à l'origine du stress oxydatif et l'inflammation (Reuter et al., 2010 ; Lin et Karin, 2007). En effet, l'initiation et la progression du cancer ont été associées au stress oxydatif en augmentant les mutations de l'ADN ou en induisant des dommages de l'ADN, l'instabilité du génome et la prolifération cellulaire (Visconti et Grieco, 2009). Des études plus récentes ont montré qu'en plus d'induire une instabilité génomique, les espèces réactives de l'oxygène peuvent spécifiquement activer certaines voies de signalisation et contribuer ainsi au développement de la tumeur à travers la régulation de la prolifération cellulaire, l'angiogenèse et la métastase (Storz, 2005).

C'est pourquoi, au regard de tout ce qui précède, nous avons initié la présente étude dont le but est de déterminer le potentiel anti-tumoral des huiles essentielles de ces plantes médicinales du Burkina Faso à travers l'évaluation des propriétés antiprolifératives et anti-migratoires sur des cellules de cancer de prostate et de glioblastomes.

Introduction Générale

Hypothèse de recherche: Les huiles essentielles de plantes aromatiques utilisées en médecine traditionnelle au Burkina Faso pourraient avoir un potentiel antiprolifératif et anti-migratoire cellulaire.

Démarche scientifique: Identification de nouvelles huiles essentielles et molécules antiprolifératives et anti-migratoires provenant de plantes médicinales du Burkina Faso sur des cellules cancéreuses de la prostate et de glioblastome.

Objectifs de la thèse

Objectif général

Etudier les propriétés anti-oxydantes, anti-inflammatoires, anti-prolifératives et anti-migratoires des huiles essentielles de quelques plantes médicinales du Burkina Faso sur des lignées cellulaires de cancer de la prostate et de glioblastomes.

Objectifs spécifiques :

- ✓ Déterminer la composition chimique des huiles essentielles de neuf plantes aromatiques médicinales du Burkina Faso ;
- ✓ Mesurer l'activité antioxydante et anti-inflammatoire de ces huiles essentielles ;
- ✓ Mesurer l'effet de ces huiles essentielles seules ou en combinaison et celui des constituants majoritaires des huiles sur la prolifération cellulaire globale ;
- ✓ Evaluer l'effet anti-migratoire des huiles essentielles et de leurs constituants majoritaires ;
- ✓ Déterminer les mécanismes d'action des huiles essentielles ou de leurs constituants majoritaires.

Le présent travail sera organisé autour d'un plan comportant les grandes parties suivantes :

Une première partie consacrée à la revue bibliographique

Une deuxième partie qui va concerner le matériel et les méthodes utilisés

Et enfin une troisième partie, consacrée aux résultats et à la discussion

PREMIERE PARTIE : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1 : HUILES ESSENTIELLES ET PLANTES

I LES HUILES ESSENTIELLES

1.1 Définition des huiles essentielles

Le terme « Huiles essentielles » est un terme générique qui désigne les composants liquides et hautement volatiles des plantes, marqués par une forte et caractéristique odeur. En effet, les huiles essentielles sont des complexes naturels de molécules volatiles et odorantes, synthétisées par les cellules sécrétrices des plantes aromatiques (Duquénois and Anton, 1968)

1.2 Les sources et procédés d'extraction des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont contenues dans les plantes aromatiques et sont responsables des différentes senteurs qu'elles dégagent. L'hydrodistillation reste le moyen le plus employé pour produire les huiles essentielles, en particulier à des fins commerciales et médicinales (Burt, 2004). Les métabolites secondaires sont extraits des plantes par un entraînement à la vapeur d'eau. Le volume d'huile essentielle récupéré dépend du rendement de distillation, qui est variable, chez une même plante, en fonction de la saison (Gonny et al., 2004). Les huiles essentielles peuvent aussi être obtenues par expression à froid, comme pour les agrumes. De nouvelles techniques, permettant d'augmenter le rendement de production, ont été développées, comme l'extraction au moyen de dioxyde de carbone liquide à basse température et sous haute pression (Santoyo et al., 2005) ou l'extraction assistée par ultrasons ou micro-ondes (Kimbaris et al., 2006).

1.3 Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

A la température ordinaire, on trouve généralement les huiles essentielles incolores ou jaune pâle à l'état liquide (Charpentier, 2008). Toutes les huiles essentielles sont volatiles, odorantes et inflammables et leur densité est le plus souvent inférieure à 1. Seules trois huiles essentielles officinales ont une densité supérieure à celle de l'eau. Ce sont les huiles essentielles de cannelle, de girofle et de saffran (Charpentier, 2008). Le terme «huile» s'explique par la propriété de solubilisation dans les graisses et par son caractère hydrophobe.

Ces huiles sont insolubles dans l'eau mais solubles dans les alcools, les huiles et la vaseline ; très altérables, elles s'oxydent au contact de l'air et de la lumière (Charpentier, 2008).

II.4 Composition chimique des huiles essentielles

Plus de 300 composés différents peuvent être identifiés dans les huiles essentielles. Trois groupes de composés ont été décrits (Pichersky et al., 2006). Le principal groupe est composé de terpènes et les terpénoïdes, majoritairement des monoterpènes et des sesquiterpènes (Ruberto and Baratta, 2000), les autres groupes comprennent les composés aromatiques (phénoliques) et dans une moindre mesure des composés aliphatiques (alcanes et alcènes) qui sont généralement en trace. Tous les composés sont caractérisés par un faible poids moléculaire (Bakkali et al., 2008).

II.4.1 Les terpènes et les terpénoïdes

Environ 30 000 terpènes ont été décrits dans la littérature (Connolly and Hill, 1991; Pinder, 1960). Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'unité isoprénique à 5 atomes de carbone (C_5H_8) (figures 1). Ils sont subdivisés selon le nombre d'entités isoprène en monoterpène formés de deux isoprènes ($C_{10}H_{16}$), en sesquiterpènes, formés de trois isoprènes ($C_{15}H_{24}$), en diterpènes, formés de quatre isoprènes ($C_{20}H_{32}$), en tétraterpènes, huit isoprènes qui conduisent aux caroténoïdes, en polyterpènes (C_5H_8)_n où n peut-être de 9 à 30 (Hernandez Ochoa, 2005). Les terpénoïdes (Figure 2) sont les terpènes dérivées des composés ayant un ou plusieurs groupes chimiques fonctionnels (alcool, aldéhyde, cétone, acide, ...).

Monoterpenes				
	β-myrcene Acyclic hydrocarbore	Limonene Cyclic hydrocarbore	α-phelladrene Cyclic hydrocarbore	α-terpinene Cyclic hydrocarbore
	α-pinene Bicyclic hydrocarbore	β-pinene Bicyclic hydrocarbore	Camphene Bicyclic hydrocarbore	β-pinene Bicyclic hydrocarbore
	Linalool Acyclic Alcohol	Nerol Acyclic Alcohol	Citronellol Acyclic Alcohol	Carvacrol Phenol
	Tymol Phenol	Citronellal Acyclic Aldehyde	Carvone ketone	α-thujone ketone
Sesquiterpenes				
	Zingiberene Monocyclic hydrocarbore	Humulene Monocyclic hydrocarbore	β-bisabolene Monocyclic hydrocarbore	Ar curcumene Monocyclic hydrocarbore
	Trans α-bergamotene Monocyclic hydrocarbore	δ-Cadinene Bicyclic hydrocarbore	Caryophyllene Bicyclic hydrocarbore	Germacrene Bicyclic hydrocarbore

Figure 1: Structure de quelques terpènes

Terpénoides				
	Ascaridol Bicyclic peroxyde	Menthol Alcohol	Sistostérol Alcohol	Beta-carotene Bicyclic hydrocarbore

Figure 2: Structure de quelques terpénoides

II.4.2 Les composés aromatiques

Les composés aromatiques (Figure 3) sont des dérivés du phénylpropane. Ils sont moins abondants que les terpènes. Deux classes de composés aromatiques peuvent être distinguées: les composés substitués sur le noyau de benzène et les dérivés dans lesquels le substituant est directement attaché au cycle benzénique de la chaîne latérale des composés substitués.

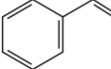
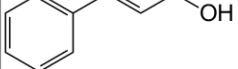
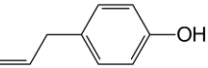
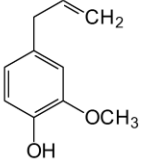
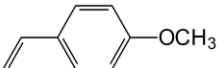
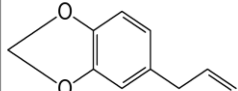
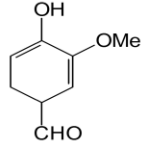
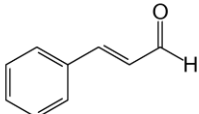
Composés Aromatiques				
	Styrene benzene	Cinnamyl alcohol alcohol	Charvicol phenol	Eugenol phenol
				
	Anethol Methoxy derivative	Safrol Methylene dioxy compound	Vaniline Phenol	Cinnamaldehyde phenol

Figure 3: Structures de quelques composés aromatiques

II.4.4 Notion de chémotype

Selon les conditions environnementales et de vie, les mêmes espèces peuvent présenter des différences chimiques intraspécifiques dans leurs compositions d'huiles essentielles (Lahlou and Berrada, 2003; Lahlou, 2004). Ces différences intraspécifiques sont définies comme chémotypes. Il est important de noter que les huiles essentielles à chémotypes différents présentent non seulement des activités différentes mais aussi des toxicités très variables (Pibiri, 2005).

II PLANTES DE L'ETUDE

II.1 *Cymbopogon giganteus* Chiov.

II.1.1 Description botanique

C. giganteus est une plante de la famille des Poaceae. Son nom en langue Mooré est "Kuwaré". C'est une herbe vivace, robuste, dressée, à plusieurs chaumes partant de la souche rhizomateuse. Feuilles longuement acuminées, vertes glauques, recouvertes jeunes d'une pubescence farineuse (Figure 4). Panicules d'épis dressés, compacts. Nombreux épillets serrés et chevauchant entourés par des spathes acuminées avant de se développer. C'est une plante avec des articulations et pédicelles densément ciliés donnant une teinte soyeuse argentée à l'inflorescence. Reproduction par rhizomes et graines (Kerharo J. and Adam J.G., 1974).



Figure 4: Photo de *C. giganteus* (BAYALA Bagora, Août 2011, Gampéla)

II.1.2 Utilisation dans la médecine traditionnelle

La décoction des feuilles et fleurs de *C. giganteus* sont utilisés comme un traitement efficace contre les troubles de la peau, la conjonctive, la migraine et l'hépatite (Adjanohoun and Aké Assi, 1985; Adjanohoun et al., 1979). L'huile essentielle de cette plante est utilisée dans la médecine traditionnelle comme anti-inflammatoire et analgésique dans le traitement des furoncles, des maux d'estomac et des maux de dents (Sahouo et al., 2003). La décoction aqueuse de cette plante est utilisée dans le traitement des falciformations et maladies cellulaires (Noudogbessi et al., 2013). Elle est également utilisée pour calmer les crises d'épilepsie (Adjanohoun et al., 1989).

II.1.3 Composition de l'huile essentielle

Kpoviessi et al., (2014) ont identifiés 53 composés dans les huiles essentielles de *C. giganteus* dont les composés majoritaires, le trans-p-mentha-1 (7),8-diène-2-ol, le trans-carvéol, le trans-p-mentha-2,8-diéanol, le cis-p-mentha-2,8-diéanol, le cis-p-mentha-1 (7),8-diène-2-ol, le limonène, le cis-carvéol et le cis-carvone. Bassolé et al., en 2011 ont identifié 86,0% de composés dans les huiles essentielles de *C. giganteus*. Les composés majoritaires selon cette étude étaient le limonène (42%) et un ensemble d'alcools monoterpénique: trans-p-mentha-1 (7),8-diène-2-ol (14,2%), le cis-p-mentha-1 (7), 8-diène-2-ol (12%), trans-p-mentha-2,8-diène-1-ol (5,6%) et 5,2% de cis-p-mentha-2,8-diène-1-ol (Bassolé et al., 2011).

II.1.4 Propriétés biologiques de l'huile essentielle

L'huile essentielle de *C. giganteus* possède une activité antimicrobienne sur plusieurs souches de bactéries (Bassolé et al., 2011), sur les bactéries Gram+ et Gram- d'une manière générale (Jirovetz et al., 2007). Elle permet de lutter efficacement contre la trypanosomiase (Kpoviessi et al., 2013). Elle a un effet inhibiteur de la Lipoxigénase extraite de soja (Sahouo et al., 2003). Cette huile présente une activité antimicrobienne modérée sur *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (MIC = $0,32 \pm 0,02$ mg/mL) et *Escherichia coli* ATCC 25922 (MIC = $0,64 \pm 0,34$ mg/mL (Alitonou et al., 2012). L'huile essentielle de *C. giganteus* a une très faible propriété antiradicalaire par rapport au BHT et le 5-tocophérol utilisés comme control positif (Menut et al., 2000). Elle a un effet insecticide à 100%, à une concentration de $1549 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ sur l'anophèle gambiae (Nonviho et al., 2010).

II.2 *Cymbopogon citratus* [DC] Stapf

II.2.1 Description botanique

C. citratus appartient à la famille des poaceae, qui compte environ 660 genres et 9000 espèces (Clayton, 1968). *C. citratus* est une herbe vivace, sans ramifications, à odeur de citron poussant à touffes denses (Figure 5). Feuilles isolées, vertes claires, pubescentes, fortement parfumées, longuement effilées, réunies en gaine sur une certaine partie de leur longueur, bords hyalins formés de nombreuses petites dents dirigées vers le sommet; la partie souterraine est constituée par un bulbe ou rhizome. Hampe florale à nombreuses ramifications

terminées par des épis agglomérés verdâtres. Sa reproduction se fait par les rhizomes (Nacoulma OG, 1996).



Figure 5: Photo de *C. citratus* (BAYALA Bagora, Août 2011, Gampéla)

I.2.2 Utilisation dans la médecine traditionnelle

C. citratus est couramment utilisé dans la médecine traditionnelle pour le traitement des troubles nerveux et gastro-intestinaux, et comme antispasmodique, analgésique, anti-inflammatoire, antipyrétique, diurétique et sédatif (Santin et al., 2009). Elle est largement appliquée dans la médecine traditionnelle en infusion ou décoction pour traiter les troubles nerveux (Carlini et al., 1986).

II.2.3 Composition de l'huile essentielle

Dans les travaux de Kpoviessi et al., (2014), 29 composés ont été caractérisés dans l'huile essentielle de *C. citratus* dont les principaux constituants, le géraniol, le néral, le β -pinène et le cis-géraniol. L'analyse chimique de l'huile essentielle des feuilles de *C. citratus* du Burkina Faso effectuée par Bassolé et al., (2011) a permis d'identifier 96,3% de composés dont le géraniol (48,1%), néral (34,6%) et le myrcène (11,0%) ont été les principaux composés. Cinq principaux constituants ont été identifiés dans l'huile essentielle des gaines de feuilles fraîches de *C. citratus*, le E-citral, le Z-citral, le bêta-myrcène, le selina-6-en-4-ol et le cis-ocimène (Tadtong et al., 2014). Un total de 16 constituants chimiques qui représentent 93,69% de l'huile essentielle de *C. citratus* ont été identifiés parmi lesquels, géraniol (27,04%), néral (19,93%) et le myrcène (27,04%) ont été les principaux constituants (Gbenou et al., 2013). Dans les travaux de Kumar et al., (2013), le citral (47%) et le 1,8-cinéol (7,5%) ont été mis en évidence comme principaux composés.

II.2.4 Propriétés biologiques de l'huile essentielle

L'huile essentielle de *C. citratus* a un effet antiparasitaire. En effet, elle est efficace contre la leishmaniose qui provoque une mortalité considérable dans le monde entier, affectant plus de 12 millions de personnes (Santin et al., 2009). A une concentration de $1,1\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$, cette huile induit 100% d'inhibition sur l'*Anopheles gambiae* (Nonviho et al., 2010). D'autres études ont également montré l'activité insecticide de cette huile (Pushpanathan et al., 2006; Freitas et al., 2010; Stefanazzi et al., 2011; Phasomkusolsil et Soonwera, 2011; Sinthusiri et Soonwera, 2013) et antimalariale *in vivo* (Tchoumboungang et al., 2005). Cette huile est aussi antimicrobienne (Abe et al., 2003, 2003; Ohno et al., 2003; Helal et al., 2006; Dutta et al., 2007; Mayaud et al., 2008; Bassolé et al., 2011; de Oliveira et al., 2013; Sfeir et al., 2013) et anti-inflammatoire (Francisco et al., 2011; Gbenou et al., 2013). Elle est également antiproliférative sur trois formes évolutives de *Trypanosoma cruzi* (Santoro et al., 2007).

II.3 *Ocimum americanum* Linnæus

II.3.1 Description botanique

O. americanum est une plante de la famille des Lamiaceae. Son nom en langue Mooré est "Yulin-gnu-raaga". Il y a environ 160 espèces du genre *Ocimum*, largement dispersées sur les régions chaudes du globe. Habituellement, ce sont des arbustes ou des herbes, vivaces ou bisannuelles. Ces plantes sont très ramifiées avec des tiges et rameaux quadrangulaires, fortement parfumées. Les rameaux peuvent être violacés, bruns, brunâtre ou verdâtre. Les feuilles sont pétiolées, simples, ovales ou subovales avec dents de scie ou à marge entière. Les tiges, les feuilles et les inflorescences possèdent des poils glandulaires. *O. americanum* est une herbacée (Figure 6). Les fleurs sont plus visibles, les bractées sont pétiolées et les graines sont ellipsoïdes, de couleur noire (Bhattacharjee, 2005).



Figure 6: Photo de *O. americanum* (BAYALA Bagora, Août 2011, Gampéla)

II.3.2 Utilisation dans la médecine traditionnelle

Les tiges feuillées, les tiges fructifères et les graines de *Ocimum americanum* sont utilisées en usage interne et externe. Les feuilles sont utilisées pour traiter le hoquet, les parasitoses cutanées (gale), le paludisme, la fièvre avec refroidissement des mains et des pieds, les vomissements, les coliques, l'inflammation de la rate. Les feuilles séchées (prise et inhalation de poudre) soignent l'épistaxis, les polypes du nez, la tumeur d'estomac, la tumeur des yeux, les mycoses. Elles sont aussi hémostatiques, sternutatoires, ophtalmiques, émétiques et antitumorales. Les graines sont toniques, diurétiques et éliminent les objets tombés dans les yeux. Les racines soignent les morsures de serpent. Les feuilles sont insectifuge et attireraient les scorpions qu'elles immobiliseraient par la suite (Nacoulma OG, 1996).

II.3.3 Composition de l'huile essentielle

Les données publiées par Djibo et al. ont présenté le 1,8-cinéole et camphre comme composés majoritaires de l'huile essentielle de *O. americanum* (Djibo et al., 2004). À partir de *O. americanum* de l'Inde, Sobti et al., (1976) d'une part et Gupta et Sobti, (1990) d'autre part ont obtenu une huile essentielle dont le constituant principal est le méthylchavicol. Vingt-six composés au total qui représentent 98,9% ont été caractérisés dont le linalol (19,63%) et du 1,8-cinéole (17,27%) sont les composés principaux (Yamada et al., 2013).

II.3.4 Propriétés biologiques de l'huile essentielle

L'huile essentielle de *O. americanum* est anti-inflammatoire. En effet, elle présente un effet régulateur des flux de leucocytes dans la membrane synoviale et protecteur contre la destruction du cartilage dans les articulations du genou chez les souris arthritiques (Yamada et al., 2013). Elle présente aussi une activité antimicrobienne *in vitro* sur *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus casei* et *Candida albicans* (Thaweboon and Thaweboon, 2009), sur *Propionibacterium acnes* (Viyoch et al., 2006). Les travaux de Cimanga et al., (2002) ont également démontré son activité antimicrobienne. Cette huile est aussi larvicide et présente un effet répulsif contre certains moustiques en particulier *Aedes aegypti*, *Anopheles dirus* et *Culex quinquefasciatus* (Cavalcanti et al., 2004; Chokechaijaroenporn et al., 1994; Tawatsin et al., 2001)

II.4 *Ocimum basilicum* Linnæus

II.4.1 Description botanique

O. basilicum est une espèce herbacée de la famille des Lamiaceae. Son nom en langue Mooré est "Yulin-gnuuga". Elle est originaire des régions chaudes de l'Asie, d'Afrique et d'Iran. Cette espèce est cultivée commercialement pour l'extraction d'huile essentielle dans le sud de la France, l'Italie, l'Espagne, l'Allemagne, l'Amérique du Nord, la Bulgarie, l'Égypte, la Sicile, Haïti, Comomoros, le Madagascar et les Seychelles. Elle est également cultivée en Inde. C'est une herbe d'environ 75Cm de hauteur. Les feuilles sont pétiolées, ovales, rétrécies aux deux extrémités. Elle porte des grappes de petites fleurs blanches à deux lèvres (Figure 7). Les fleurs sont portées sur de longues inflorescences en grappes. La corolle est petite peu évidente et de couleur verdâtre. Les graines sont ellipsoïdes et de couleur noire, elles deviennent mucillagineuses lorsqu'elles sont mouillées. (Bhattacharjee, 2005).



Figure 7: Photo de *O. basilicum* (BAYALA Bagora, Août 2011, Gampéla)

II.4.2 Utilisation dans la médecine traditionnelle

La décoction aqueuse de *O. basilicum* est utilisée dans le traitement des falciformations et maladies cellulaires (Noudogbessi et al., 2013). Traditionnellement, *O. basilicum* est utilisée comme plante médicinale dans le traitement des maux de tête, la toux, la diarrhée, la constipation, les verrues, les vers et les dysfonctionnements des reins (Simon et al., 1999).

II.4.3 Composition de l'huile essentielle

La composition chimique de l'huile essentielle de *O. basilicum* a été déterminée par chromatographie gazeuse à spectrométrie de masse (GC/MS) et a permis d'identifier 20 composés chimiques dont les principaux sont le linalol (52,42%), l'eugénol de méthyle (18,74%) et 1, 8 cinéole (5,61%) (Govindarajan et al., 2013). Sept chémotypes ont été décrits pour l'huile essentielle de *O. basilicum*: (1) linalol, (2) linalol/eugénol, (3) méthyl chavicol sans linalol, (4) méthyl chavicol/linalol, (5) eugénol de méthyle/linalol, (6) le cinnamate de méthyle/linalol et (7) de chémotypes bergamotène (Zheljazkov et al., 2008). Les travaux de Bassolé ont mis en évidence le linalol et l'eugénol composés majoritaires de cette huile (Bassolé et al., 2010).

II.4.4 Propriétés biologiques de l'huile essentielle

L'huile essentielle de *O. basilicum* possède une bonne activité inhibitrice sur la souche-type *Escherichia coli* ATCC 25922, ainsi que sur 60 souches cliniques de *Escherichia coli* (Sienkiewicz et al., 2013). Les études de Hossain et al., (2010) ont aussi montré l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *O. basilicum* contre *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *B. megaterium*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Shigella*

boydii, *Shigella dysenteriae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio mimicus*, *Salmonella typhi* avec des zones d'inhibition respectives de 11,2 à 21,1 mm et des valeurs de CMI de 62,5 à 500µ/ml. Plusieurs études ont également montré l'activité antimicrobienne (Helal et al., 2006; Ahonkhai et al., 2009; Bassolé et al., 2010; Duman et al., 2010; Rattanachaikunsopon et Phumkhachorn, 2010; Soković et al., 2010; Rao et al., 2011; Matiz et al., 2012), l'activité insecticide (Martinez-Velazquez et al., 2011; Warikoo et al., 2011; El-Seedi et al., 2012; Siriporn et Mayura, 2012), larvicide (Govindarajan et al., 2013), antioxydante (Trevisan et al., 2006) et antifongique (Edris et Farrag, 2003) de cette huile essentielle. L'huile essentielle de *O. basilicum* possède une cytotoxicité *in vitro* contre la lignée cellulaire de cancer du col de l'utérus humain (HeLa), du carcinome épithélial (HEp-2) et du fibroblastes embryonnaires NIH 3T3 de souris (Kathirvel and Ravi, 2012) et une activité antiproliférative sur les lignées cellulaires du carcinome épidermique buccale de l'Homme (KB) et la leucémie murine (P388) (Manosroi et al., 2006).

II.5 *Hyptis spicigera* Lamarck

II.5.1 Description botanique

H. spicigera est une plante de la famille des Lamiaceae. Son nom en langue Mooré est "Rung-rungui, rung-rundaaga". C'est une plante aromatique annuelle, velue, renouée, ligneuse à la base. Les feuilles sont opposées et lancéolées (Figure 8). Les inflorescences sont terminales, denses, spike cylindral constitué de très petites fleurs à corolle blanche et mauve. *H. spicigera* est une herbacée rudérales. Elle pousse dans les savanes inondées périodiquement et dans les champs. Bien endémique au Brésil, elle est très répandue en Afrique tropicale et en Asie (Bogninou-Agbidinoukoun et al., 2013)



Figure 8: Photo de *H. spicigera* (BAYALA Bagora, Août 2011, Gampéla)

II.5.2 Utilisation dans la médecine traditionnelle

H. spicigera est utilisée en médecine traditionnelle pour traiter la fièvre, l'inflammation et des troubles gastriques (Takayama et al., 2011). *H. spicigera* est une plante indigène répartie entre la région centrale du Brésil et dont l'huile essentielle extraite de cette plante est utilisée en médecine populaire comme antipyrétique (Takayama et al., 2011). *H. spicigera* a été traditionnellement utilisée comme une céréale et légumineuse protectrice contre les insectes ravageurs de stockage (Wekesa et al., 2011). *H. spicigera* est une herbacée communément utilisée par certaines populations africaines aussi bien dans le traitement de certaines maladies (maux de tête, gale et sinusite) que dans la conservation des denrées alimentaires (niébbé) et leur cuisson (cuisson de riz) (Ngo Bum et al., 2004). La décoction de cette plante est utilisée comme eau de bain ou de thé, expectorant pour traiter les sécrétions bronchiques. La poudre obtenue à partir des organes aériens est utilisée en tant que médicament antimigraux (Bogninou-Agbidinokoun et al., 2013).

II.5.3 Composition de l'huile essentielle

Le β -caryophyllène, l' α -pinène et le p-cymène ont été identifiés dans l'huile essentielle de *H. spicigera* (McNeil et al., 2011). Par ailleurs, l' α -pinène (50.8%), cineole (20.3%) et le β -pinène (18.3%) ont également été identifiés (Takayama et al., 2011). Dans cette huile essentielle, Wekesa et al. ont identifié l' α -pinène (27,4%), le β -pinène (17,6 %), le L-phellandène/thujène (12,2%), le limonène/phellandène (9,4%) et l'isocaryophyllène (9,2%) (Wekesa et al., 2011).

II.5.4 Propriétés biologiques de l'huile essentielle

L'huile essentielle de *H. spicigera* a un effet protecteur contre les ulcères. En effet les études de Takayama et al., (2011) ont montré l'efficacité et l'innocuité de cette huile dans la lutte et la guérison de l'ulcère gastrique. Sur *Annona senegalensis* et *Xylopia aethiopica*, l'huile essentielle de *H. spicigera* exerce un effet insecticide (Kouninki et al., 2005). D'autres études mettent également en exergue l'activité insecticide (Conti et al., 2011; Sanon et al., 2006) et antimicrobienne (Moreira et al., 2010) de l'huile essentielle de *Hyptis spicigera*.

II.6 *Lippia multiflora* Moldenke

II.6.1 Description botanique

L. multiflora est une plante de la famille des Verbenaceae. Son nom en langue Mooré est “Guraogo” (Yako). C’est une herbe aromatique, ligneuse, dressée, anguleuse et pubescente, ramifiée aux inflorescences. Vivace par les souches. Feuilles verticillées oblongues, à bord finement denté, pubescente, blanchâtre dessous (Figure 9). Epis terminaux ombelliformes globuleux ou cylindriques. Petites fleurs blanches, bractées obtuses. Toute la plante dégage une odeur capiteuse. Pollinisation par abeilles, fourmis rouges. Multiplication par les graines (Nacoulma OG, 1996).



Figure 9: Photo de *L. multiflora* (BAYALA Bagora, Août 2011, Gampéla)

II.6.2 Utilisation dans la médecine traditionnelle

L. multiflora est utilisée pour traiter les affections bronchiques, les accès fébriles, les ictères et l’hypertension (Adjanohoun et al., 1992) ; elle est aussi utilisée dans le traitement des diarrhées (Adjanohoun et al., 1992)

II.6.3 Composition de l’huile essentielle

Vingt-neuf composés ont été caractérisés dans l’huile essentielle de *L. multiflora* représentant au total 97,3% dont le p-cymène (21,3%), le thymol (14%), β -caryophyllène (12,9%), carvacrol (9,3%) et la carvone (8,6%) les principaux composés et le 1,8-cinéole (5%), α -humulène (3,5%), α -amorphène (3,3%), α -phellandrène (3,1%), β -myrcène (2,4%), α -thujène (2,3 %), α -terpinène (1,9%), l’acétate de thymol (1,6%), bicyclogermacrene (1,3%) et de δ -cadinène (1,2%) les composés mineurs (Bassolé et al., 2010). Par ailleurs, le 1,8-cinéol (48,9%), le geranial (15,1%), l’ α -terpinéol (8,5%) et le sabinène (5,1%) ont été identifiés

comme composés majoritaires (Kouamé et al., 2008). Le linalol (46.6%) et (E)-nerolidol (16,5%) ont également été identifiés comme étant les composés majoritaires de l'huile essentielle de cette plante (Tia et al., 2011).

II.6.4 Propriétés biologiques de l'huile essentielle

Aux doses de 2, 4 et 8ml/kg o.s., l'huile essentielle de *L. multiflora* a montré un effet analgésique significatif et dose-dépendante de convulsions induites par l'acide acétique chez la souris (Abena et al., 2003, 2001). L'huile essentielle de *L. multiflora* a une activité antimicrobienne (Pélissier et al., 1994; Bassolé et al., 2010). En effet, elle est plus active sur les bactéries à Gram négatif (Bassolé et al., 2003). D'autres études ont également montré que cette huile est insecticide (Valentin et al., 1995; Tia et al., 2011), antioxydante et antiradicalaire (Avlessi et al., 2005).

II.7 *Ageratum conyzoides* Linnæus

II.7.1 Description botanique

A. conyzoides est une herbe annuelle dressée mollement pubescente appartenant à la famille des Asteraceae. Son nom en langue Mooré est "Tougour-taaba". Elle possède des feuilles souples, douces au toucher, opposées, ovales (Figure 10). Cimes de capitules terminaux avec des fleurs mauves pâles ou bleutées. Akènes noirs une fois mûrs, pubescentes ou glabrescentes, trapus. Toute la plante dégage une odeur aromatique quand on la froisse. La pollinisation de cette herbe se fait par les abeilles, la reproduction par graines (Kerharo J. and Adam J.G., 1974)



Figure 10: Photo de *A. conyzoides* (BAYALA Bagora, Août 2011, Gampéla)

I.2.2 Utilisation dans la médecine traditionnelle

En usage interne, *Ageratum conyzoides* est Cholagogue, tonique, hémostatique, fébrifuge, cicatrisant, émétique, antalgique, diurétique, antibiotique, anti-abortif, cholagogue, antibactérien, anti-inflammatoire, rafraîchissant. En effet, les feuilles sont utilisées pour traiter les inflammations, les affections de foie, la poussée dentaire, les brûlures, les plaies, les blessures, les ulcères, les troubles utérins, les douleurs des femmes enceintes, les vertiges, les douleurs gastro intestinales, la pneumonie, la tachycardie, les maux et douleurs costales, la jaunisse, le hoquet, les morsures de serpent et les ménorragies. Les racines sont utilisées pour traiter la diarrhée. En usage externe elles traitent les ophtalmies, les dermatoses prurigineux, la fièvre des enfants, les plaies, les brûlures, les blessures, les orchites. Elles sont antiseptiques, fébrifuges, antipyrétiques, anti-inflammatoires, cicatrisantes et hémostatiques (Nacoulma OG, 1996).

II.2.3 Composition de l'huile essentielle

Le précocène I (74,30%) et le (E)-caryophyllène (14,23%) ont été identifiés comme les deux principaux constituants de l'huile essentielle de *A. conyzoides* (de Melo et al., 2011). L'analyse de cette huile par GC/MS a montré que ses principaux composés sont le précocène II (46.35%), le précocène I (42,78%), le coumarine (5,01%) et le trans-caryophyllène (3,02%) (Nogueira et al., 2010). Abdelkader et Lockwood, en 2011 ont décrit le précocène I, la germacrène D, le β -caryophyllène et le précocène II comme les principaux constituants de cette huile essentielle.

II.2. 4 Propriétés biologiques de l'huile essentielle

L'huile essentielle de *A. conyzoides* est antiparasitaire (de Melo et al., 2011). Elle a une action inhibitrice de l'aflatoxin B(1) produite par les espèces *Aspergillus* (Nogueira et al., 2010) et aussi sur *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* (Patil et al., 2010). D'autres travaux ont également montré que l'huile essentielle de cette plante est insecticide (Bouda et al., 2001; Gbolade et al., 1999), fongicide (Fiori et al., 2000), antioxydante (Patil et al., 2010) et anti-inflammatoire (Moura et al., 2005)

II.8 *Eucalyptus camaldulensis* Dehnhardt

I.8.1 Description botanique

E. camaldulensis est une plante de la famille des Myrtaceae. Généralement appelée “gomme de la rivière rouge”, *E. camaldulensis* est un arbre du genre *Eucalyptus*. C'est une espèce de plantation dans de nombreuses parties du monde, dont le Nigéria, mais il est originaire d'Autriche où il est répandu surtout au bord de cours d'eau navigables. Les feuilles de *Eucalyptus camaldulensis* sont persistantes. L'arbre est d'environ 24 - 40 mètres de haut avec un tronc robuste, l'écorce est lisse, gris blanc ou chamois (Figure 11) (Boily and Vapuyvelde, 1986).



Figure 11: Photo de *E. camaldulensis* (BAYALA Bagora, Août 2011, Gampéla)

II.8.2 Utilisation dans la médecine traditionnelle

L'infusion de *E. camaldulensis* est utilisée pour le soulagement des courbatures, des douleurs, des maux de tête sévères et les morsures de serpent (Kelly, 1996). La plante est également soupçonnée d'être efficace dans la gestion de l'hypertension artérielle (Iwu, 1995). Elle a également été rapportée pour avoir des propriétés antibactériennes et antifongiques (Bamayi et al., 2004). La gomme de cette plante bouillie avec de l'eau et du sucre, devenue une boisson liquide, est utilisée pour traiter les affections pulmonaires et comme une anesthésie générale et pour les maux de dents *in* (Boily and Vapuyvelde, 1986). Une infusion de l'écorce est utilisée pour le lavage pour certains yeux, l'ophtalmie et est efficace dans le traitement de la diarrhée *in* (Boily and Vapuyvelde, 1986). Au Nigeria et dans certaines parties de l'Afrique sub-saharienne, ses usages médicinaux comprennent l'utilisation de son huile comme un remède contre la toux et le froid *in* (Boily and Vapuyvelde, 1986).

II.8.3 Composition de l'huile essentielle

L'analyse chimique de l'huile essentielle de *E. camaldulensis* par da Cruz Francisco et al., (2001) extrait par hydrodistillation a révélé le 1,8-cinéole (43%), l'alpha-pinène (5,5%), le bêta-pinène (3,4%), le p-cymène (5,2%), le terpinène-4-ol (3,1%) et le globulol (4,1%) comme étant les composés majoritaires. Le 1,8-cinéole (45,71%) et le p-cymène (17,14%) ont été identifiés comme étant les principaux composés de l'huile essentielle de *E. camaldulensis* obtenus par hydrodistillation, et le 8,14-cedranoxide (43,79%) et l'elémol (6,3%) les composés majoritaires de cette même huile essentielle par extraction supercritique de dioxyde de carbone (Herzi et al., 2013). Par ailleurs, il avait été précédemment rapporté que les principaux composants de l'huile essentielle de *E. camaldulensis* ont été : éthanol (25,36%), de l'eucalyptol (13,73%), β -caryophyllène (11,55%) et de carvacrol (9,05%) (Akin et al., 2012).

II.8. 4 Propriétés biologiques de l'huile essentielle

L'huile essentielle de *E. camaldulensis* a une activité antiacétylcholinestérase avec une concentration inhibitrice 50 de 18,98 $\mu\text{g/mL}$ (Kiendrebeogo et al., 2011). Elle présente un excellent effet inhibiteur à la fois sur les larves de *Aedes aegypti* et *Aedes albopictus* (Cheng et al., 2009) et une activité antiparasitaire (Ghasemi et al., 2011), en particulier sur *Trypanosoma brucei* et *Trypanosoma evansi* (Habila et al., 2010). D'autres études ont également montré que cette huile essentielle est insecticide (Erler et al., 2006; Negahban et Moharramipour, 2007; Lucia et al., 2009; Alzogaray et al., 2011) mais aussi antimicrobienne *in vitro* et *in vivo* (Rasooli et al., 2009).

II.9 Zingiber Officinale Roscoe

II.9.1 Description botanique

Z. Officinale appartient à la famille des Zingiberaceae. Son nom en langue Mooré est "Gnamaku". C'est une plante rhizomateuse portant deux sortes de tiges aériennes dressées: les unes stériles avec des feuilles linéaires lancéolées, engainantes, et les autres fertiles portant des sortes de bractées engainantes sont terminées par un épi ovoïde avec des fleurs jaune verdâtre. Inflorescence en épi serré de fleurs irrégulières (Figure 12). Les rhizome sont

fortement aromatique. La multiplication se fait par voie végétative à partir des fragments de rhizome (Bruneton J., 1993).



Figure 12: Photo de *Z. officinale* (BAYALA Bagora, Août 2011, Gampéla)

II.9.2 Utilisation dans la médecine traditionnelle

Z. officinale est une plante médicinale qui a été largement utilisée dans les médicaments à base de plantes chinoises partout dans le monde depuis l'antiquité, pour un large éventail de maladies non liées qui incluent l'arthrite, les rhumatismes, les entorses, des douleurs musculaires, des douleurs, des maux de gorge, des crampes, la constipation, l'indigestion, les vomissements, l'hypertension, la fièvre, les maladies infectieuses et les helminthiases (Ali et al., 2008). Par ailleurs, *Z. officinale* a été traditionnellement utilisé dans les troubles du tractus gastro-intestinal, comme stomachique, laxatif, sialogogue, activateur de la vidange gastrique, apéritif, antiémétique, et en même temps, comme un anti-diarrhéique et anticolique (Ghayur et Gilani, 2005)

II.9.3 Composition de l'huile essentielle

L'analyse chimique de l'huile essentielle de *Z. officinale* effectuée par Nogueira de Melo et al., (2011) a permis d'identifier l'arcurcumene (59%), le β -myrcène (14%), le 1,8-cinéole (8%), le citral (7,5%) et le zingibérène (7,5%) comme étant les principaux composés. D'autres études ont détectées dans cette huile essentielle l'alpha-zingibérène (31%), l'ar-curcumène (15,4%) et le sesquiphellandrene (14,02%) comme étant les principaux composés (Jeena et al., 2013). L' α -zingibérène (23,9%) et le citral (21,7%) ont également été identifiés comme étant les composés majoritaires de l'huile essentielle de cette plante (Yamamoto-Ribeiro et al., 2013).

II.9.4. Propriétés biologiques de l'huile essentielle

L'huile essentielle de *Z. officinale* entraîne une réduction significative de l'inflammation aiguë produite par le carraghénane et le dextrane ainsi que l'inflammation chronique induite par le formol (Jeena et al., 2013). Des études antérieures ont montré des effets directs et systémiques de l'huile essentielle de cette plante sur la migration des leucocytes comme un mécanisme important de son effet anti-inflammatoire (Nogueira de Melo et al., 2011). C'est une huile antioxydante (Alinkina et al., 2012). En effet cette huile est un puissant inhibiteur de l'activité phasique dans l'utérus de rat (El-Ghorab et al., 2010). Certaines études ont montré que l'huile essentielle de *Z. officinale* n'est pas toxique pour les rats mâles et femelles après administration par voie orale subchronique allant jusqu'à 500 mg/kg par jour (Jeena et al., 2011). Plusieurs études ont montré que l'huile essentielle de cette plante est antimicrobienne (Martins et al., 2001; Thongson et al., 2005; Norajit et al., 2007; Singh et al., 2008; Takahashi et al., 2011), larvicide (Zhang et al., 2004; Govindarajan, 2011; Moon et al., 2011) et immunomodulatrice (Carrasco et al., 2009).

CHAPITRE 2: STRESS OXYDATIF, INFLAMMATIONS ET CANCERS

I. LE STRESS OXYDATIF

I-1. Les radicaux libres

Les radicaux libres sont omniprésents dans notre corps et sont générés par des processus physiologiques normaux y compris le métabolisme aérobie et de réponses inflammatoires, pour éliminer les microorganismes pathogènes envahisseurs. Les radicaux libres sont des espèces très réactives compte tenue de l'existence d'au moins un électron libre sur leur orbitale électronique externe (Govindarajan et al., 2005). Parce que les radicaux libres peuvent également causer des dommages cellulaires, plusieurs moyens de défense ont évolué pour protéger nos cellules contre les radicaux et pour réparer les dommages de l'ADN (Hussain et al., 2003).

I-2. Mécanisme de production et d'élimination des ROS dans l'organisme

Les espèces réactives de l'oxygène à l'origine de la perturbation de l'homéostasie cellulaire peuvent être produites à la fois par des sources endogènes à travers le cytochrome P450 des mitochondries, les peroxysomes et les cellules inflammatoires, et par des sources exogènes tel que le rayonnement, l'ozone, l'hyperoxie et les xénobiotiques. Les mécanismes de défense contre la toxicité des espèces réactives de l'oxygène sont nombreux (Govindarajan et al., 2005) et proviennent de diverses sources également. La première source est endogène et est composée de protéines enzymatiques (Figure 13). Nous avons le complexe enzymatique superoxyde dismutase (EC 1.15.1.1), la catalase (EC 1.11.1.6) et le glutathion peroxydase qui jouent un rôle indispensable dans cette défense (Matés and Sánchez-Jiménez, 1999). La seconde source, très importante, est l'alimentation et la médecine à travers lesquelles des petites molécules sont consommées. Ce sont les vitamines, les caroténoïdes, les flavonoïdes, les acides phénols, les coumarines, les quinones, les alcaloïdes. Les parties les plus actives de ces molécules sont les hydroxyles libres, les noyaux aromatiques, les doubles liaisons éthyléniques souvent conjuguées, qui permettent de donner des électrons et de rester stables par mémorisation (Heim et al., 2002).

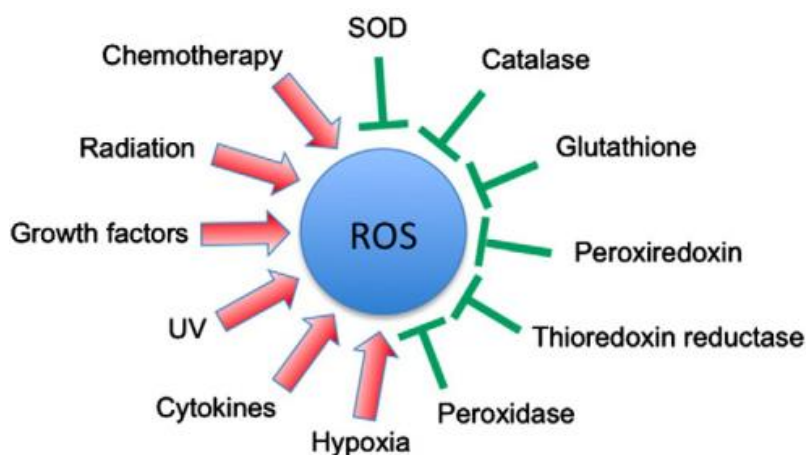


Figure 13: Représentation schématique des divers activateurs et inhibiteurs de production d'espèces réactives de l'oxygène (Reuter et al., 2010).

I-3. Les antioxydants

Un antioxydant peut être défini comme étant toute substance capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats (Berger, 2006). En d'autres termes, un antioxydant est une substance qui, en faible concentration comparativement à la quantité des substances oxydables telles les espèces oxygénées réactives (ROS), retarde significativement ou prévient l'oxydation des substrats comme les lipides, les protéines, les DNA et les carbohydrates. La production excessive des espèces réactives de l'oxygène est responsable de dégâts cellulaires importants notamment l'induction de ruptures et de mutations de l'ADN, la modification de structures protéiques, la peroxydation des lipides, l'inactivation de diverses enzymes et l'oxydation des sucres (Defraigne and Pincemail, 2008). *In vitro*, les méthodes anti-radicalaires décrites par Velázquez et al., en 2003 (DPPH) et par Re et al., en 1999 (ABTS) sont les plus souvent utilisées pour évaluer l'activité antioxydante des molécules. Ainsi, par exemple, l'équation de la réaction du DPPH avec une molécule RH peut s'écrire:

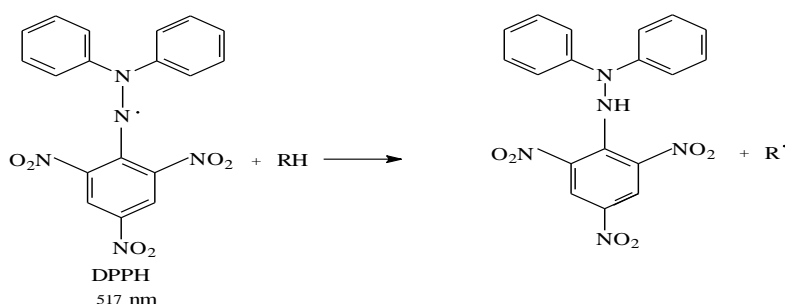


Figure 14: Réaction du DPPH avec une molécule donneuse de proton

1-4. Définition du stress oxydatif

Le déséquilibre entre la production de radicaux libres et de métabolites réactifs, que l'on appelle des oxydants ou des espèces réactives de l'oxygène (ROS), et leur élimination par des mécanismes de protection, dénommés antioxydants est appelé stress oxydatif (Reuter et al., 2010). La balance oxydative définit donc l'équilibre entre les espèces réactives de l'oxygène et les espèces antioxydantes. En médecine la balance oxydative est un concept pour maintenir l'organisme en bonne santé (Davies, 2000; Finkel and Holbrook, 2000). Son déséquilibre est sujet de nombreux problèmes comme les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives (Heim et al., 2002; Noguchi, 2002). Cette balance est dynamique et est maintenue dans son bon équilibre par des mécanismes enzymatiques ou par des apports extérieurs de molécules très actives (Noguchi, 2002).

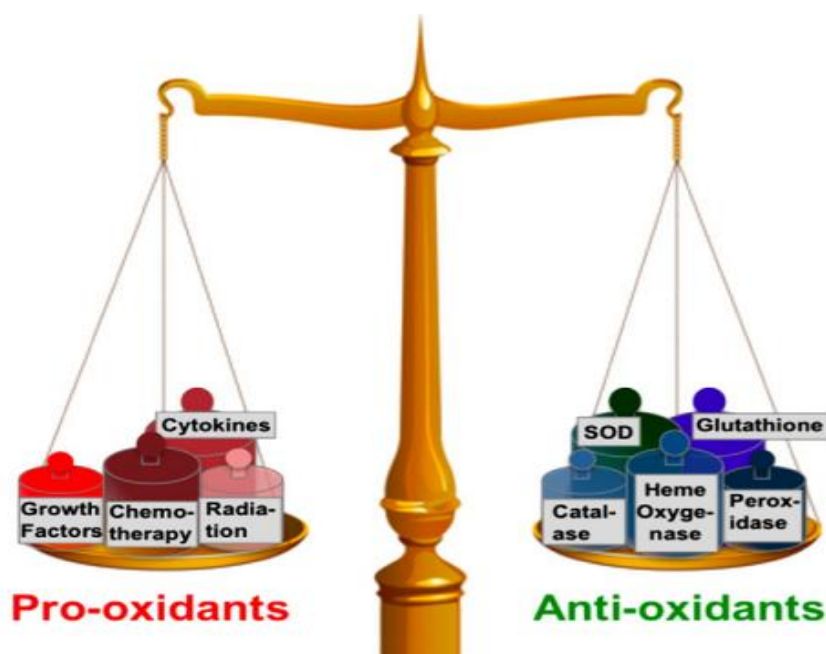


Figure 15: Modèle d'équilibre entre les pro-oxydants et les antioxydants

Dans les conditions normales, les antioxydants doivent être plus importants que les pro-oxydants, mais en conditions d'oxydation, les pro-oxydants emportent sur les antioxydants, qui peuvent conduire à de nombreuses maladies inflammatoires (Reuter et al., 2010) (Figure 15).

II. L'INFLAMMATION ET LES LIPOXYGENASES

II-1. L'inflammation

Les réactions inflammatoires sont induites par les infections microbiennes et virales; l'exposition aux allergènes, les radiations et les produits chimiques toxiques, les maladies auto-immunes et chroniques, l'obésité, la consommation d'alcool, l'utilisation de tabac, et une alimentation riche en calories (Aggarwal et al., 2009; Schetter et al., 2010). Deux stades de l'inflammation existent, l'inflammation aiguë et chronique. L'inflammation aiguë est une étape initiale de l'inflammation (de l'immunité innée), qui est médiée par l'activation du système immunitaire. Ce type d'inflammation persiste seulement pendant un court laps de temps et est généralement bénéfique pour l'hôte. Si l'inflammation dure pendant une longue période, la deuxième étape de l'inflammation ou inflammation chronique s'installe dans l'hôte et peut prédisposer à diverses maladies chroniques, y compris le cancer (Lin and Karin, 2007). Au cours de l'inflammation, les mastocytes et les leucocytes sont recrutés sur le site de la lésion, ce qui conduit à une "stimulation du métabolisme oxydatif", due à une assimilation accrue de l'oxygène et, par conséquent, une libération et une accumulation accrue d'espèces réactives de l'oxygène sur le site de dommage (Coussens and Werb, 2002; Hussain et al., 2003). D'autre part, les cellules inflammatoires produisent également des médiateurs solubles, tels que les métabolites de l'acide arachidonique ou linoléique, des cytokines et des chimiokines, qui agissent par le recrutement de cellules inflammatoires plus loin du site de la lésion et la production de plus d'espèces réactives. Ces médiateurs clés peuvent activer des cascades de signaux de transduction induisant ainsi les changements dans les facteurs de transcription, qui entraîne aussitôt la médiation des réactions de stress cellulaire.

II-2. Définition et notions sur les lipoxgénases

Les lipoxgénases sont des protéines enzymatiques qui catalysent l'oxydation des acides gras ou autres alcènes. Les lipoxgénases sont des dioxygénases à atome de fer non hémunique largement représentées dans le règne animal et végétal (Siedow, 1991). La régiospécificité concerne différents atomes de carbone à savoir les atomes de carbone en position : 5, 8, 12 et 15, aboutissant ainsi à différents isoformes de lipoxgénases. Du fait de cette régiospécificité des lipoxgénases lors de l'oxydation de l'acide arachidonique, on distingue quatre (4) isoformes. Ces isoformes sont la 5-lipoxgénase, la 8-lipoxgénase, la 12-lipoxgénase et la 15-lipoxgénase (Kawajiri et al., 2002). Ces quatre enzymes distinctes insèrent chacune, un

atome d'oxygène soit sur l'atome de carbone 5, 8, 12 ou 15 de l'acide arachidonique. La 12-lipoxygénase a été la première à être découverte dans les tissus humains. Elle fut découverte d'abord dans les plaquettes puis dans les leucocytes. Au niveau des plaquettes, la 12-lipoxygénase est présente dans le cytoplasme. Par contre la 15-lipoxygénase (15-LOX) est présente dans les leucocytes et les réticulocytes (Rouzer and Samuelsson, 1985). La 5-lipoxygénase, elle, se retrouve dans la plupart des tissus humains. Quant à la 8-lipoxygénase, elle est retrouvée principalement dans les kératinocytes de l'épiderme. Cependant peu d'études ont été réalisées sur cette dernière.

II-3. Les lipoxygénases et les maladies inflammatoires

Les métabolites dérivés de l'action des lipoxygénases sont impliqués dans divers processus de pathologies inflammatoires : l'asthme, l'arthrite rhumatoïde, la rhinite allergique, les glomérulonéphrites et les psoriasis (Lewis et al., 1990). En effet, la 5-lipoxygénase est une enzyme clé dans les troubles inflammatoires tels que l'asthme ou l'athérosclérose (Napagoda et al., 2013). Ces pathologies découlent de l'action des leucotriènes issus du métabolisme de la 5-lipoxygénase (Samuelsson et al., 1987). La 5-lipoxygénase convertit l'acide arachidonique en leucotriènes et est impliquée dans l'inflammation (Hohmann et al., 2013). L'inhibition de la 5-lipoxygénase atténue les réactions inflammatoires aiguës en aval (Awwad et al., 2013). L'inhibition de la voie 12-lipoxygénase empêche la migration des polynucléaires transépithéliaux induites par un agent pathogène *in vitro* et réduit considérablement l'inflammation pulmonaire (Bhowmick et al., 2013). L'influence de la 5-lipoxygénase dans la médiation du stress oxydatif, l'inflammation et les marqueurs protéolytiques chez les souris exposées à la fumée de cigarettes a été mise en évidence (Kennedy-Feitosa et al., 2014).

III. LE CANCER

III-1. Généralités sur le cancer

Par définition, Le cancer est une tumeur maligne qui est une maladie caractérisée par une prolifération cellulaire anormalement importante au sein d'un tissu normal de l'organisme conduisant à l'envahissement des tissus voisins par une croissance illimitée, l'invasion et la métastase des cellules (Chang et al., 2011; Takahashi et al., 2006). Le cancer est une cause majeure de décès dans le monde, particulièrement dans les pays à faibles revenus ou à revenus

intermédiaires. Représentant 7,6 millions de décès dans le monde en 2008, soit environ 13% de décès, le cancer est la deuxième cause de mortalité (OMS, 2008). Plus de 70% des décès par cancer surviennent dans les pays à faible revenu ou à revenu intermédiaire. D'après les projections, le nombre de décès par cancer devrait augmenter pour atteindre, selon les estimations, 13,1 millions en 2030 à l'échelle mondiale (OMS, 2008) (Figure 16).

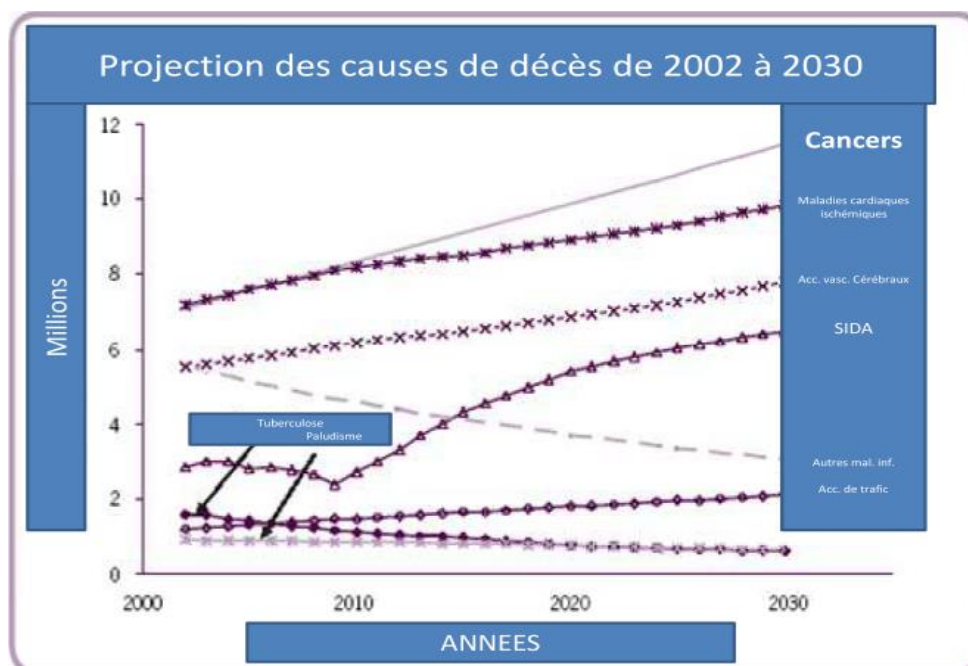


Figure 16: Projections des décès établies par l'OMS publiées dans Globocan

Les décès par maladies non transmissibles atteindront 70% des décès en 2030. Les pays à haut revenu, à l'instar de la France, peuvent et doivent accentuer leur soutien aux actions des équipes des pays en développement dans leur lutte pour réduire la morbidité et la mortalité dues aux cancers.

Aux Etats-Unis (Tableau 1) comme dans de nombreuses autres parties du monde, le cancer est un problème majeur de santé publique (Jemal et al., 2010).

Première Partie-Chapitre 2

Tableau 1: Données statistiques des dix principaux types de cancers estimés aux Etats Unis selon les cas et les décès par cancer par sexe en 2010 (Jemal et al., 2010).

Estimated New Cases*							
				Males	Females		
Prostate	217,730	28%			Breast	207,090	28%
Lung & bronchus	116,750	15%			Lung & bronchus	105,770	14%
Colon & rectum	72,090	9%			Colon & rectum	70,480	10%
Urinary bladder	52,760	7%			Uterine corpus	43,470	6%
Melanoma of the skin	38,870	5%			Thyroid	33,930	5%
Non-Hodgkin lymphoma	35,380	4%			Non-Hodgkin lymphoma	30,160	4%
Kidney & renal pelvis	35,370	4%			Melanoma of the skin	29,260	4%
Oral cavity & pharynx	25,420	3%			Kidney & renal pelvis	22,870	3%
Leukemia	24,690	3%			Ovary	21,880	3%
Pancreas	21,370	3%			Pancreas	21,770	3%
All Sites	789,620	100%			All Sites	739,940	100%

Estimated Deaths							
				Males	Females		
Lung & bronchus	86,220	29%			Lung & bronchus	71,080	26%
Prostate	32,050	11%			Breast	39,840	15%
Colon & rectum	26,580	9%			Colon & rectum	24,790	9%
Pancreas	18,770	6%			Pancreas	18,030	7%
Liver & intrahepatic bile duct	12,720	4%			Ovary	13,850	5%
Leukemia	12,660	4%			Non-Hodgkin lymphoma	9,500	4%
Esophagus	11,650	4%			Leukemia	9,180	3%
Non-Hodgkin lymphoma	10,710	4%			Uterine Corpus	7,950	3%
Urinary bladder	10,410	3%			Liver & intrahepatic bile duct	6,190	2%
Kidney & renal pelvis	8,210	3%			Brain & other nervous system	5,720	2%
All Sites	299,200	100%			All Sites	270,290	100%

Cependant, le cancer est maintenant considéré généralement comme une maladie évitable (Anand et al., 2008). En effet, seulement 5 à 10% des cancers sont de cause héréditaire, tandis que le reste soit 90 à 95% est lié au style de vie et à l'environnement (Anand et al., 2008). Les infections chroniques, l'obésité, l'alcool, le tabac, les radiations, les polluants environnementaux et le régime alimentaire riche en calories ont été reconnus comme des facteurs de risque les plus courants de cancer (Aggarwal et al., 2009). Et tous ces facteurs de risque sont liés au cancer à travers l'inflammation (Figure 17) (Aggarwal et al., 2009).

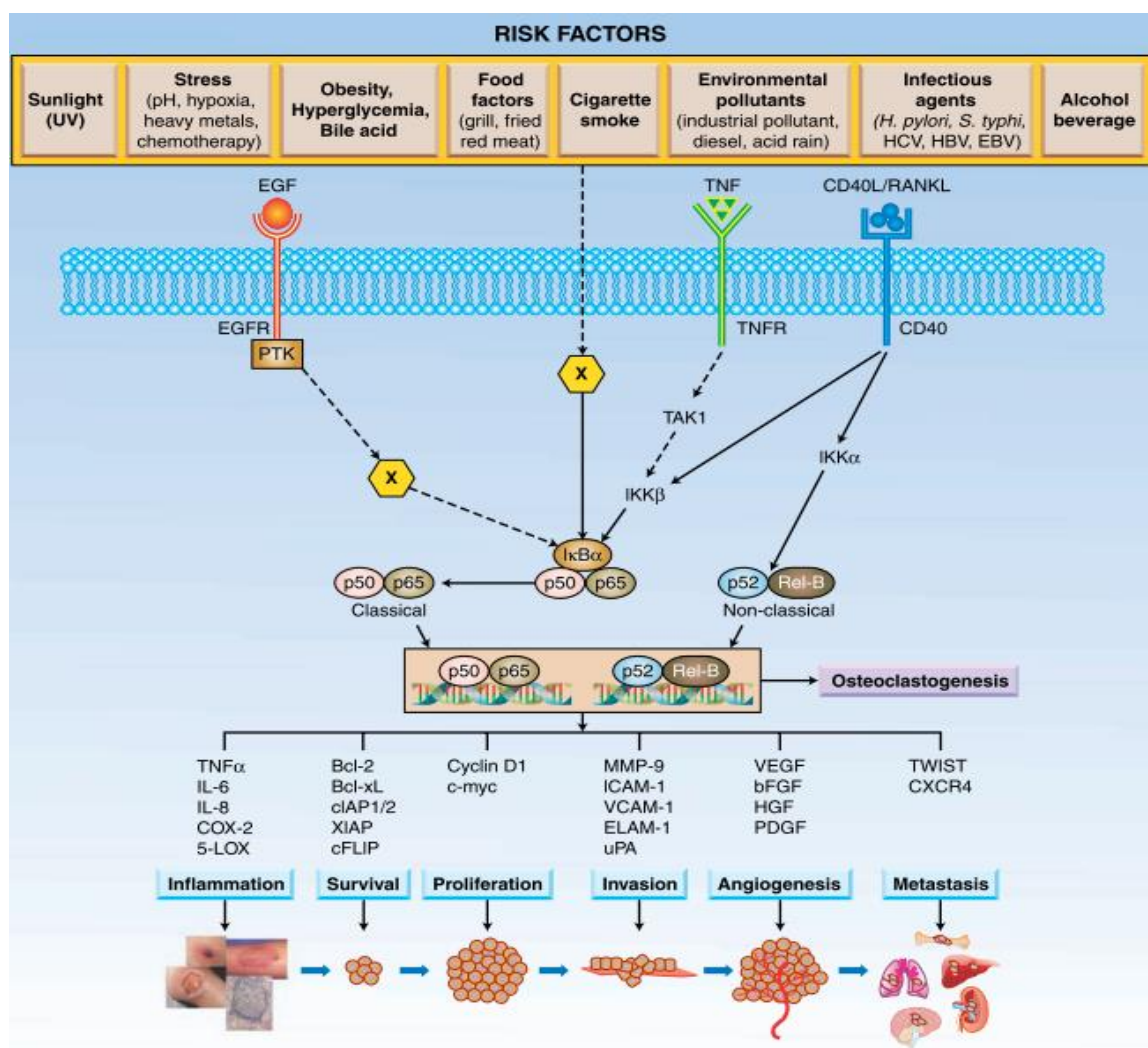


Figure 17: Association de la voie de signalisation de NF-KB avec la tumorigenèse

5-LOX, la 5-lipoxygénase ; le bFGF, le facteur de croissance basique des fibroblastes; cFLIP, la protéine inhibitrice analogue (FLICE) de la caspase-8 cellulaire; cIAP1, l'inhibiteur de la protéine de l'apoptose; COX-2, la cyclooxygénase-2; CXCR4, CXC chimiokine recepteur-4 ; EGFR, récepteur de l'EGF; ELAM-1, une cellule endothéliale des leucocytes molécule d'adhésion-1; *H. pylori*, *Helicobacter pylori* ; le VHB, le virus de l'hépatite B; HCV, virus de l'hépatite C; HGF, le facteur de croissance des hépatocytes; ICAM-1, adhérence intercellulaire molécule-1; IjBA, un inhibiteur de la nBA; IKK, InB kinase; MMP-9, la métalloprotéine matricielle-9; PDGF, les facteurs de croissance dérivés des plaquettes; PTK, la protéine tyrosine kinase; RANKL, l'activateur du récepteur du facteur nucléaire nB ligand; *S. typhi*, *Salmonella typhi*; TAK1, le TGF-activated kinase-1; TNFR, un récepteur TNF; uPA, l'activateur du plasminogène de type urokinase; VCAM-1, l'adhésion cellulaire vasculaire molécule-1; VEGF, facteur de croissance vasculaire endothéliale, XIAP, l' inhibiteur X lié à la protéine de l'apoptose (Aggarwal et al., 2009).

III-2. Le cancer de la prostate

III-2-1. Structure anatomique et fonction de la prostate

La prostate est une glande exocrine de l'appareil reproducteur mâle présente chez la plupart des mammifères. Chez l'homme, la prostate est une masse unique entourant l'urètre à la base de la vessie (Figure 18). Cette glande est composée d'un ensemble de lobules exocrines, ou acini, formés d'un épithélium glandulaire maintenue par un stroma fibro-musculaire. On distingue une couche de cellules épithéliales luminales sécrétrices, directement en contact avec la lumière des canaux qui reposent sur une couche de cellules épithéliales basales entrecoupées de cellules souches ou plus rarement de cellules neuroendocrines, elles-mêmes reposant sur une lame basale qui délimite l'acinus (Figure 9).

La principale fonction de la prostate est la production et la sécrétion par les cellules épithéliales du fluide prostatique représentant 25-30% du sperme. Ce fluide est composé de différentes protéines, telles que la PSA (Prostate Specific Antigen). Les taux les plus élevés de PSA sont retrouvés dans le liquide séminal, cependant une certaine quantité de PSA s'échappe des canaux de la prostate et rejoint la circulation sanguine.

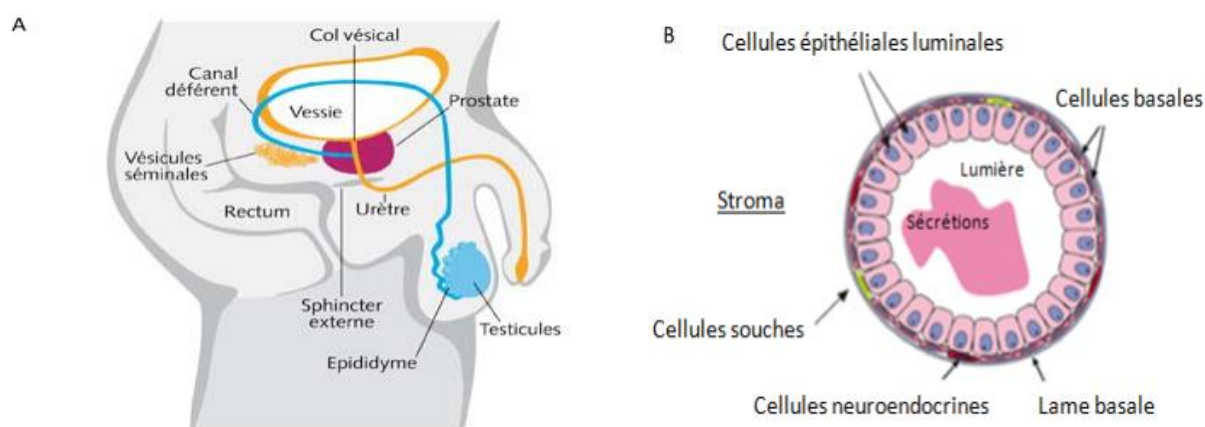


Figure 18: Localisation (A) et anatomie de la prostate humaine (B)

A. Schéma d'une coupe sagittale de l'appareil génital masculin (<http://lecancerdelaprostate.ch/la-prostate/>). La prostate est localisée sous la vessie, accolée à l'urètre et à la base des vésicules séminales. B. Schéma d'un acinus de la prostate. Au centre du canal, la lumière contient les sécrétions produites par les cellules épithéliales luminales. Les cellules basales forment une monocouche continue dans laquelle sont intercalées quelques cellules souches et neuroendocrines. Un tissu de soutien mésenchymateux (stroma) entoure les acini. Il contient des cellules fibroblastiques et musculaires (Abate-Shen and Shen, 2000) suivie de modifications.

III-2-2. Physiopathologie et diagnostique du cancer de la prostate

Chez l'homme, il existe différentes pathologies de la prostate : la prostatite qui est une inflammation de la prostate, l'hyperplasie bénigne caractérisée par une augmentation du volume de la prostate et le cancer. Pour ce qui est du cancer de la prostate, c'est un adénocarcinome. De nombreux arguments suggèrent que les néoplasies intra-épithéliales ou PIN seraient des précurseurs des adénocarcinomes (Joniau et al., 2005) (Figure 19). La mise en place des PIN se traduit par une invasion de la lumière des acini par les cellules épithéliales (Abate-Shen and Shen, 2000; Bostwick et al., 2004). Ces néoplasies peuvent ensuite évoluer en carcinomes *in situ*, caractérisés par la perte de la lame basale et l'invasion du stroma par les cellules épithéliales malignes. Le stade ultime des tumeurs prostatiques se traduit par la formation de métastases. Elles sont associées à une perte d'adhérence des cellules entre elles et à la matrice extracellulaire, entraînant un passage dans le système lymphatique ou sanguin, puis à une colonisation des tissus périphériques tels que les vésicules séminales, la vessie mais aussi les ganglions lymphatiques, les os ou encore le cerveau (Salvati et al., 2005; Tantivejkul et al., 2004; Zeng et al., 2005).

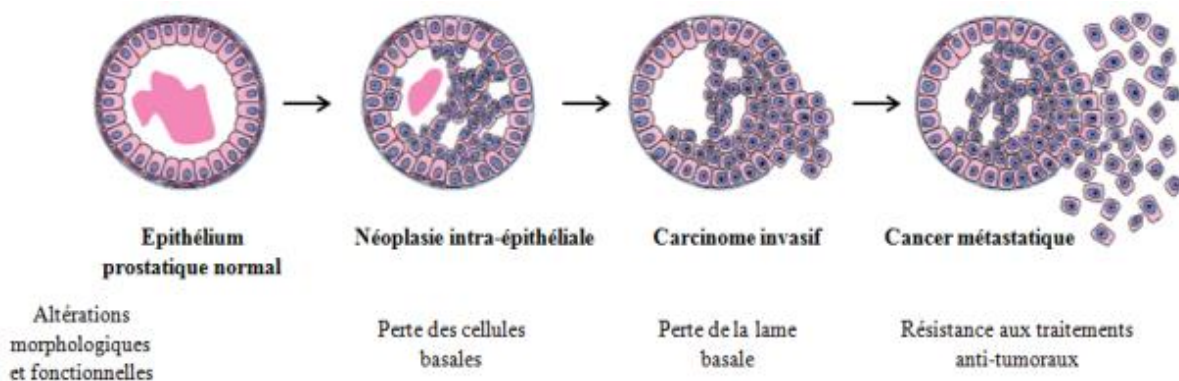


Figure 19: Représentation schématique de la progression du cancer de la prostate

Après un stade prémalin, les cellules luminales de l'épithélium prostatique prolifèrent de façon anarchique dans la lumière, entraînant un néoplasie intra-épithélial prostatique (PIN) caractérisée par la perte des cellules basales. Les cellules cancéreuses traversent la lame basale pour envahir le stroma fibromusculaire (carcinome invasif) puis les organes voisins (vésicules séminales, vessie, rectum). Quelques cellules tumorales vont alors passer dans la circulation sanguine ou lymphatique pour coloniser d'autres organes et ainsi former des métastases, notamment au niveau des os, du cerveau et des ganglions lymphatiques (Abate-Shen and Shen, 2000) suivie de modifications.

Le cancer de la prostate peut longtemps rester exempt de symptômes. Des tests simples permettent de le dépister. L'examen le plus simple est le toucher rectal ; il permet une première impression en palpant les contours de la prostate. Une certaine quantité de PSA s'échappe des canaux de la prostate et rejoint la circulation sanguine, permettant son dosage dans le sérum, et le dépistage de dérégulations de la fonction prostatique telles que le cancer. Si l'examen de la prostate par toucher rectal est suspect ou si la valeur obtenue suite au dosage du taux de PSA est élevée, on procède à une biopsie de la prostate, autrement dit on prélève des échantillons de tissus en vue de les examiner. Cet examen histologique permet d'établir un diagnostic définitif.

III-2-3. Epidémiologie et facteurs de risque du cancer de la prostate

Le cancer de la prostate constitue un important problème de santé chez l'homme à travers le monde (Basu and Tindall, 2010). Le cancer de la prostate est le plus fréquemment diagnostiqué chez les hommes dans les pays occidentaux (Isaacs, 1994). Il constitue une pathologie majeure des pays industrialisés (Califice et al., 2004). En France, le cancer de la prostate est le deuxième cancer le plus fréquent chez l'homme et représente la quatrième cause de décès par cancer chez l'homme (Guérin and Hill, 2010). La prévalence du cancer de la prostate est la plus haute parmi les cancers chez l'homme de plus de 50 ans et son incidence augmente avec l'âge (Bennani, 2007).

Plusieurs facteurs de risques à la fois hormonaux, génétiques, liés à l'âge et/ou à l'environnement, le régime alimentaire sont associés au cancer de la prostate. L'âge est le facteur de risque le plus important 95% des cancers diagnostiqués surviennent entre 57 et 88 ans, avec une moyenne d'âge à 72 ans (Sakr et al., 1993). L'appartenance raciale est également un facteur important. En effet, l'incidence la plus élevée du cancer de la prostate est retrouvée chez les Afro-Américains. Ces derniers ont un risque plus fort que les Américains d'origine européenne présentant pourtant un mode de vie et un régime alimentaire similaires (Bostwick et al., 2004). Des études récentes ont prouvé l'implication de facteurs environnementaux dans l'initiation et la progression du cancer de la prostate. L'exposition aux insecticides organochlorés ayant des propriétés oestrogéniques augmente significativement le risque de cancer de la prostate (Xu et al., 2010).

III-3. Le glioblastome

III-3-1. Anatomie du cerveau et définition du glioblastome

Le système nerveux est généralement divisé en système nerveux central (SNC) et en système nerveux périphérique. Le système nerveux central est constitué du cerveau, des nerfs crâniens et de la moelle épinière (Waxman, 1999). Le cerveau se compose principalement de deux types de tissus: matière grise (GM) et matière blanche (WM). La matière grise est composée de cellules neuronales et gliales qui contrôlent l'activité du cerveau, tandis que le cortex est une couche de substance grise qui recouvre le cerveau. Les fibres de la substance blanche sont des axones myélinisés qui relient le cortex cérébral avec d'autres régions du cerveau. Le corps calleux est une bande épaisse de fibres de matière blanche qui relie les hémisphères gauche et droit du cerveau (Waxman, 1999). Le liquide céphalo-rachidien (LCR) également présent dans le cerveau et dans la moelle épinière entoure le cerveau et la moelle épinière. Le LCR est constitué de glucose, de sels, d'enzymes et de globules blancs. Ce fluide circule à travers les canaux (ventricules) autour de la moelle épinière et le cerveau afin de les protéger contre les blessures (Noback et al., 2005). Entre le crâne et le cerveau il y a un autre tissu, que l'on appelle les méninges. Les méninges sont constituées de trois couches qui protègent le cerveau et la moelle épinière. Anatomiquement le cerveau est composé de l'encéphale, du cervelet et du tronc cérébral (Figure 20). L'encéphale, qui forme la majeure partie du cerveau, est divisé en deux grandes parties par la fissure longitudinale: la droite et gauche hémisphères cérébraux. Chaque hémisphère est divisé en quatre lobes ou zones: le lobe frontal à l'avant du cerveau, le lobe pariétal derrière le lobe frontal, le lobe temporal de chaque côté du cerveau et le lobe occipital à l'arrière du cerveau (Figure 20) (Waxman, 1999).

Le glioblastome est une tumeur du cerveau qui se développe à partir de cellules gliales. Le glioblastome ou glioblastome multiforme (GBM) (Figure 21) est également connu sous le nom d'astrocytome de grade IV selon la classification de l'OMS. En effet, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) classe les astrocytomes sur la base des caractéristiques histologiques en quatre catégories pronostiques: grade I (pilocytaire astrocytome), grade II (astrocytome diffus), grade III (astrocytome anaplasique), et grade IV (glioblastome) (Louis et al., 2007). Les tumeurs de grade III et IV sont considérées comme les gliomes malins (Wen and Kesari, 2008). Environ la moitié de toutes les tumeurs cérébrales primaires se forment à partir des cellules gliales. Les gliomes ont tendance à croître dans les hémisphères cérébraux, mais peuvent aussi survenir dans le tronc cérébral, les nerfs optiques, la moelle épinière et le cervelet.

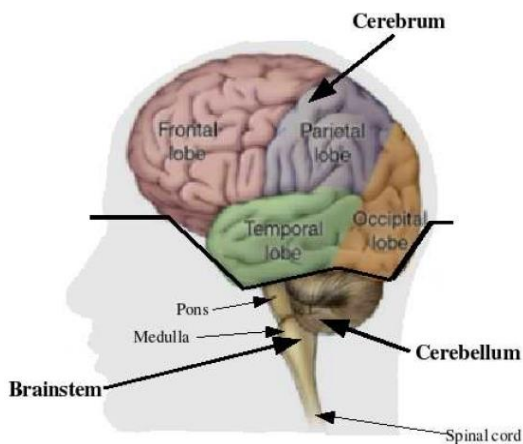


Figure 21: Anatomie du cerveau
(Marieb, 2000)

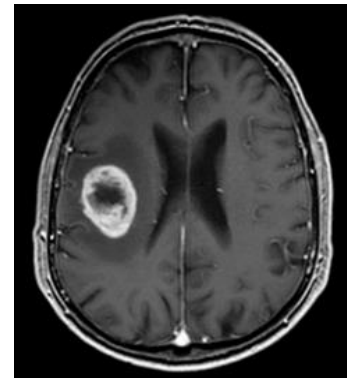


Figure 20: Glioblastome multiforme du lobe frontal droit
Volume de la tumeur d'environ 14 cm³ mesurée sur un patient à l'image CE-T1w (Fahrendorf et al., 2013)

III-3-2. Épidémiologie et facteurs de risque du glioblastome

Chez l'adulte, le glioblastome est la tumeur cérébrale la plus fréquente avec un temps de survie moyen de moins d'un an après le diagnostic (Iacob and Dinca, 2009). L'incidence annuelle des gliomes malins est d'environ 5 cas pour 100.000 habitants (Louis et al., 2007). Chaque année, plus de 14.000 nouveaux cas sont diagnostiqués aux États-Unis (Louis et al., 2007). L'incidence de ces tumeurs a légèrement augmenté au cours des deux dernières décennies, en particulier chez les personnes âgées (Fisher et al., 2007). Les gliomes malins sont 40% plus fréquents chez les hommes que chez les femmes et deux fois plus fréquents chez les Blancs que chez les Noirs (CBTRUS, 2008). Le glioblastome survient à tout âge mais dans 70% des cas entre 45 et 70 ans. Le facteur de risque établi des glioblastomes est l'exposition aux rayonnements ionisants (Fisher et al., 2007). Ils sont également plus ou moins associés au traumatisme crânien, à la consommation des aliments contenant des composés N-nitrosés et à l'exposition aux champs électromagnétiques (Fisher et al., 2007). Bien qu'il y ait eu quelques inquiétudes concernant un risque accru de gliomes en association avec l'utilisation du téléphones cellulaires (Hardell et al., 2007), de plus importantes études ne l'ont pas démontré (Fisher et al., 2007; Inskip et al., 2001; Lahkola et al., 2007).

III-3-3. Physiopathologie et diagnostic du glioblastome

Le glioblastome multiforme (GBM) est la forme la plus agressive des tumeurs cérébrales primaires avec un faible temps moyen de survie de 14,6 mois en utilisant la radiothérapie et le témozolomide (Stupp et al., 2005). Caractérisé par une prolifération agressive incontrôlée de cellules et une croissance infiltrante dans le cerveau, il est en générale résistant à un traitement conventionnel (Maletínská et al., 2000). L'évolution est souvent rapide (en 2-3 mois) sauf si le glioblastome provient de la transformation maligne d'un astrocytome de bas grade (glioblastome secondaire). Récemment, il y a eu d'importants progrès dans la compréhension de la pathogenèse moléculaire des gliomes malins, et en particulier l'importance des cellules souches cancéreuses (Furnari et al., 2007; Lee and Gutmann, 2007). La transformation maligne dans les gliomes résulte de l'accumulation séquentielle des aberrations génétiques et la dérégulation des voies de signalisation du facteur de croissance (Figure 22) (Furnari et al., 2007; Ohgaki and Kleihues, 2007).

Le diagnostic du glioblastome est généralement suggéré par imagerie par résonance magnétique (IRM) ou tomographie assistée par ordinateur. Ces études d'imagerie montrent généralement une masse hétérogène renforcée et entourée d'un œdème. Les glioblastomes ont souvent des zones centrales de nécrose et un plus vaste œdème péri-tumoral que celui associé aux gliomes anaplasiques (Cha, 2006).

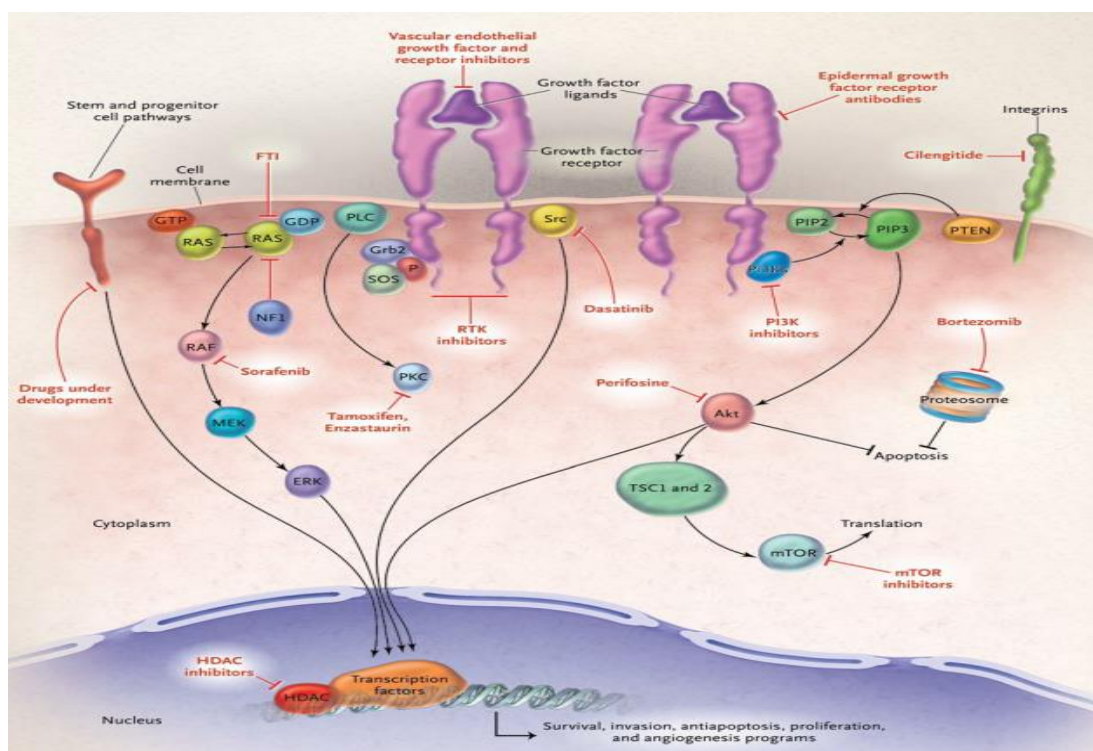


Figure 22: Principales voies de signalisation des gliomes malins et les agents ciblés correspondants dans le développement des glioblastomes

Les inhibiteurs RTK qui ciblent le facteur de croissance épidermique (EGF) notamment gefitinib, erlotinib, lapatinib, BIBW2992 et vandétanib; ceux qui ciblent les récepteurs des facteurs de croissance dérivés des plaquettes (PDGF) comprennent l'imatinib, le dasatinib, et le tandutinib; ceux qui ciblent le facteur de croissance endothéliale vasculaire (VEGF) comprennent le cediranib, pazopanib, sorafenib, sunitinib, vatalanib, vandétanib et XL184 ; Les anticorps du récepteur EGF notamment le cetuximab et panitumumab. Les inhibiteurs de farnésyl transférase notamment le lonafarnib et tipifarnib; les inhibiteurs de HDAC notamment la depsipetptide, vorinostat et LBH589. Les inhibiteurs de PI3K notamment BEZ235 et XL765; les inhibiteurs de mTOR notamment sirolimus, temsirolimus, évérolimus et deforolimus, et les inhibiteurs du récepteur VEGF notamment bevacizumab, aflibercept (VEGF-trap) et CT-322. Les ligands du facteur de croissance notamment EGF, PDGF, IGF, TGF, HGF/SF, VEGF et FGF. Akt désigne la protéine kinase B ; CDK, kinase cycline-dépendante ; ERK, extracellulaire signal-régulée kinase ; FGF, facteur de croissance fibroblastique ; FTI, inhibiteurs de farnésyl transférase ; GDP, guanine diphosphate ; Grb2, facteur de croissance lié au récepteur protéine 2, GTP guanine triphosphate ; HDAC, histone déacétylase ; HGF/SF, facteur de croissance des hépatocytes/facteur de dispersion ; IGF, facteur de croissance insulino-mimétique, MEK protéine kinase activée par mitogène ; mTOR, cible mammalienne de la rapamycine ; NF1 neurofibromine 1 ; PIP2 phosphatidylinositol (4,5) biphosphate ; PIP3, phosphatidylinositol 3,4,5-triphosphate ; PI3K, phosphatidylinositol 3-kinase ; PKC, protéine kinase C ; PLC, phospholipase C ; PTEN, phosphatase et tensine homologue, RAF v-raf 1, leucémie murine virale homologue oncogène 1 ; RAS sarcome virale oncogène homologue de rat ; RTK, récepteur de l'inhibiteur de la tyrosine kinase ; SHH, sonic hedgehog ; SOS fils de sevenless ; Src, sarcome (Schmidt-Ruppin A-2) homologue oncogène viral ; TGF, famille transformant des facteurs de croissance, et TSC1 et 2 tubéreuse sclérose gène 1 et 2 (Chi and Wen, 2007; Furnari et al., 2007; Sathornsumetee et al., 2007a, 2007b).

IV. RELATION ENTRE LA PRODUCTION DES RADICAUX LIBRES A L'ORIGINE DU STRESS OXYDATIF, L'INFLAMMATION ET LE CANCER

Le stress oxydatif résultant du déséquilibre créé par la production excessive des espèces réactives de l'oxygène (ROS) est considéré comme étant impliqué de façon critique dans le processus normal de vieillissement, mais aussi dans le développement et la progression de diverses pathologies humaines dont les cancers (Becker et al., 2013). En effet, l'initiation et la

progression du cancer ont été associées au stress oxydatif en augmentant les mutations de l'ADN ou en induisant des dommages de l'ADN, l'instabilité du génome et la prolifération cellulaire (Visconti and Grieco, 2009). Les cellules normales sont hypersensibles aux espèces réactives de l'oxygène (ROS) si elles ne sont pas suffisamment protégées par des mécanismes antioxydants et pouvant conduire à la formation de cancer (Figure 23). Les espèces réactives de l'oxygène sont impliquées dans les différentes phases de la tumorigenèse. Par conséquent, cibler des voies redox-sensibles et des facteurs de transcription, est très prometteur pour la prévention et le traitement du cancer. De nombreux agents ont été identifiés et peuvent interférer avec les voies de signalisation cellulaire redox (Fang et al., 2009; Surh et al., 2005; Virgili and Marino, 2008).

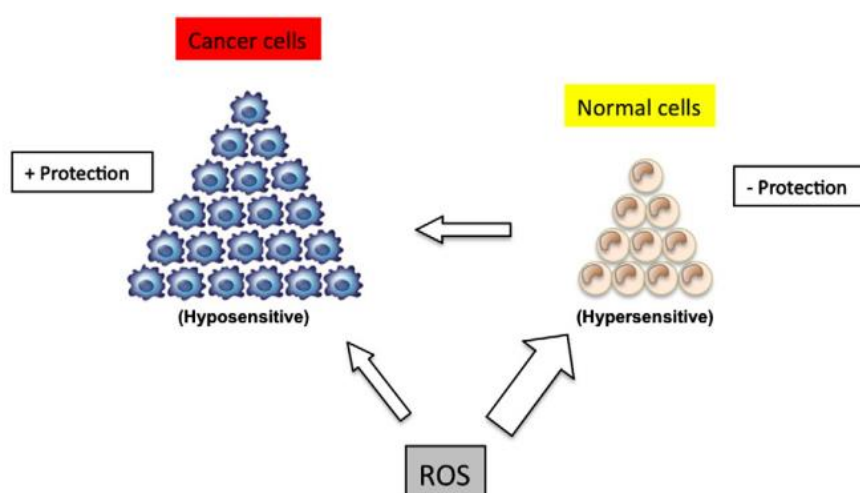


Figure 23: Modèle de la sensibilité des cellules normales contre les cellules cancéreuses à des espèces réactives de l'oxygène

Les cellules normales sont hypersensibles aux espèces réactives de l'oxygène (ROS) si elles ne sont pas suffisamment protégées par des mécanismes antioxydants pouvant conduire à la formation de cancer. Les cellules cancéreuses, en revanche, ont des mécanismes antioxydants objets d'une régulation (glutathion, SOD, catalase, et autres) qui les protègent contre les espèces réactives de l'oxygène, comme on peut l'observer dans le cas de la radiorésistance par exemple (Reuter et al., 2010).

Les premières expériences sur le rôle des espèces réactives de l'oxygène dans l'initiation de la tumeur ont supposé que le stress oxydatif joue le rôle d'agent endommageant l'ADN, ce qui augmente efficacement le taux de mutation dans les cellules et par conséquent du pouvoir de transformation oncogénique (Jackson and Loeb, 2001). Par ailleurs, des études plus récentes ont montré qu'en plus d'induire une instabilité génomique, les espèces réactives de l'oxygène

peuvent spécifiquement activer certaines voies de signalisation et de contribuer ainsi au développement de la tumeur à travers la régulation de la prolifération cellulaire, l'angiogenèse et la métastase (Storz, 2005).

Le stress nitrosant a été montré pour jouer un rôle critique dans la carcinogenèse associée à une inflammation par l'activation de AP-1 (Figure 24), un facteur représentatif redox sensible à la transcription (Kröncke, 2003), qui intervient dans la transformation et la prolifération cellulaire (Cerutti and Trump, 1991; Shaulian and Karin, 2002). Les espèces réactives de l'oxygène peuvent aussi agir comme messagers secondaires (Palmer and Paulson, 1997) en modifiant dans la cellule la régulation redox du glutathion (GSH) qui est un agent antioxydant important. Il en résulte une activation de la thiorédoxine (TRX) qui active le facteur de transcription qu'est le NF- κ B normalement dans un état inactif dans le cytoplasme. Une fois activé, le NF- κ B (Figure 15) migre dans le noyau de la cellule où il peut activer des gènes cibles. Il participe ainsi à la synthèse de nombreux médiateurs comme les protéines d'adhésion impliquées dans le processus du développement du cancer. Le lien entre l'inflammation et de la tumorigenèse est bien établi (Figure 8) et a reçu dans la dernière décennie beaucoup de preuves à l'appui de données génétiques, pharmacologiques et épidémiologiques (Terzić et al., 2010)

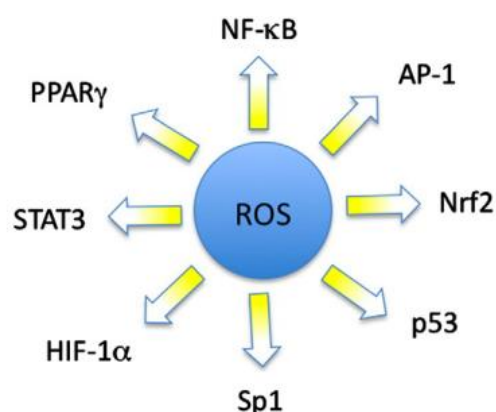


Figure 24: Représentation schématique des différents facteurs de transcription qui sont modulés par les espèces réactives de l'oxygène (Reuter et al., 2010)

Ces dernières années, des études considérables ont démontré que les espèces réactives de l'oxygène sont impliquées dans la liaison entre l'inflammation chronique et le cancer (Ohshima and Bartsch, 1994; Weitzman and Gordon, 1990). En effet, une caractéristique importante des promoteurs de tumeurs est leur capacité à recruter des cellules inflammatoires et à les stimuler pour générer des espèces réactives de l'oxygène (Frenkel, 1992; Shacter et al., 1988). Plus l'inflammation persiste, plus les risques de cancer sont élevés (Reuter et al., 2010a). Comprendre le lien entre l'inflammation chronique et le cancer donne un aperçu des

mécanismes moléculaires impliqués. En particulier, nous soulignons l'interaction entre l'oxyde nitrique et p53 (Figure 24) comme une voie essentielle dans la médiation inflammatoire de la cancérogenèse (Hussain et al., 2003). Par ailleurs, les cytokines sécrétées par les cellules tumorales et les cellules inflammatoires peuvent soit favoriser le développement de la tumeur et la survie des cellules tumorales ou exercer des effets anti-tumoraux (Figure 25). L'inflammation chronique se développe par l'action de différents médiateurs de l'inflammation, comprenant $\text{TNF-}\alpha$, IL-6 et IL-17, ce qui conduit à l'élimination de l'immunité antitumorale et l'accélération de la progression tumorale (Figure 25) (Lin and Karin, 2007). Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) très réactives compte tenu de l'existence d'au moins un électron libre sur leur orbitale électronique externe (Govindarajan et al., 2005), contribuent au vieillissement cellulaire (Govindarajan et al., 2005; Sastre et al., 2000) et aux cancers (Kawanishi et al., 2001; Takabe et al., 2001).

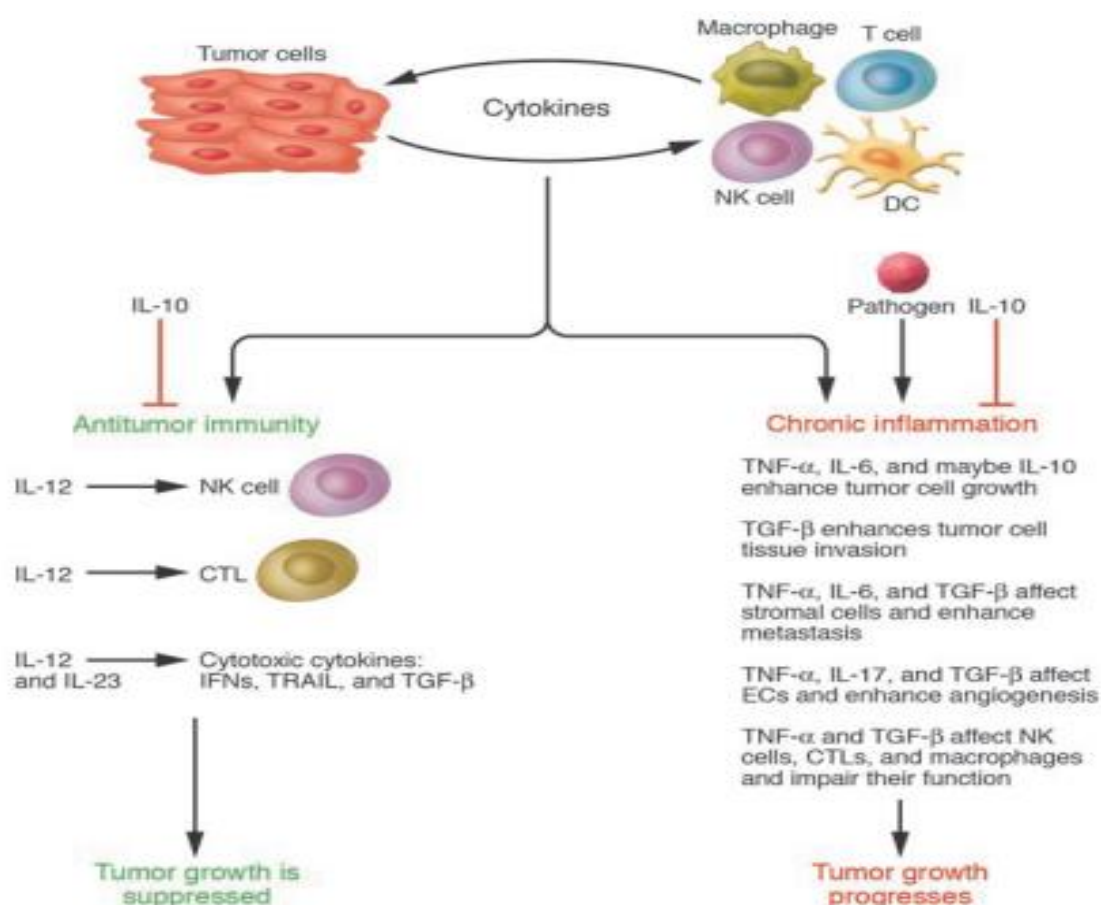


Figure 25: Diagramme montrant les deux issues des interactions entre l'infiltration des cellules tumorales et des cellules inflammatoires et/ou immunitaires dans le microenvironnement tumoral

Les cytokines sécrétées par les cellules tumorales et les cellules immunitaires/inflammatoires peuvent soit favoriser le développement de la tumeur et la survie des cellules tumorales soit exercer des effets anti-tumoraux. L'inflammation chronique se développe par l'action de différents médiateurs de l'inflammation, comprenant $\text{TNF-}\alpha$, IL-6 et IL-17, ce qui conduit à l'élimination de l'immunité antitumorale et l'accélération de la progression tumorale. Cependant, TRAIL à travers l'induction directe de l'apoptose des cellules tumorales, IL-10, à travers des effets anti-inflammatoires et IL-12, à travers l'activation de cellules CTLs et NK et l'expression de médiateurs cytotoxiques, peut conduire à la suppression tumorale. Les multiples actions de $\text{TGF-}\beta$ (cytotoxique dans les cellules du cancer du côlon, et ayant à la fois des effets positifs et négatifs sur le microenvironnement tumoral) et de IL-23 expliquent leur double rôle dans le développement tumorale (Lin and Karin, 2007).

CHAPITRE 3 : LE CYCLE CELLULAIRE

I. GENERALITES SUR LE CYCLE CELLULAIRE

I-1. Définition des différentes phases du cycle cellulaire

Le cycle cellulaire est l'ensemble des étapes qui constituent et délimitent la vie d'une cellule.

Ce cycle de prolifération cellulaire est séparé en quatre phases :

- La phase G1 (G pour "gap", qui signifie intervalle) pendant laquelle la cellule grandit du fait de synthèses protéiques et se prépare à la duplication de son stock d'ADN ;
- La phase S (S pour synthèse) pendant laquelle la cellule duplique son ADN et présente donc un contenu en ADN aneuploïde, c'est-à-dire compris entre $2N$ et $4N$;
- La phase G2 qui est une autre phase de croissance durant laquelle la cellule se prépare à la Mitose ;
- La phase M (M pour mitose) qui représente la division cellulaire proprement dite (Figure 26).

On sépare communément le cycle cellulaire en deux périodes : l'interphase et la mitose. L'interphase correspond aux trois temps G1, S et G2, c'est-à-dire à l'intervalle de temps séparant deux mitoses successives. Il existe, toutefois, deux exceptions à ce cycle classique. La première est constituée par les cellules qui à un moment de leur existence, fréquemment à un stade différencié, arrêtent de se diviser. Ces cellules quittent soit définitivement le cycle cellulaire, soit seulement de façon temporaire et sont alors dans une phase de quiescence appelée G0. La seconde exception est représentée par des cellules qui ne présentent pas de phase G1, chaque phase M étant immédiatement suivie par une phase S (Burns and Tannock, 1970; Hartwell and Weinert, 1989; Tomura et al., 2013).

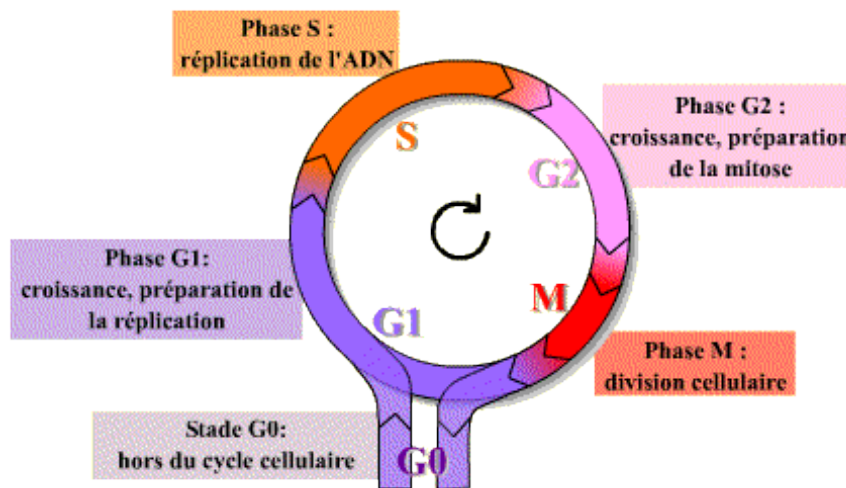


Figure 26: Les quatre phases du cycle cellulaire et le stade G0

(<http://www.snv.jussieu.fr/vie/dossiersBM/cyclecellVIE/images/CDK-cycle1.swf>)

I-2. Chronologie du cycle cellulaire

La durée du cycle et de ses différentes phases apparaît éminemment variable selon les types cellulaires, et selon les tissus, qu'ils soient normaux ou néoplasiques. Cependant, de façon générale, les durées relatives des différentes phases les unes par rapport aux autres apparaissent relativement constantes, quelle que soit la durée totale du cycle ; et l'on a pu définir des intervalles de temps au sein desquels les durées des différentes phases du cycle évoluaient. Ainsi la phase S peut être estimée comme durant entre 6 et 12 heures, la phase G2 entre 1 et 6 heures et la phase M durerait généralement entre 1 et 2 heures (Hall and Levison, 1990). Pour la phase G1, la définition d'un tel intervalle est très difficile, puisque cette phase est celle qui est susceptible de présenter les plus fortes variations de durée à la fois entre types cellulaires différents mais également au sein d'un même type cellulaire en fonction des conditions de stimulation extrinsèques et intrinsèques. Elle est toutefois considérée comme la phase la plus longue du cycle cellulaire.

I-3. Déroulement et mécanismes des différentes phases du cycle cellulaire

I-3-1. Les phases de croissance G1 et G2

La phase G1 qui correspond à l'intervalle séparant, pour une population cellulaire en cycle continu, la fin de la mitose et le début de la synthèse d'ADN, et la phase G2 correspondant à l'intervalle entre la fin de la synthèse de l'ADN et le début de la mitose, appartiennent à l'interphase du cycle cellulaire. Elles représentent un temps supplémentaire réservé à la croissance cellulaire, permettant à la cellule d'augmenter son volume cytoplasmique avant de

se diviser (Alberts et al., 1995). Pendant la phase G1, la cellule contrôle son environnement et sa propre taille puis, le moment venu, elle s'engage dans le cycle cellulaire en s'orientant vers la phase de réplication de son ADN. Bien que la durée de toutes les phases du cycle soit variable, la plus grande variation, dans la majorité des types de cellules communément étudiés, concerne la phase G1. C'est durant cette phase, en particulier par l'intermédiaire de l'action des facteurs de croissance, que la cellule se détermine définitivement vers la réalisation ou non de la division cellulaire. En effet après franchissement d'un point situé en fin de G1, la cellule parcourra forcément les phases suivantes du cycle où, en cas de dommages irréparables de l'ADN, préexistant ou survenant lors de sa réplication, mourra et sera éliminée. La phase G2 fournit un espace de sécurité, permettant à la cellule de s'assurer que la réplication de son ADN est bien complète avant de commencer la mitose. Durant cette phase, les mécanismes de surveillance immunitaire et les systèmes de réparation de l'ADN sont potentiellement mis en jeu pour détecter et corriger toute anomalie survenue durant la phase S de duplication du génome.

I-3-2. La réplication de l'ADN : la phase S du cycle cellulaire

Pour que la division cellulaire puisse donner naissance à deux cellules filles contenant les mêmes informations génétiques, il est nécessaire qu'avant la division le contenu d'ADN de la cellule soit dupliqué. Ceci est réalisé durant la phase S du cycle par la réplication de l'ADN. La réplication fait intervenir de nombreux systèmes enzymatiques, agissant de façon séquentielle et coordonnée.

La principale famille d'enzymes intervenant dans cet événement correspond à celle des ADN polymérases qui assurent la duplication de la double hélice (Zhang et al., 2013). Au cours de la réplication de l'ADN, chacune des chaînes de la double hélice d'ADN sert de matrice pour la fabrication d'une chaîne entièrement nouvelle. De ce fait, chaque gène est présent non plus en deux mais quatre copies, et chacune des deux cellules filles d'une cellule qui se divise hérite d'une nouvelle double hélice d'ADN contenant une ancienne et une nouvelle chaîne (Alberts et al., 1995). Cependant pour que les ADN polymérases puissent catalyser la polymérisation des nucléotides triphosphates de la chaîne complémentaire à partir de la chaîne matrice, la double hélice doit être, successivement, déroulée, ouverte, puis les deux brins écartés, afin d'être accessible aux systèmes enzymatiques assurant sa réplication. Deux types de protéines de réplication contribuent à ce processus : les ADN hélicases d'une part et des protéines de déstabilisation de la double hélice et de liaison à l'ADN simple brin d'autre

part, qui facilitent l'ouverture de la chaîne double brin et stabilisent l'ADN monocaténaire. Ensuite, la synthèse d'un brin complémentaire, qui débute en plusieurs sites d'origine, appelés fourches de réplication. La plupart des molécules d'ADN polymérases synthétisent d'elles-mêmes des fragments de chaînes nucléotidiques de façon discontinue avant de se séparer de la chaîne matrice d'ADN. Ces fragments seront ensuite secondairement soudés entre eux par une autre famille d'enzymes, les ADN ligases. Enfin, du fait de la disposition topographique naturelle enroulée de la double hélice, l'ouverture et le déroulement de l'ADN lors de la progression de la fourche de réplication le long des chromosomes provoquent d'importantes forces de tension dues à l'enroulement de l'hélice d'ADN parentale en avant de la fourche. Pour lutter contre ces problèmes de tension d'enroulement excessive, des enzymes spécifiques, les ADN topoisomérases catalysent des réactions de coupure réversible, mono- ou bicaténaire, permettant aux deux parties de l'hélice d'ADN, de part et d'autre de la coupure, de pivoter librement l'une par rapport à l'autre, dans la direction qui réduit la tension. Cette coupure transitoire est suivie d'une soudure avec reconstitution spontanée. La duplication de l'ADN met ainsi en jeu une véritable machinerie de réplication multi-enzymatique.

I-3-3. Le déroulement de la mitose : phase M du cycle cellulaire

Les modifications morphologiques accompagnant le déroulement de la mitose sont aujourd'hui bien connues. Même s'il existe des variations selon le type cellulaire et selon l'organisme étudié, le schéma général de la division cellulaire mitotique comprend cinq étapes: la prophase, la prométaphase, la métaphase, l'anaphase et la télophase (Figure 27). De façon très schématique et simplifiée, la prophase est marquée par la formation du fuseau mitotique et la condensation de la chromatine en chromosomes. Au cours de cette phase, la chromatine qui est sous forme diffuse pendant l'interphase se condense progressivement pour donner naissance aux chromosomes. Chaque chromosome est formé de deux brins d'ADN identiques issus de la réplication de la phase S, les chromatides, unis en un point spécifique appelé centromère. Le fuseau mitotique est une structure du cytosquelette composée de microtubules et de protéines associées, au sein de laquelle on distingue deux types de fibres : des fibres polaires qui s'étendent d'un pôle fusorial à l'autre et des fibres des kinétochores qui sont attachées aux centromères et s'étendent à un des deux pôles du fuseau.

La prométaphase débute par la disparition brutale de l'enveloppe nucléaire et est ensuite marquée par le développement des kinétochores, systèmes fibrillaires permettant l'ancrage des chromosomes au fuseau mitotique, au niveau des centromères. Deux kinétochores,

orientés en directions opposées, se forment par chromosome.

A la métaphase, les chromosomes se déplacent par rapport au fuseau mitotique et s'alignent sur un même plan situé au niveau de la région médiane, aussi appelée équatoriale, du fuseau.

La figure réalisée est de ce fait appelée plaque équatoriale.

L'anaphase est caractérisée par la séparation des deux chromatides de chaque chromosome, chacune migrant vers l'un des deux pôles du fuseau. Ce mouvement est dû au raccourcissement des fibres des kinétochores solidaires des centromères. Pendant cette phase, le fuseau mitotique grandit, si bien que les deux pôles du fuseau s'éloignent. Au cours de la télophase, une enveloppe nucléaire se reforme autour des chromatides-filles et simultanément, les chromosomes, sous forme de chromatides, se décondensent. La membrane cellulaire se creuse ensuite d'un sillon de clivage perpendiculaire à l'axe du fuseau. Ce sillon se creuse progressivement jusqu'à ce que ses deux bords se joignent, donnant naissance à la partition cellulaire et la formation de deux cellules filles.

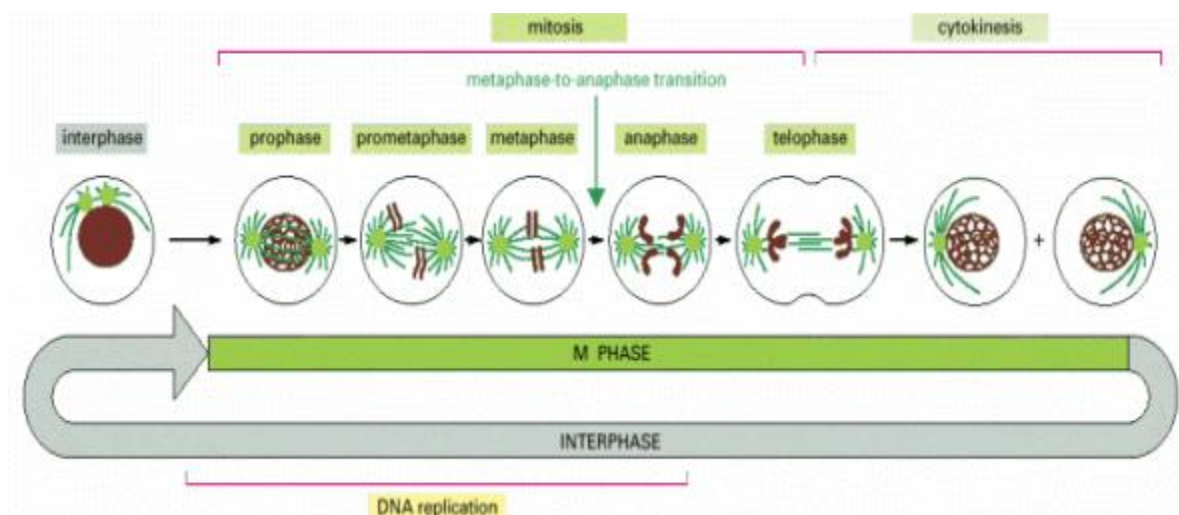


Figure 27: Le déroulement du cycle cellulaire de cellules eucaryotes

Cette figure montre les différentes étapes du cycle cellulaire ainsi que leur ordre de succession. Le cycle cellulaire peut être divisé en deux phases : la phase M (mitose), correspondant à la division nucléaire et la cytokinèse et l'interphase qui correspond à la phase de duplication du contenu cellulaire (Alberts et al., 2002).

II. REGULATION DU CYCLE CELLULAIRE

Tout au long de son déroulement, le cycle cellulaire passe par plusieurs points de contrôle qui permettent ou non sa poursuite. De nombreuses molécules (en particulier des protéines) interviennent dans ces processus. Parmi ces molécules, on trouve des protéines effectrices comme les cyclines et les Cdk (kinase Cycline dépendant). Les cyclines ne sont pas présentes pendant tout le cycle, elles apparaissent puis disparaissent brusquement à des moments précis du cycle, de façon périodique (Figure 28).

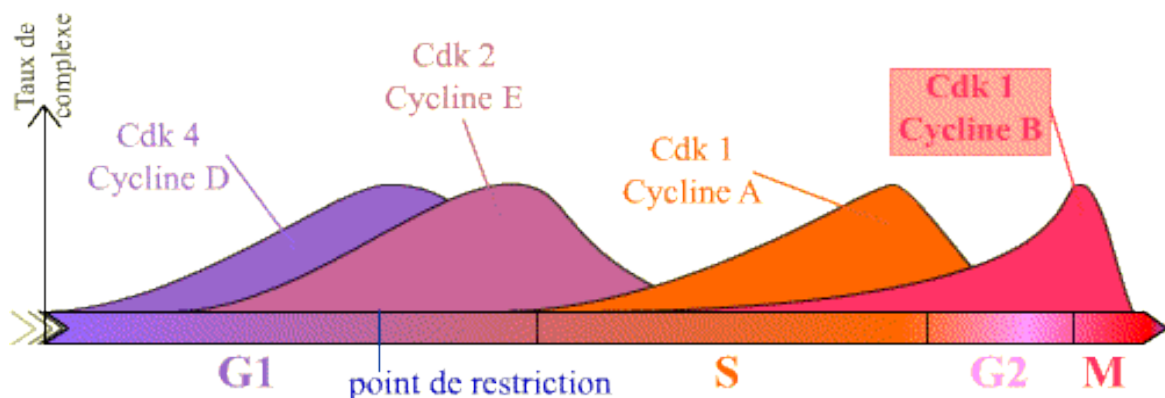


Figure 28: Abondance et succession des principaux complexes Cycline/Cdk au cours du cycle cellulaire (http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/cyclecellBM/04G2_M.htm).

Les Cdk peuvent donc être sous forme activée ou désactivée, selon qu'elles sont associées ou non à leur cycline. Les cyclines et les Cdk forment des complexes enzymatiques capables de phosphoryler d'autres protéines afin qu'elles deviennent biologiquement actives. Les Cdk sont des sérine/thréonine kinases, leurs activités catalytiques sont modulées par des interactions avec les cyclines et les inhibiteurs de Cdk (CKIs). Une coopération étroite entre ce trio est nécessaire pour assurer la progression ordonnée du cycle cellulaire. (Lim and Kaldis, 2013). En plus de leur fonction bien établie dans le contrôle du cycle cellulaire, il est de plus en plus évident que les Cdks, cyclines et CKIs jouent un rôle indispensable dans des processus tels que la transcription, la régulation épigénétique, le métabolisme, l'auto-renouvellement des cellules souches, les fonctions neuronales et la spermatogenèse (Lim and Kaldis, 2013). Les protéines régulatrices de la famille P21 (Figure 29) influent sur des protéines empêchant ainsi la formation du complexe cdk/cycline (Lecona et al., 2013). Les protéasomes et les protéines responsables de l'ubiquitination interviennent également dans la régulation des protéines effectrices. Les protéasomes sont des complexes protéiques dont l'activité protéolytique permet de dégrader partiellement ou totalement des protéines en

fonction de la quantité d'ubiquitine qui est fixée à la protéine à réguler. Leur action entraîne la disparition des protéines effectrices devenues inutiles à la poursuite du cycle.

Le point de départ du cycle cellulaire est le point de restriction G1-S. C'est lui qui conditionne le devenir de la cellule. Une cellule qui ne passe pas le point de restriction entrera en phase G0. Cependant, le passage du point de restriction ne garantit pas que le cycle arrivera à son terme car il existe de nombreux autres points de contrôle qui peuvent conduire à l'arrêt du cycle et à la mort de la cellule. Le point de restriction est en fait un ensemble de processus impliquant des protéines qui permettent la progression dans le cycle et d'autres qui l'inhibent. Parmi les protéines à action positive on trouve les facteurs de croissance qui induisent la synthèse de la cycline D et du cdk2 qui sont impliqués avec cdk4 et la cycline E dans le passage de la phase G1 vers la phase S. Lorsque le signal induit par les facteurs de croissance ne dure pas assez longtemps, les taux de cycline D et cdk chutent condamnant les cellules à retourner en G0.

Les complexes cdk4/cycline D et cdk2/cycline E forment le SPF (S phase promoting factor) qui phosphorylent la protéine Rb (Figure 29). Dans les conditions normales, la protéine Rb forme un complexe avec E2F (fonction inhibitrice). La phosphorylation de Rb entraîne la libération de E2F qui est un facteur de transcription de nombreux enzymes de la phase S (Foster, 2008). A ce stade, la cellule effectue un contrôle de son ADN au moyen d'un mécanisme complexe n'ont encore bien élucidé impliquant la P53 (Foster, 2008). Le taux des protéines de la famille P53 augmente lors des lésions sur l'ADN. Ces protéines augmentent l'expression des P21 qui inhibent la formation du complexe cdk4/cycline D (Figure 29) et donc la poursuite du cycle cellulaire. Si l'ADN n'est pas réparé, l'augmentation des P53 peut conduire à la mort cellulaire par apoptose (Foster, 2008).

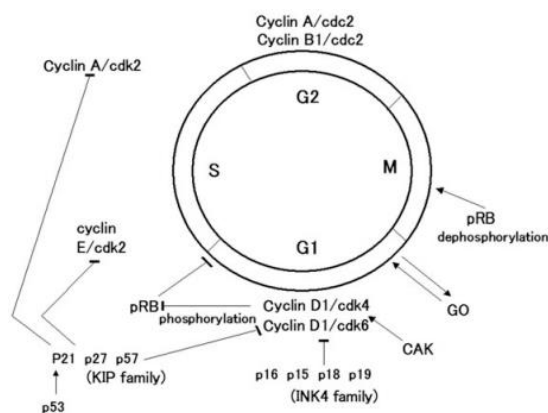


Figure 29: Schéma de la régulation du cycle cellulaire

CAK, cdk-activation de la kinase; cdk, kinase cycline-dépendante; INK4, un inhibiteur de CDK4; KIP, protéine kinase inhibiteur; pRB, la protéine du rétinoblastome (Dobashi, 2005).

Grâce à la précision de la régulation du cycle, le taux d'accidents est très faible. Cependant des proliférations incontrôlées aboutissant à des cancers s'observent. L'aisance même des cellules cancéreuses est qu'elles échappent à la régulation du cycle cellulaire. L'analyse moléculaire des tumeurs humaines montre que les protéines régulatrices du cycle y sont fréquemment mutées.

III. LES DIFFERENTS TYPES DE MORT CELLULAIRE

Au cours de la vie, les cellules d'un organisme se reproduisent pour accroître leur nombre. Ainsi toute cellule est programmée pour se multiplier et mourir. Il arrive que certaines meurent accidentellement suite à une modification de l'environnement cellulaire (privation de nutriments, présence de substances toxiques, modification brutale des paramètres physico-chimiques du milieu) ; mais aussi suite à une origine liée au développement de l'organisme au cours de l'embryogenèse (cas du nématode *Caenorhabditis elegans*) ou à des mutations.

III-1. L'apoptose

III-1-1. Rôle et facteurs déclenchant

L'apoptose, ou mort cellulaire programmée, joue un rôle essentiel dans la survie des organismes pluricellulaires en les débarrassant des cellules endommagées ou infectées qui peuvent interférer avec le fonctionnement normal (Portt et al., 2011). L'apoptose est donc indispensable pour le fonctionnement normal des organismes pluricellulaires. En effet, elle joue un rôle essentiel dans le développement, le maintien et le renouvellement tissulaire (développement embryonnaire, régulation du système immunitaire, morphogenèse) et la destruction des cellules potentiellement dangereuses (Abena et al., 2003; Ségal-Bendirdjian et al., 2005; Vachon, 2006). Toute dérégulation de ce processus conduit à de nombreux désordres pathologiques comme les maladies neurodégénératives (excès de mort cellulaire) ou le cancer (défaut de mort cellulaire) (Michel, 2003). Il peut être réglé par de nombreux modulateurs, y compris certains ions (par exemple le calcium), des gènes (par exemple c-myc, Bcl-2/Bax et Fas), des protéines (par exemple p53, caspases) et même des organites (par exemple, les mitochondries, réticulum endoplasmique) (Ulukaya et al., 2011). Parmi ces régulateurs, les membres de la famille des caspases conduisent à la perte de la structure et de la fonction cellulaire et, éventuellement, entraînent la mort cellulaire par apoptose (González et al., 2010; Walsh et al., 2008) (Figure 30) .

L'apoptose est un phénomène actif et complexe qui fait intervenir une cascade de facteurs et qui consomme de l'énergie sous forme d'ATP. L'apoptose peut être due à un déséquilibre de l'homéostasie cellulaire, comme une forte baisse transitoire de la concentration intra-cellulaire en ATP (Izyumov et al., 2004). Une certaine concentration en Zinc semble prévenir l'activation de certaines caspases. Ainsi une diminution de cette concentration entraîne le déclenchement de l'apoptose (Seve et al., 2002; Stefanidou et al., 2006). L'apoptose peut être induite par de nombreux stimuli différents (Figure 30), tels que les rayons ultraviolets (UV) (Bivik et al., 2007), les agents de chimiothérapie (Seitz et al., 2010), l'infection par des agents pathogènes (Wu et al., 2010; Zhang et al., 2011), les biphényles polychlorés (Zhang et al., 2009), les hydrocarbures aromatiques polycycliques (Solhaug et al., 2004), les insecticides (Jin et al., 2013) et des métaux lourds (Pathak et al., 2013).

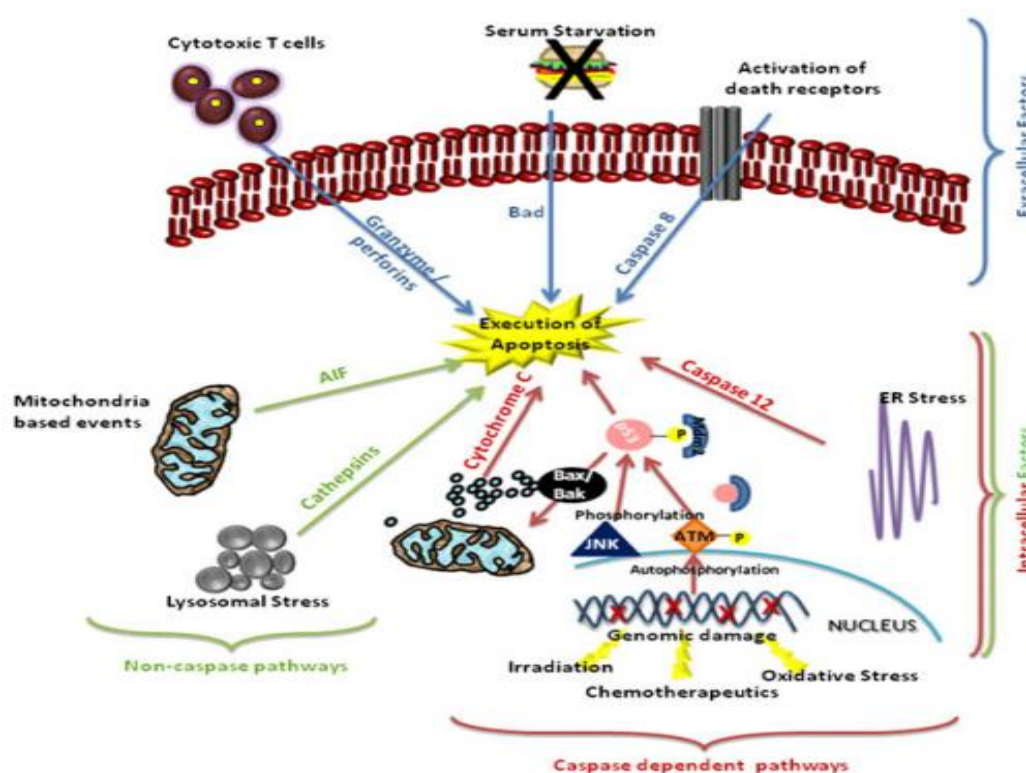


Figure 30: Déclenchement de l'apoptose par des facteurs extracellulaire ou intracellulaire

La figure résume ces déclencheurs et met en évidence les grands acteurs moléculaires dans le processus de l'apoptose dans ces voies (Ulukaya et al., 2011).

III-1-2. Modifications morphologiques

Les cellules apoptotiques présentent les mêmes caractéristiques particulières quels que soient les tissus d'origine. Les cellules apoptotiques montrent un rétrécissement cellulaire (Kerr,

2002) et une condensation de la chromatine suivie de la fragmentation de l'ADN qui se termine par une fragmentation de la cellule en corps apoptotiques. Au cours du processus apoptotique la membrane expose sur sa face externe la phosphatidyl serine signalant ainsi son état aux macrophages (Erwig and Henson, 2008), puis elle devient peu à peu perméable. Au niveau mitochondrial, on observe une baisse du potentiel membranaire due à la dislocation de la chaîne de transport des électrons et du métabolisme énergétique au niveau du Cytochrome C. Cette dislocation est consécutive à l'action de facteurs apoptotiques ayant pour cible la mitochondrie (Green and Reed, 1998). La libération du cytochrome C serait un évènement précoce de l'apoptose (Bossy-Wetzel et al., 1998) et certainement à l'origine de la diminution du potentiel membranaire. Le cytochrome C est également impliqué dans l'activation des caspases (Green and Reed, 1998).

III-1-3. L'anoïkis

III-1-3-1. Notions, définition et rôle de l'anoïkis

À l'instar des facteurs de croissance, des hormones et cytokines, les interactions cellule-matrice extracellulaire (MEC) jouent un rôle majeur dans la régulation des divers processus cellulaires, dont le maintien de la survie (Ameisen, 2005; Beaulieu, 1999; Martin and Vuori, 2004). Cependant dans des circonstances normales, les cellules épithéliales subissent l'anoïkis, une forme spécialisée d'apoptose qui se produit sur des cellules en raison des interactions cellule-MEC dépendantes de l'ancrage inadéquate ou inappropriée, perturbant la croissance cellulaire (Gilmore, 2005). En d'autre terme, toute perturbation dans les interactions cellule-MEC induit une forme spécifique d'apoptose : l'anoïkis (Figure 31) (Ameisen, 2005; Beaulieu, 1999; Frisch and Screaton, 2001; Martin and Vuori, 2004). Ainsi, tout comme l'apoptose, l'anoïkis joue une série de rôles importants au cours de l'embryogenèse et de l'organogenèse, ainsi que dans le maintien et le renouvellement des tissus (Boudreau and Jones, 1999; Frisch and Screaton, 2001; Martin and Vuori, 2004; Stupack and Cheresch, 2002). Étant donné que la grande majorité des cellules requièrent un ancrage sain à leur MEC pour survivre, on peut dire des interactions cellule-MEC qu'elles suppriment l'anoïkis (Ameisen, 2005; Beaulieu, 1999; Frisch and Screaton, 2001; Martin and Vuori, 2004). Les cellules tumorales métastatiques doivent par conséquent être résistantes pour survivre à l'anoïkis pendant leur dissémination (Eccles and Welch, 2007) (Figure 31).

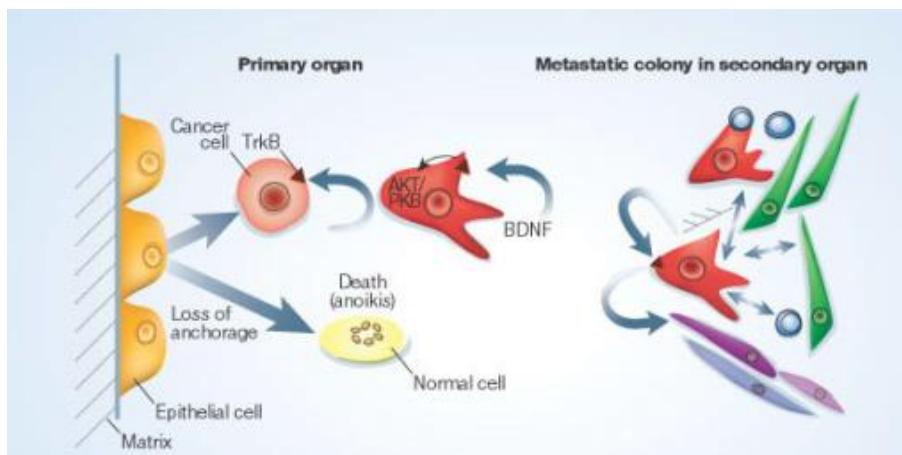


Figure 31: Anoïkis et mécanisme de résistance à l'anoïkis des cellules tumorales migrantes

Les cellules épithéliales sont normalement reliées entre elles et à leur matrice extracellulaire. Elles subissent un processus d'apoptose (appelé anoïkis) quand elles sont détachées de cette matrice extracellulaire. En revanche, les cellules tumorales migrantes résistent à ce processus d'anoïkis grâce à plusieurs mécanismes dont celui utilisant la protéine TrkB. TrkB, qui est stimulée par BDNF, et active à son tour AKT/PKB (Liotta and Kohn, 2004). TrkB, Tropomyosin-related kinase B ; BDNF, Brain Derived Neurotrophic Factor ; AKT/PKB, Protéine serine/thréonine kinase B

III-1-3-2. Métastases et résistance à l'anoïkis

Pour métastaser, les cellules cancéreuses se détachent de leur site primaire, migrent dans les systèmes lymphatiques et circulatoires, s'implantent dans un autre site et initient la croissance tumorale (Figure 32). Dans un contexte normal, les cellules ayant perdu le contact avec la MEC ou avec les cellules voisines sont induites en anoïkis. La cellule tumorale qui acquiert le potentiel métastatique développe donc des mécanismes de résistance à l'anoïkis pour survivre après le détachement du foyer primaire (Simpson et al., 2008; Swan et al., 2003). La résistance à l'anoïkis est, de ce fait, une des caractéristiques de la transformation tumorale car elle favorise la migration et le ré-attachement et donc la colonisation de sites secondaires. Cette résistance a été décrite dans plusieurs types de cancers (Chiarugi and Giannoni, 2008; Díaz-Montero et al., 2006). Les cellules résistantes à l'anoïkis présentent une altération structurale et numérique des chromosomes. De même, elles montrent de nombreux dysfonctionnements dans les mécanismes moléculaires régulant l'adhésion médiée par les intégrines, par exemple la voie de signalisation de PI3K/AKT. *In vitro*, la prolifération des cellules tumorales même sur des supports défavorables à l'attachement cellulaire, reste l'une des principales caractéristiques de la transformation maligne qui mime assez bien les

conditions *in vivo* (Rak et al., 1999). En effet, la capacité des cellules tumorales à se multiplier en suspension ou sous forme d'agrégats (sur de l'agarose ou le polyHEMA) est liée à un contrôle anormal des processus physiologiques de la mort programmée en faveur de l'activation continue des voies de survie. De nombreuses études ont montré une corrélation entre la résistance à l'anoïkis des cellules cancéreuses *in vitro* et leur capacité à former des tumeurs *in vivo* (Rak et al., 1999). A l'inverse, il a été montré que les cellules normales dont on empêchait l'adhésion et l'étalement s'arrondissaient, s'agrégeaient et cette morphologie régulait négativement leur survie. Ces cellules s'orientaient ainsi vers l'anoïkis (Figure 31) (García et al., 1999). Par exemple, Nelson et Chen (2002) ont démontré que la prolifération des cellules endothéliales était inhibée lorsque ces cellules demeuraient arrondies sur des surfaces auto assemblées.



Figure 32: Les étapes de la métastase cancéreuse

La résistance à l'anoïkis permet la migration des cellules cancéreuses du site primaire, leur survie en absence d'adhésion et leur croissance dans un autre environnement (Simpson et al., 2008).

III-2. La nécrose

La nécrose a été décrite la première fois en détail par Walker et al. en 1988 et a été considérée pendant longtemps comme une forme incontrôlée plutôt accidentelle de la mort cellulaire. La mort des cellules nécrotiques est morphologiquement caractérisée par une augmentation de volume de la cellule (oncoses), un gonflement des organites et la rupture des membranes plasmiques suivie par la perte de contenu intracellulaire (Eisenberg et al., 2010). La nécrose est couramment utilisée pour décrire la mort cellulaire accidentelle non apoptotique. Toutefois, ce terme est de plus en plus utilisé par les pathologistes pour évoquer la présence de tissus ou de cellules mortes. Ce terme représente la phase terminale, le plus souvent en absence de phagocytose, de la mort cellulaire quel que soit le mécanisme qui a entraîné cet état. Cet état est caractérisé par l'équilibre entre la cellule et le milieu extérieur et signifie

donc que la membrane plasmique n'est plus étanche et qu'elle ne remplit plus ses fonctions (Fink and Cookson, 2005).

III-3. L'autophagie

L'autophagie désigne un mécanisme de mort cellulaire qui fait intervenir des vacuoles de digestion. Il n'est pas dû à une agression extérieure mais intervient durant le développement des vertébrés et serait probablement un processus ancien (Chowdhury et al., 2006; Fink and Cookson, 2005) ou un processus de survie dû à un manque de nutriments et de facteurs de croissance (Krysko et al., 2008). Elle se caractérise par des modifications morphologiques : vacuolisation, dégradation des composants cytoplasmiques et une légère condensation de la chromatine. Le processus d'autophagie est un processus très régulé qui commence par une séquestration du matériel cytoplasmique au sein d'une double membrane appelée autophagosome. Ce processus est sous le contrôle de GTPases et de phosphatidylinositol kinases. Les autophagosomes fusionnent alors avec les lysosomes grâce à un mécanisme impliquant les microtubules. Cette fusion des vésicules entraîne la dégradation des organites cellulaires. *In vivo*, ces cellules sont phagocytées par leurs voisines (Chowdhury et al., 2006; Fink and Cookson, 2005; Krysko et al., 2008). Ce processus qui fait intervenir les lysosomes donc, n'induit pas d'inflammation (Tableau 2).

Tableau 2: Récapitulatif des caractéristiques des différents types de mort cellulaire

Table 1 Characteristics of different types of cell death					
Type of cell death	Morphological changes			Biochemical features	Common detection methods
	Nucleus	Cell membrane	Cytoplasm		
Apoptosis	Chromatin condensation; nuclear fragmentation; DNA laddering	Blebbing	Fragmentation (formation of apoptotic bodies)	Caspase-dependent	Electron microscopy; TUNEL staining; annexin staining; caspase-activity assays; DNA-fragmentation assays; detection of increased number of cells in subG1/G0; detection of changes in mitochondrial membrane potential
Autophagy	Partial chromatin condensation; no DNA laddering	Blebbing	Increased number of autophagic vesicles	Caspase-independent; increased lysosomal activity	Electron microscopy; protein-degradation assays; assays for marker-protein translocation to autophagic membranes; MDC staining
Mitotic catastrophe	Multiple micronuclei; nuclear fragmentation	–	–	Caspase-independent (at early stage) abnormal CDK1/cyclin B activation	Electron microscopy; assays for mitotic markers (MFM2); TUNEL staining
Necrosis	Clumping and random degradation of nuclear DNA	Swelling; rupture	Increased vacuolation; organelle degeneration; mitochondrial swelling	–	Electron microscopy; nuclear staining (usually negative); detection of inflammation and damage in surrounding tissues
Senescence	Distinct heterochromatic structure (senescence-associated heterochromatic foci)	–	Flattening and increased granularity	SA- β -gal activity	Electron microscopy; SA- β -gal staining; growth-arrest assays; assays for increased p53, INK4A and ARF levels (usually increased); assays for RB phosphorylation (usually hypophosphorylated); assays for metalloproteinase activity (usually upregulated)

CDK1, cyclin-dependent kinase 1; MDC, monodansylcadaverine; MFM2, mitotic phosphoprotein 2; SA- β -gal, senescence-associated β -galactosidase; RB, retinoblastoma protein.

(Okada and Mak, 2004), *Nature Reviews Cancer*, 2004, 4, 592-603

DEUXIEME PARTIE : PARTIE EXPERIMENTALES

CHAPITRE 4 : CADRE ET MATERIEL DE L'ETUDE

I. CADRE DE L'ETUDE

Ces travaux ont été réalisés alternativement au LABIOGENE/CERBA et au Laboratoire GReD dans le cadre d'une cotutelle internationale de thèse.

Le LABIOGENE/CERBA est le Laboratoire de Biologie Moléculaire et de Génétique du Centre de recherche Biomoléculaire Pietro Annigoni de l'Université de Ouagadougou au Burkina Faso

Le GReD est le Laboratoire de Génétique Reproduction et Développement de l'Université Blaise Pascal en France.

II. MATERIEL VEGETAL

Le matériel végétal de l'étude est composé des rameaux feuilletés de *C. giganteus* (Figure 4), *C. citratus* (Figure 5), *O. americanum* (Figure 6), *O. basilicum* (Figure 7), *H. spicigera* (Figure 8), *L. multiflora* (Figure 9), *A. Conyzoides* (Figure 10), *E. camaldulensis* (Figure 11), *Z. officinale* (Figure 12), des plantes de la médecine traditionnelle du Burkina Faso qui ont été collectées durant le mois de juin 2010 à Gampéla à environ 25km de Ouagadougou (Latitude N 12 27.075, Longitude W 1 20.161; GPS localisation: 12.451244,-1.336023). Ces plantes ont été identifiées par Dr. Jeanne Millogo-Rasolodimby (Botaniste, Université Ouagadougou) et des spécimens ont été déposés à l'herbier d'écologie végétale de l'Université de Ouagadougou sous les numéros 15940, 15937, 15941, 15939, 15942, 15938, 13162, 15943 et 15944 respectivement pour de *C. giganteus*, *C. citratus*, *O. basilicum*, *O. americanum*, *H. spicigera*, *L. multiflora*, *A. Conyzoides*, *E. camaldulensis* et *Z. officinale*. Les rameaux feuilletés de ces plantes récoltés les matins ont été séchés dans les conditions de laboratoire et utilisés pour l'extraction des huiles essentielles.

III. MATERIEL BIOLOGIQUE

III-1. Justification du choix des lignées cellulaires étudiées

Dans la majorité des pays d'Afrique sub-saharienne dont le Burkina Faso, les services de santé manquent cruellement de moyens pour la détection précoce, le diagnostic, le traitement et la prise en charge adéquate du cancer. La majorité des cancers y sont donc diagnostiqués à

des stades avancés, augmentant de ce fait la mortalité. En effet, près de 90% des patients atteints d'un cancer décèdent de leurs métastases (Mehlen et Puisieux, 2006). De ce fait, la recherche de nouvelles thérapies anti-tumorales devraient s'orienter vers la recherche de composés capables d'empêcher la migration des cellules tumorales et/ou d'inhiber la prolifération de cellules métastatiques. D'où le choix des lignées cellulaires prostatiques migrantes, métastatiques et résistantes à l'induction de l'apoptose LNCaP et PC-3, et des lignées cellulaires de glioblastomes résistantes à l'induction de l'apoptose notamment la lignée SF-767 qui induit une activation des récepteurs STAT-3 et la lignée SF-763 induisant une co-activation des récepteurs STAT-3 et Akt.

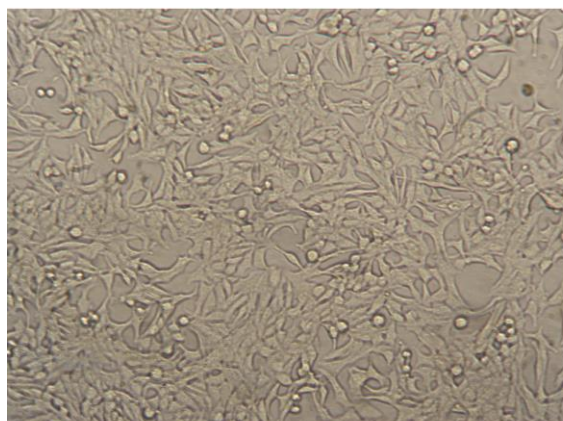
III-2. Description des lignées cellulaires étudiées

La lignée cellulaire LNCaP est une lignée cellulaire androgéno-sensible (American Type Culture Collection (ATCC), CRL-1740) établie en 1977, à partir de fragments biopsiques d'une métastase ganglionnaire d'un cancer prostatique modérément différencié, diagnostiqué un an plus tôt chez un patient caucasien de 50 ans (Horoszewicz et al., 1983, 1980). et la lignée cellulaire PC-3 est une lignée androgéno-résistante (ATCC, CRL-1435) qui provient de la mise en culture d'une métastase localisée au niveau des vertèbres lombaires d'un patient caucasien de 62 ans présentant un adénocarcinome prostatique peu différencié (Kaighn et al., 1979). Pour ce qui est des glioblastomes (GBM) notamment la lignée SF-767 et la lignée SF-763, ce sont des cellules cancéreuses primitives radorésistantes.

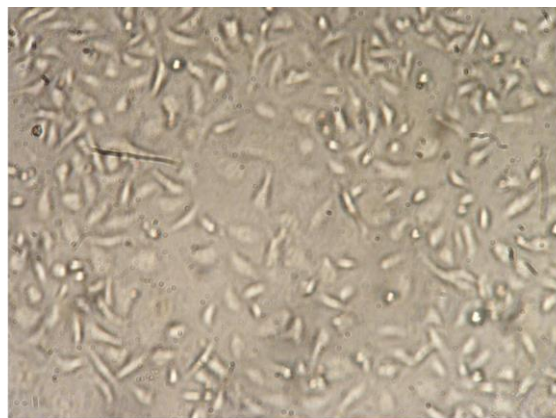
Toutes les lignées cellulaires de l'étude sont des cellules adhérentes.

III-3. Morphologie et source des lignées cellulaires étudiées

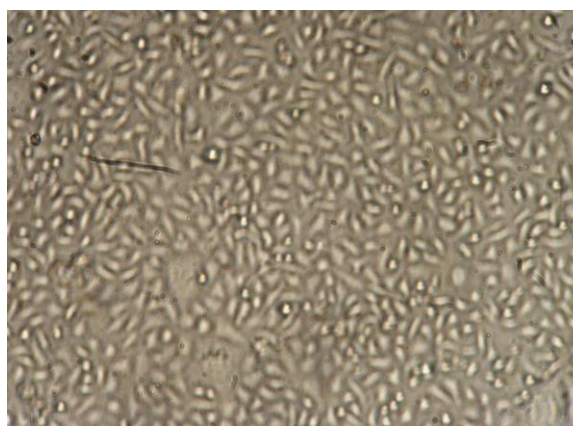
Les cellules LNCaP (Figure 33A) ont une morphologie peu allongée en forme d'étoile et poussent en formant des îlots. Par contre, les cellules PC-3 (Figure 33B) et SF763 (Figure 33D) ont une morphologie arrondie et poussent en formant des îlots cellulaires; les cellules SF767 (Figure 33C) quant à elles sont des cellules plus petites, arrondies et poussant en amas cellulaires. Le temps de doublement, estimé expérimentalement, est d'environ 24 heures pour les lignées LNCaP et SF767, et de 28 heures pour la lignée PC-3 et SF763. Toutes les cellules ont été fournies par le Laboratoire GReD, UMR CNRS 6293-Clermont Université-INSERM U1103, 24 avenue des Landais, BP80026, 24 avenue des Landais, F-63177, France.



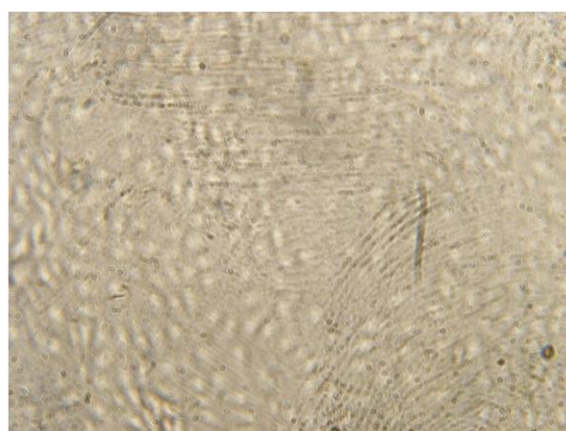
A) Lignée cellulaire LNCaP



B) Lignée cellulaire PC-3



C) Lignée cellulaire SF-767



D) Lignée cellulaire SF-763

Figure 33: Photo des lignées cellulaires LNCaP (A), PC-3 (B), SF-767 (C) et SF-763 (D)

CHAPITRE 5 : METHODES

I. EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES

Les rameaux feuillés de chaque plante séchée (200g) ont été utilisés pour l'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation dans un alambic avec un volume d'eau de 4 litres pendant 3 heures à l'aide d'un appareil type Clevenger adapté (Figure 34). Du sulfate de sodium anhydre a été utilisé pour deshydrater les huiles après l'extraction puis filtré. Les huiles essentielles ont ensuite été stockées dans des contenants hermétiques dans un réfrigérateur à 4°C pour l'analyse chimique et les tests biologiques.



Figure 34: Photo du montage utilisé pour l'extraction des huiles essentielles (BAYALA Bagora, 2011)

II. ANALYSE CHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES

II-1. Analyse par GC/FID

Les huiles essentielles ont été diluées dans de l'hexane (1/30, v/v) pour analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme (GC/FID) (Figure 35). La chromatographie en phase gazeuse a été effectuée sur un chromatographe en phase gazeuse Agilent Modèle 6890 (Agilent, Palo Alto, CA), équipé d'une colonne DB5 MS (30m x 0,25 mm, épaisseur de film de 0,25 pm). L'hydrogène a été utilisé comme gaz vecteur (de 1.0ml/min d'écoulement). Le programme de température du four était de 50°C (5 min) à 300°C à 5°C/min, 5 min après l'exécution à 300°C. Chaque échantillon d'huile essentielle (1 microlitre) a été injecté en mode double affichage (1:60), les températures de l'injecteur et du détecteur étaient de 280 et 300°C, respectivement.



Figure 35: Photo du GC/FID Agilent Modèle 6890 (BAYALA Bagora, 2011)

II-2. Analyse par GC/MS

La Chromatographie gazeuse à spectrométrie de masse (GC/MS) (Figure 36) des huiles essentielles a été réalisée par un chromatographe en phase gazeuse Agilent Modèle 7890, couplé à un modèle Agilent MS 5975, équipé d'une colonne DB5 MS (20m x 0,20mm, épaisseur du film de 0.20 μ m), de programmation allant de 50°C (5 min) à 300°C à 8°C/min, avec 5 min d'attente. L'hélium a été utilisé comme gaz porteur (débit moyen de 1,0 ml/min). Programme de température du four était de 50°C (3,2min) à 300°C à 8°C/min, 5 min après l'exécution à 300°C. Chaque échantillon d'huile essentielle (1 microlitre) a été injecté en mode double affichage (1:150); l'injecteur et détecteur de température étaient de 250°C et 280°C respectivement. Le MS en mode impact électronique à 70eV; multiplicateur d'électrons, 1500V, température de la source d'ions, 230°C, les données des spectres de masse ont été acquises dans le mode de balayage de gamme de 33 à 450 m/z.



Figure 36: Photo du GC/MS Agilent Modèle 7890 (BAYALA Bagora, 2011)

II-3. L'identification des composants

Les Constituants des huiles essentielles ont été identifiés par comparaison de leurs indices de rétention avec ceux de la littérature, déterminés par rapport à une série homologue de n-alcanes (C8-C32) dans les mêmes conditions de fonctionnement. En outre l'identification a été faite par comparaison de leurs spectres de masse avec ceux stockés dans la bibliothèque NIST (Stein, et al., 2002) ou avec les spectres de masse de la littérature (Adams, 2007). Les pourcentages relatifs des composés ont été calculés sur la base des domaines de pointe de GC sans utiliser les facteurs de correction.

III. ACTIVITE ANTIOXYDANTE DES HUILES ESSENTIELLES

III-1. Activité antiradicalaire par la méthode DPPH

L'activité de piégeage des radicaux DPPH (Sigma-Aldrich, L'Ile d'Abeau, France) des huiles essentielles a été mesurée comme décrit par Velazquez et al., (2003). Brièvement, 0,5 ml de chaque huile essentielle solubilisée dans le méthanol a été ajoutée à 1 ml de solution de DPPH[•] (20 mg/ml dans du méthanol) fraîchement préparée. Après agitation, le mélange a été incubé pendant 15 min à l'obscurité à température ambiante, puis l'absorbance a été mesurée à 517 nm contre un blanc (mélange sans huile essentielle). La quercétine (Sigma-Aldrich) a été utilisée comme témoin positif. Le pourcentage d'inhibition des radicaux libres DPPH[•] (%I) a été calculé selon la formule: $\%I = (1 - \text{Absorbance échantillon} / \text{Absorbance Blanc}) \times 100$.

III-2. Activité antiradicalaire par la méthode ABTS

L'analyse spectrophotométrique de l'activité des huiles essentielles à piéger les cathions ABTS^{•+} a été déterminée selon la méthode de Re et al., (1999). La préparation de la solution ABTS^{•+} a été effectuée par dissolution de 10 mg de ABTS dans 2,6 ml d'eau distillée. Ensuite, ont été ajouté 1,7212mg de persulfate de potassium et le mélange est maintenu dans l'obscurité à température ambiante pendant un maximum de 12 heures. Le mélange a ensuite été dilué avec de l'éthanol de façon à obtenir une absorbance de $0,70 \pm 0,02$ à 734 nm. Dans des plaques 96 puits, 50µl de solution d'huile essentielle éthanolique a été ajouté à 200µl de solution d'ABTS^{•+} fraîchement préparée. Le même procédé a été réalisé pour la quercétine utilisé comme témoin positif. Le mélange réalisé dans les plaques 96 puits a ensuite été protégé de la lumière à l'obscurité à température ambiante pendant 15 minutes et la concentration est lue à 734 nm dans un spectrophotomètre contre une courbe standard avec de

l'acide,5,7,8-tétraméthyl-2-carboxylique 6-hydroxy-2 (Trolox, Sigma-Aldrich). La concentration des composés ayant un effet réducteur sur le cation radical ABTS⁺ (antioxydant) est exprimée en micromoles équivalent Trolox par gramme d'huile essentielle (μmolET / g) en utilisant la formule suivante: $C = (cx D) / Ci$. Avec : C, la concentration de composés antioxydants en μMET/g ; c, la concentration de l'échantillon lu ; D, le facteur de dilution et Ci, concentration de la solution mère.

IV. ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE DES HUILES ESSENTIELLES PAR INHIBITION DE LA LIPOXYGENASE

L'activité inhibitrice de la lipoxygénase (CE 1.13.11.12) de type I-B extrait de soja des huiles essentielles telle que décrite par Lyckander et Malterud (1992) a été utilisée avec quelques modifications mineures. En effet, 100μl de la solution enzymatique (à la concentration finale de 200U/ml) a été préparée dans un tampon d'acide borique (0,2M; pH 9,0), mélangée avec 25μl de solution d'huile essentielle 1% DMSO (Sigma-Aldrich) dans un tampon acide borique, puis incubée à température ambiante pendant 3 minutes. La réaction a ensuite été déclenchée par l'ajout de solution de substrat (acide linoléique, de 250μM), et la vitesse a été enregistrée pendant 90 secondes à 234 nm. Le tampon acide borique a été utilisé comme contrôle négatif (activité de l'enzyme sans solution d'huile essentielle). Le pourcentage d'inhibition de la lipoxygénase (%I) a été calculé selon l'équation suivante:

$$\%I = (V_{O\text{contrôle}} - V_{O\text{échantillon}}) \times 100 / V_{O\text{contrôle}}.$$

$V_{O\text{contrôle}}$ est l'activité de l'enzyme en l'absence d'huile essentielle, et $V_{O\text{échantillon}}$ est l'activité de l'enzyme en présence de l'huile essentielle.

V. ACTIVITE ANTIPROLIFERATIVE DES HUILES ESSENTIELLES

V-1. Culture cellulaire

Toutes les lignées cellulaires ont été cultivées et entretenues au Laboratoire de Génétique Reproduction et Développement (GReD) de l'Université Blaise Pascal. Les cellules de cultures monocouches adhérentes ont été cultivées à 37 °C dans une chambre humidifiée avec 5% de CO₂ dans des flacons 75 cm² de culture tissulaire, dans un milieu supplémenté avec 10% de sérum de veau fœtal (FCS, Biowest, Nuaille, France), 1% de pénicilline et 1% de la streptomycine (Invitrogen, Oslo, Norvège). Les cellules LNCaP et PC-3 ont été maintenues dans du milieu RPMI-1640 (Invitrogen). Les cellules SF-767 et SF-763 ont été maintenues dans du DMEM (Invitrogen).

V-2. Cytotoxicité des huiles essentielles

Il a été préparé une solution stock de 10µl/ml de chaque huile essentielle dans 1% de DMSO (Sigma-Aldrich) dans un milieu complet. La croissance cellulaire globale a été évaluée en utilisant le test colorimétrique au MTT (3 [4,5-diméthylthiazol-2-yl]-bromure de diphényltétrazolium) (Sigma-Aldrich). Les cellules ont été incubées pendant 24 heures dans des plaques à 96 puits (50000 cellules/ml) avant l'incubation avec les huiles essentielles. Le test de prolifération cellulaire est basé sur la capacité des cellules vivantes à réduire le MTT (de couleur jaune) en son métabolite, le bleu de formazan (de couleur violette). Après 72 heures d'incubation avec ou sans huile essentielle, le nombre de cellules vivantes est directement proportionnelle à l'intensité de la couleur violette mesurée quantitativement par spectrophotométrie en utilisant un lecteur de microplaques de type Bio-Rad 11 885 à 490 nm. L'inhibition de la croissance a été calculée comme suit:

$$\% \text{ inhibition} = 100 - (\text{DO}_{\text{échantillon huile essentielle test}} - \text{DO}_{\text{blank}} / \text{DO}_{\text{control}} - \text{DO}_{\text{blank}}) \times 100.$$

Pour déterminer l'effet de la combinaison des huiles essentielles, la concentration inhibitrice fractionnaire (FIC) a été évaluée selon la méthode décrite par Pei et al., 2009. Les indices de la concentration inhibitrice fractionnaire FIC ont été calculés par $\text{FIC}_{\text{cg}} + \text{FIC}_{\text{cc}}$, où FIC_{cg} et FIC_{cc} sont les concentrations minimales qui inhibent la croissance des cellules pour les huiles essentielles cg (*Cymbopogon giganteus*) et cc (*Cymbopogon citratus*) respectivement. Ainsi, les FIC ont été calculés comme suit: $\text{FIC}_{\text{cg}} = (\text{IC}_{50} (\text{combinaison Cg} + \text{Cc}) / \text{IC}_{50}\text{Cg seul})$ et $\text{FIC}_{\text{cc}} = (\text{IC}_{50} (\text{combinaison Cc} + \text{Cg}) / \text{IC}_{50}\text{Cc seul})$. Les résultats ont été interprétés comme suit : synergisme ($\text{FIC} < 1$), addition ($\text{FIC} = 1$), indifférence ($1 < \text{FIC} \leq 2$) et antagonisme ($\text{FIC} > 2$).

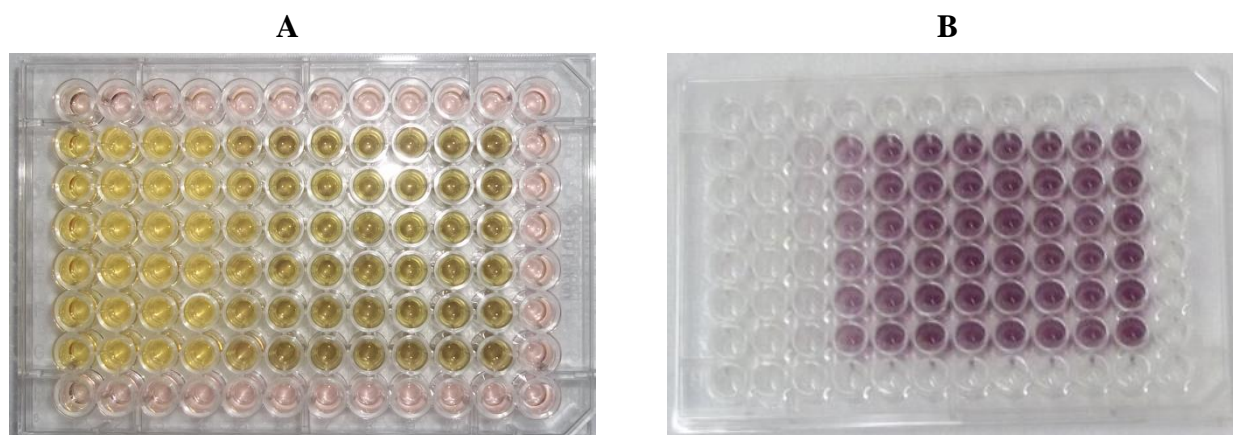


Figure 37: Photo de test MTT avant révélation (A) et après révélation (B) (BAYALA Bagora, 2012)

VI. TEST DE RESISTANCE A L'ANOÏKIS

L'effet des huiles essentielles sur la résistance à l'anoïkis a été évalué par la méthode soft agar. Les cellules cancéreuses ont préalablement été ensémençées dans des plaques 6 puits à raison de 350000 cellules par puits dans un volume de 2ml de milieu complet pendant 24 heures. Les cellules ont ensuite été induites pendant 72 heures avec les huiles essentielles aux concentrations inhibitrices 50 respectives. Au bout des 72 heures les cellules ont été récoltées et ensémençées dans le milieu « Top Agar » (Figure C, annexes) préparé avec un milieu 2X (Figure A, annexes) à raison de 5000 cellules par puits sur la « Base Agar » (Figure B, annexe) préalablement coulée dans des plaques de 6 puits et conservée à 4°C. Les cellules ont ensuite été traitées deux fois par semaine avec 0,5ml de solutions d'huile essentielle aux concentrations inhibitrices 50 respectives pendant 15 jours. Au bout de ces 15 jours, l'on a procédé à la révélation. Les cellules ont été fixées au PFA 4% à raison de 0,5ml par puits et incubées pendant 30 minutes à température ambiante. Après rinçage au PBS-1X, 0,5ml par puits de solution de crystal violet 0,005% solubilisé dans du PBS-1X est ajoutée puis incubées à nouveau pendant 20 minutes. Un rinçage à l'éthanol 50% a été effectué après avoir éliminé la solution de crystal violet. Finalement, des photos ont été prises successivement à l'appareil photo sur plaque lumineuse puis à la loupe binoculaire (Figure 38).

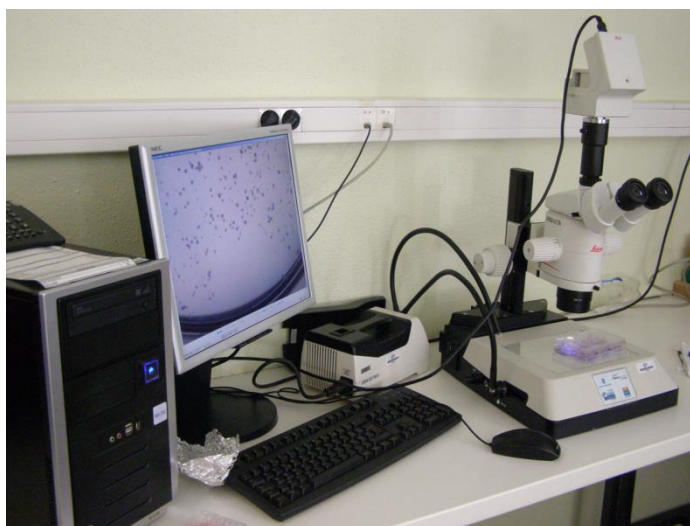


Figure 38: Photo du montage loupe binoculaire (BAYALA Bagora, 2014)

VII. TEST DE SCRATCH (Test de comblement de la brèche)

L'effet des huiles essentielles sur la migration cellulaire a été évalué par le test de comblement de la brèche (scratch test). Les cellules cancéreuses ont préalablement été ensémençées dans des plaques 6 puits à raison de 350000 cellules par puits dans un volume de

2ml de milieu complet pendant 24 heures. Une brèche a ensuite été réalisée sur les cellules après induction des cellules aux concentrations inhibitrices 50 respectives des huiles essentielles. Des photos multiples ont ensuite été prises pendant 72 heures à partir du temps t0 du début de l'induction. Le montage de ces photos ont permis de déterminer l'effet des huiles essentielles sur la migration cellulaire

VIII. ANALYSE DES PROTEINES

VIII-1. Préparation des extraits protéiques totaux

Pour les extraits totaux, les cellules sont rincées avec du D-PBS (Gibco) 1X froid (figure D, annexes) et récupérées dans 75µl de tampon NaCl (Figure D, annexes) contenant du PMSF (1 mM), du NaF (1 mM), du Na₃VO₄ (10 nM) et des inhibiteurs de protéases (Boehringer Mannheim). Les cellules sont lysées dans la glace par 2 cycles de sonication de 15s puis, les extraits sont centrifugés à 14000 rpm pendant 15 min à 4°C. Les surnageants clarifiés sont récupérés et les concentrations protéiques évaluées à 595 nm (Bio-rad Protein Assay).

VIII-2. Analyse des protéines par Western Blot

Les échantillons protéiques sont dénaturés à 95°C pendant 5 min dans un tampon de charge (Figure E, annexes) et séparés par électrophorèse simple dimension pendant 45 min à 160V sur des gels de polyacrylamide SDS-PAGE. Les protéines sont ensuite transférées sur une membrane de nitrocellulose (Amersham, GE Healthcare, Buckinghamshire, UK) pendant 1h à 100V et l'homogénéité des dépôts est vérifiée par coloration au rouge Ponceau. Les membranes sont saturées pendant 1h dans une solution de Régilait® écrémé 10%-TBST (Figure E, annexes) puis incubées une nuit à 4°C dans une solution de Régilait® 10%-TBST en présence d'anticorps primaires (Tableau A, annexes). Après 3 lavages successifs de 5 min (TBST), les membranes sont incubées pendant 1 heure 30 minutes avec l'anticorps secondaire anti-IgG de lapin ou de souris (BI2407, P.A.R.I.S. Anticorps, Compiègne, France), en fonction de l'anticorps primaire utilisé, couplé à la peroxydase (Horseradish Peroxydase, HRP). Après plusieurs lavages successifs, les complexes antigènes-anticorps sont révélés par chimioluminescence (Western Lightning Plus ECL, PerkinElmer, Massachusetts, USA) et les images capturées à l'aide du système MF-ChemiBIS 3.2 (Bio Imaging System, Kirkland Quebec, Canada). La quantification des complexes formés est réalisée à l'aide du logiciel MultiGauge (Fujifilm) (Figure 39).

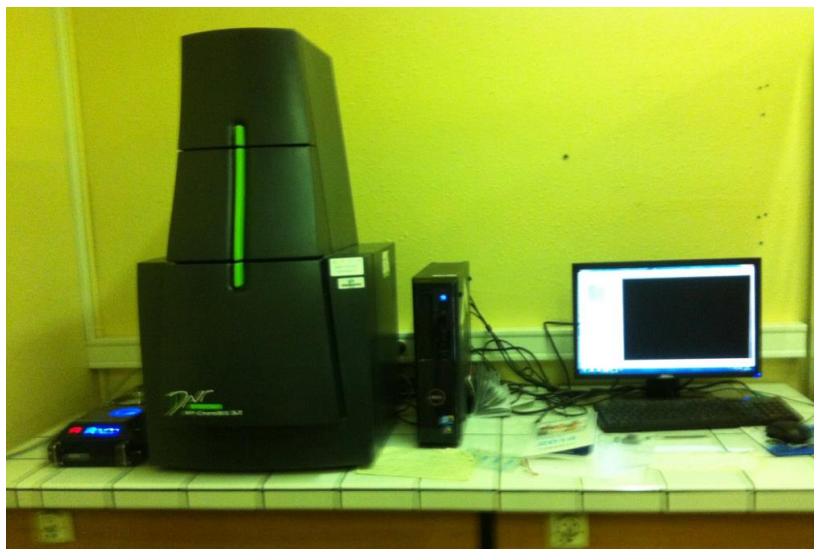


Figure 39: Photo du système MF-ChemiBIS 3.2 (BAYALA Bagora, 2014)

IX. ANALYSES STATISTIQUES

Les expériences *in vitro* ont été effectuées en octuplet ou en sextuplet, chaque point de données représente la moyenne d'au moins trois expériences indépendantes. Toutes les données sont présentées sous forme de moyenne \pm écart-type. Les données ont été analysées par analyse de variance suivie du test de comparaisons multiples de Tukey. Les analyses ont été effectuées en utilisant un logiciel de XLSTAT7.1. Une $P < 0,05$ a été utilisé comme critère pour la significativité statistique. Le logiciel ImageJ a été utilisé pour le comptage des clones.

TROISIEME PARTIE : RESULTATS & DISCUSSION

CHAPITRE 6. RESULTATS

I. PREMIERE PARTIE DE L'ETUDE : RESULTATS DU PREMIER ARTICLE

Chemical composition, antioxidant, anti-inflammatory and anti-proliferative activities of essential oils of plants from Burkina Faso

Bagora BAYALA^{a,b,c,d,e}, Imaël Henri Nestor BASSOLE^f, Charlemagne GNOULA^{a,g}, Roger NEBIE^h, Albert YONLI^a, Laurent MOREL^{b,c,d,e}, Gilles FIGUEREDOⁱ, Jean-Baptiste NIKIEMA^{a,j}, Jean-Marc A. LOBACCARO^{b,c,d,e*}, Jacques SIMPORE^{a,j*}. **PLoS One. 2014 Mar 24;9(3):e92122. doi: 10.1371/journal.pone.0092122. eCollection 2014.**

1.1 Composition des différentes huiles essentielles

L'hydrodistillation, suivie de l'analyse par GC/MS et GC/FID a permis de déterminer la composition chimique des huiles essentielles de sept plantes du Burkina Faso (Figure 41). La composition en pourcentage des composés des huiles essentielles sont répertoriés dans le tableau 3. Brièvement, les huiles essentielles contiennent principalement un mélange complexe d'hydrocarbures monoterpéniques, d'hydrocarbures sesquiterpéniques et composés oxygénés mono-et sesquiterpènes. Les monoterpènes hydrocarbonés sont dominant dans les huiles essentielles de *E. camaldulensis*, *L. multiflora*, *H. spicigera* et *O. americanum*. Les hydrocarbures sesquiterpéniques étaient les plus abondants dans l'huile essentielle de *Z. officinale*. Les terpènes oxygénés sont les constituants les plus dominants de l'huile essentielle de *A. conyzoides* et *O. basilicum*. L'huile essentielle de *L. multiflora* et *O. americanum* contenaient également des pourcentages de terpènes oxygénés de 25,10% et 23,94%, respectivement.

Troisième partie-Chapitre 6

Tableau 3: Composition chimique des huiles essentielles des 7 plantes testées

Composés	rt	<i>A. conyzoides</i>	<i>E. camaldulensis</i>	<i>L. multiflora</i>	<i>H. spicigera</i>	<i>O. americanum</i>	<i>O. basilicum</i>	<i>Z. officinale</i>
		%	%	%	%	%	%	%
α -thujène	10.249	---	---	2.63	4.37	0.13	---	---
α -pinène	10.505	0.10	9.17	0.68	20.11	6.87	0.39	4.14
Camphène	11.106	0.80	0.19	0.23	0.09	2.77	---	12.69
Sabinène	11.935	0.07	---	0.86	10.26	0.65	2.58	---
β -pinène	12.095	---	2.49	0.14	9.22	3.71	1.08	0.46
Myrcène	12.530	---	0.15	2.67	0.81	2.04	2.71	0.60
α -phellandrène	13.100	---	0.32	2.97	7.03	0.39	---	---
α -terpinène	13.46	0.45	---	2.18	0.61	0.40	0.11	---
P-cymène	13.740	---	4.73	25.27	3.05	0.21	0.14	0.28
Limonène	13.889	0.10	8.76	1.21	2.33	4.66	3.69	2.08
β -phellandrène	13.953	---	---	---	2.69	---	---	2.46
Eucalyptol	14.022	---	59.55	3.37	1.81	31.22	1.46	4.79
(E)- β -ocimène	14.469	---	---	1.23	0.13	---	2.86	---
γ -Terpinène	14.854	---	1.39	9.17	1.09	1.13	0.16	---
Terpinolène	15.728	---	0.21	0.17	4.43	0.65	0.60	---
Camphor	17.733	---	---	0.46	---	12.73		---
Bornéol	18.432	---	0.46	---	---	0.13	---	1.55
Terpinène-4-ol	18.692	---	1.14	0.55	0.75	0.92	0.63	---
α -terpinéol	19.239	---	2.65	0.25	---	2.08	59.78	0.78
Piperitone	20.787	---	0.09	---	0.08	2.44	---	---
Géranial	21.181	---	---	---	---	---	---	1.21
bornyl Acétate	21.587	0.23	---	---	0.05	3.96	---	---
Thymol	21.791	---	---	11.88	---	---	---	---
Carvacrol	21.991	---	---	1.67	---	---	---	---
Thymyle Acétate	23.222	---	---	7.64	---	---	---	---

Troisième partie-Chapitre 6

β -caryophyllène	25.116	8.49	---	12.70	21.00	3.55	10.54	---
Trans α -bergamotène	25.388	0.12	---	---	---	5.32	---	---
Aromadendrène	25.630	---	1.40	---	---	---	---	---
α -humulène	25.986	0.64	---	1.89	1.14	0.25	3.90	---
Precocène	26.324	82.09	---	---	---	---	---	---
Germacrène-D	26.596	1.30	---	2.50	1.00	0.24	3.72	---
Ar curcumène	26.643	---	---	---	---	---	---	16.67
(Z, E)- α -farnesène	26.742	---	---	---	---	3.67	---	---
Zingiberène	26.957	---	---	---	---	---	---	8.40
γ -bulgarène	27.113	---	---	---	---	---	---	3.79
(E,E)- α -farnesène	27.143	---	---	---	---	---	---	2.58
β -bisabolène	27.263	---	---	---	---	---	---	7.83
β -sesquiphellandrène	27.627	1.42	---	---	---	---	---	5.33
Elémol	28.16	---	---	1.25	---	1.60	---	0.44
Caryophyllène oxide	28.974	0.15	---	1.40	0.98	0.08	1.29	---
TOTAL		98.79	97.43	99.23	96.72	98.90	99.45	83.30
Monoterpènes hydrocarbones		1.52	86.96	52.78	68.03	54.83	15.78	27.5
Sesquiterpènes hydrocarbones		11.97	1.4	17.09	23.14	13.03	18.16	44.6
Terpènes Oxygénées		82.47	4.34	25.10	1.86	23.94	61.7	3.98

rt : temps de rétention (minutes), % : pourcentage des composés.

Dans l'huile essentielle de *O. basilicum*, 29 composés ont été identifiés au total (Figure 41A) dont les principaux composés étaient: l' α -terpinéol (59,78%) et le β -caryophyllène (10,54%) (Figure 40). Les composés mineurs étaient l' α -humulène (3,90%), le germacrène-D (3,72%), le limonène (3,69%), le (E)- β -ocimène (2,86%), le myrcène (2,71%), l'eucalyptol (1,46%), le caryophyllène oxyde (1,29%) et le β -pinène (1,08%) (Tableau 3).

Dans l'huile essentielle de *O. americanum*, 44 composés ont été identifiés (Figure 41B). Le 1,8-cinéole (31,22%), le camphre (12,730%), l' α -pinène (6,87%) et le trans- α bergamotène (5,32%) étaient les plus abondants (Figure 40) ; et les composés mineurs étaient le limonène (4,66%), le bornyl acétate (3,96%), le β -pinène (3,71%), le farnésène (3,67%), le β -caryophyllène (3,55%), le camphène (2,77%), le myrcène (2,04%), l' α -terpinéol (2,08%), le pipéritone (2,44%), le (Z, E)- α -Elemol (1,60%) et le Terpinène (1,13%) (Tableau 3).

Dans l'huile essentielle de *H. spicigera* 39 composés ont été identifiés (Figure 41C). Les composés majeurs apparaissent comme le β -caryophyllène (21%), l' α -pinène (20,11%), le sabinène (10,26%), le β -pinène (9,22%), l' α -phellandène (7,03%) (Figure 40); et les composés mineurs étaient le terpinolène (4,43%), l' α -thujène (4,37%), le P-cymène (3,05%), le β -phellandène (2,69%), le limonène (2,33%), l'eucalyptol (1,81%), l' α -humulène (1,14%), le γ -terpinène (1,09%) et le germacrène-D (1,00%) (Tableau 3).

L'huile essentielle de *L. multiflora* contient 42 composés (Figure 41D); parmi eux, les principaux composés sont le p-cymène (25,27%), le β -caryophyllène (12,70%), le thymol (11,88%), le γ -terpinène (9,17%) et l'acétate de thymyle (7,64%) (Figure 40) ; et les composés mineurs, l'eucalyptol (3,37%), l' α -phellandène (2,97%), l' α -thujène (2,63%), le myrcène (2,67%), le germacrène-D (2,50%), l' α -terpinène (2,18%), l' α -humulène (1,89%), le carvacrol (1,67%), l'oxyde caryophyllène (1,40%), le (E)- β -ocimène (1,23%), l'elemol (1,25%) et le limonène (1,21%) (Tableau 3).

Au total 23 composés ont été identifiés dans l'huile essentielle de *A. conyzoides* (Figure 41E). Le précocène (82,10%) était le plus dominant suivi du caryophyllène (8,50%) (Figure 40) ; tandis que les composés mineurs étaient le β -sesquiphellandène (1,42%) et le germacrène-D (1,30%) (Tableau 3).

Dans l'huile essentielle de *E. camaldulensis* (Figure 41F), 39 composés ont été identifiés, parmi lesquels, l'eucalyptol (59,55%), l' α -pinène (9,17%) et le limonène (8,76%) étaient les plus dominants (Figure 40), et les composés mineurs étaient le p-cymène (4,73%), l' α -

terpinéol (2,65%), le β -pinène (2,49%), l'aromadendrene (1,40%), le γ -terpinène (1,39%) et le terpinene-4-ol (1,14%) (Tableau 3).

Au total, 35 composés ont été identifiés dans l'huile essentielle de *Z. officinale* (Figure 41G) dont les principaux composés sont l'arcurcumene (16,67%), le camphène (12,70%), le zingibérène (8,40%), le β -bisabolène (7,83%), le β -sesquiphellandrène (5,34%) (Figure 40) tandis que l'eucalyptol (4,79%), l' α -pinène (4,14%), le β -phellandrène (2,46%), le limonène (2,08%), le bornéol (1,55%) et le géraniol (1,21%) ont été les composés minoritaires (Tableau 3).

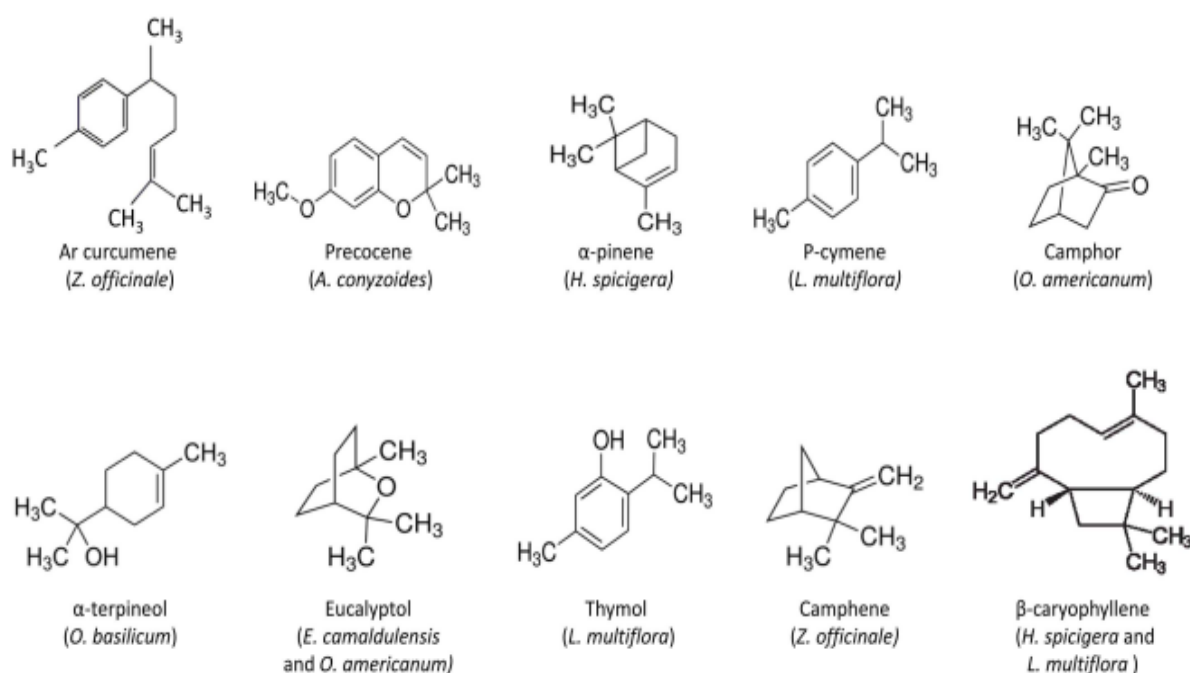


Figure 40: Structures chimiques des principaux composés présents dans les huiles essentielles analysés

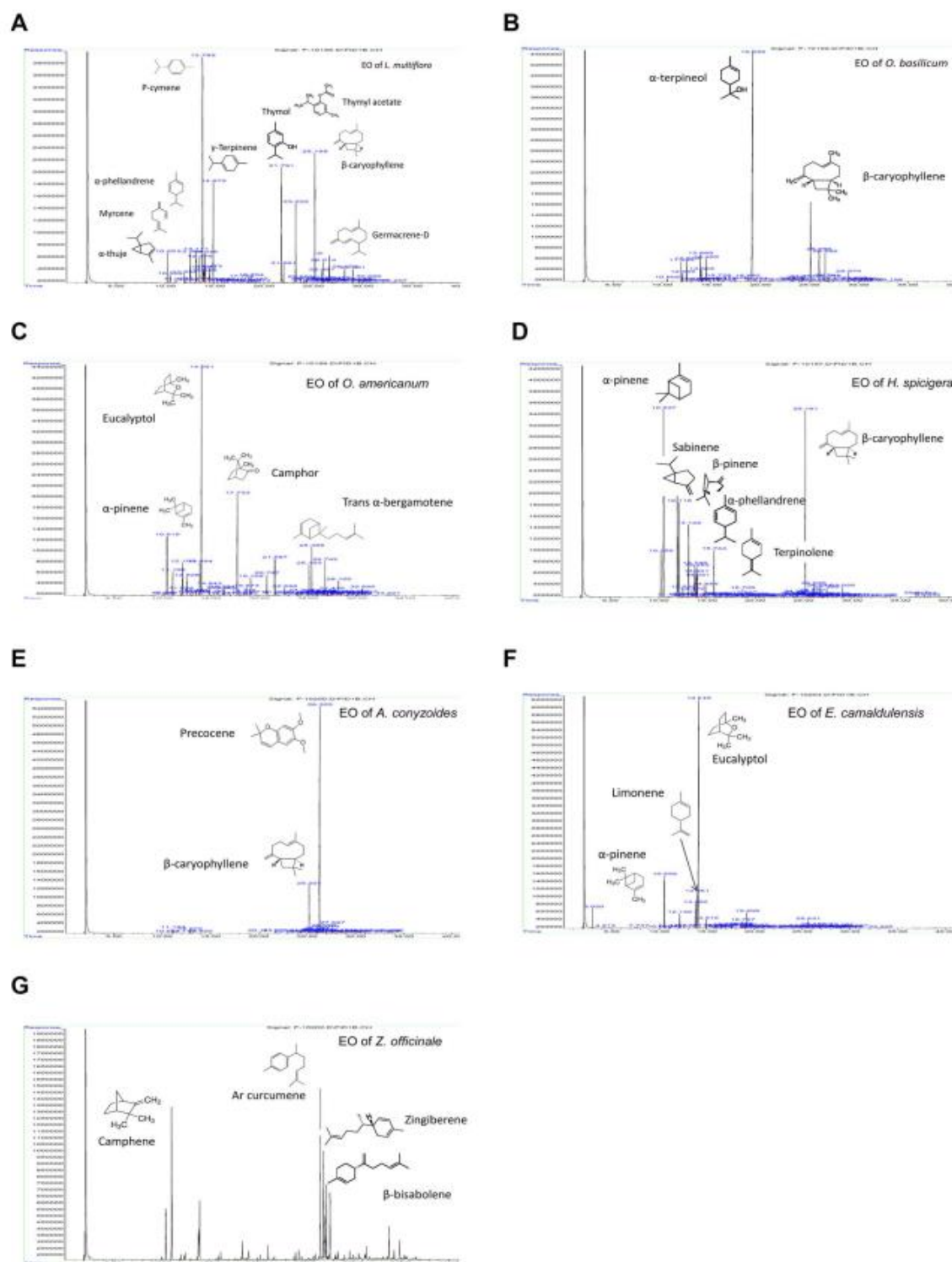


Figure 41: Chromatogrammes des différentes huiles essentielles avec leurs principaux composés identifiés
 A) *O. basilicum* ; B) *O. americanum* ; C) *H. spicigera* ; D) *L. multiflora* ; E) *A. conizoides* ;
 F) *A. calmdulensis* ; G) *Z. officinale*.

I.2 Activité antioxydante des différentes huiles essentielles

Afin de justifier l'utilisation de ces plantes dans la pharmacopée pour le traitement des maladies liées à l'oxydation, l'activité antioxydante des huiles essentielles de ces plantes et de la référence quercétine utilisée comme contrôle est consignée dans le tableau 4

Tableau 4: Activité antiradicalaire par la méthode DPPH et ABTS

	DPPH test	ABTS test
Huiles essentielles	% Inhibition	μMET/g
<i>O. basilicum</i>	55.67±3.38 ^A	0.69±0.03 ^B
<i>O. americanum</i>	15.90±5.73 ^C	0.48±0.01 ^C
<i>H. spicigera</i>	41.70±3.10 ^{A,B}	0.52±0.02 ^C
<i>L. multiflora</i>	42.23±2.73 ^{A,B}	1.02±0.02 ^A
<i>A. conyzoides</i>	32.37±4.25 ^{B,C}	0.53±0.02 ^C
<i>E. camaldulensis</i>	43.40±4.13 ^{A,B}	non déterminé
<i>Z. officinale</i>	36.10±3.51 ^{A,B,C}	0.34±0.03 ^D
Quercétine	73.13±5.25	8.96±0.07

DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl); ABTS (2,2'-azinobis [acide 3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique]); Les valeurs sont exprimées sous forme de valeurs moyennes ± écart type (n = 3 expériences en quadruplicat); L'activité DPPH est exprimée en pourcentage d'inhibition pour une concentration de 8mg/ml de chaque huile essentielle et l'activité ABTS est donnée en μM ET/g (10⁻³mol équivalent Throlox/g d'huile essentielle); La quercétine a été utilisée à une concentration de 100μg/ml pour le test DPPH et de 1mg/ml pour le test ABTS comme standard; les valeurs avec la même lettre dans chaque colonne peuvent être considérées comme identiques (p < 0,05).

I.3 Activité anti-inflammatoire des différentes huiles essentielles

Afin de justifier l'activité anti-inflammatoire présumée de ces plantes dans la pharmacopée, des tests ont été réalisés avec les huiles essentielles de ces plantes sur la Lipoxigénase, une enzyme impliquée dans l'inflammation. Les résultats des tests d'inhibition sont présentés dans le tableau 5. Toutes les huiles essentielles testées possèdent un effet inhibiteur de la Lipoxigénase dont les pourcentages d'inhibition sont présentés dans le Tableau 5.

Tableau 5: Pourcentage d'inhibition de la Lipoxgénase par les huiles essentielles

Huiles essentiels	* <i>O.</i> <i>basilicum</i>	* <i>O.</i> <i>americanum</i>	* <i>H.</i> <i>spicigera</i>	* <i>L.</i> <i>multiflora</i>	* <i>A.</i> <i>conyzoides</i>	* <i>E.</i> <i>camaldulensis</i>	** <i>Z.</i> <i>officinale</i>	***Quercetine (contrôle)
%								
Inhibition	98.2±6.1 ^C	31.6±16.2 ^D	75.1±10.6 ^C	96.9±4.0 ^C	48.3±19.1 ^D	96.4±3.3 ^C	50.9±0.2 ^B	52.32±0.65 ^A

Les valeurs sont exprimées sous forme de valeurs moyennes ± écart type (n = 3 expériences);

%, Pourcentage; *, 8mg/ml dans le milieu réactionnel; **, 0,4 mg / ml; ***, 100µg/ml dans le milieu réactionnel; A, B, C, D du plus actif au moins actif respectivement; les valeurs avec la même lettre peuvent être considérées comme identiques (p < 0,05).

1.4 Activité antiproliférative des huiles essentielles

A notre connaissance, jusqu' à ce jour, aucune étude n'avait encore été réalisée sur l'activité antiproliférative des huiles essentielles de ces plantes aromatiques du Burkina Faso. En effet, il s'agit là des premières études sur l'activité antiproliférative des huiles essentielles de *O. basilicum*, *O. americanum*, *H. spicigera*, *L. multiflora*, *A. conyzoides*, *E. camaldulensis* et *Z. officinale* du Burkina Faso. Les résultats ainsi obtenus sont consignés dans le tableau 6.

Tableau 6: IC₅₀ des huiles essentielles testées sur les lignées LNCaP et PC-3 du cancer de la prostate, et les lignées SF-767 et SF-763 de glioblastome.

Huiles essentielles	IC ₅₀ (µg/ml)			
	Cancer de la Prostate		Glioblastome	
	LNCaP	PC-3	SF-767	SF-763
<i>O. basilicum</i>	460±110 ^{A,B}	450±70 ^B	300±50 ^A	430±100 ^A
<i>O. americanum</i>	non actif	non actif	non actif	non actif
<i>H. spicigera</i>	non actif	non actif	non actif	non actif
<i>L. multiflora</i>	580±140 ^B	300±30 ^A	310±20 ^{A,B}	470±140 ^A
<i>A. conyzoides</i>	350±30 ^A	490±80 ^B	430±90 ^{B,C}	380±60 ^A
<i>E. camaldulensis</i>	non actif	non actif	non actif	non actif
<i>Z. officinale</i>	380±110 ^A	420±50 ^B	480±90 ^C	440±80 ^A

Troisième partie-Chapitre 6

IC₅₀, concentration inhibitrice 50; Les valeurs sont exprimées en valeurs moyennes \pm écart type (n = 3 expériences en octuplets); les valeurs avec la même lettre dans chaque colonne peuvent être considérées comme identiques (p < 0,05)

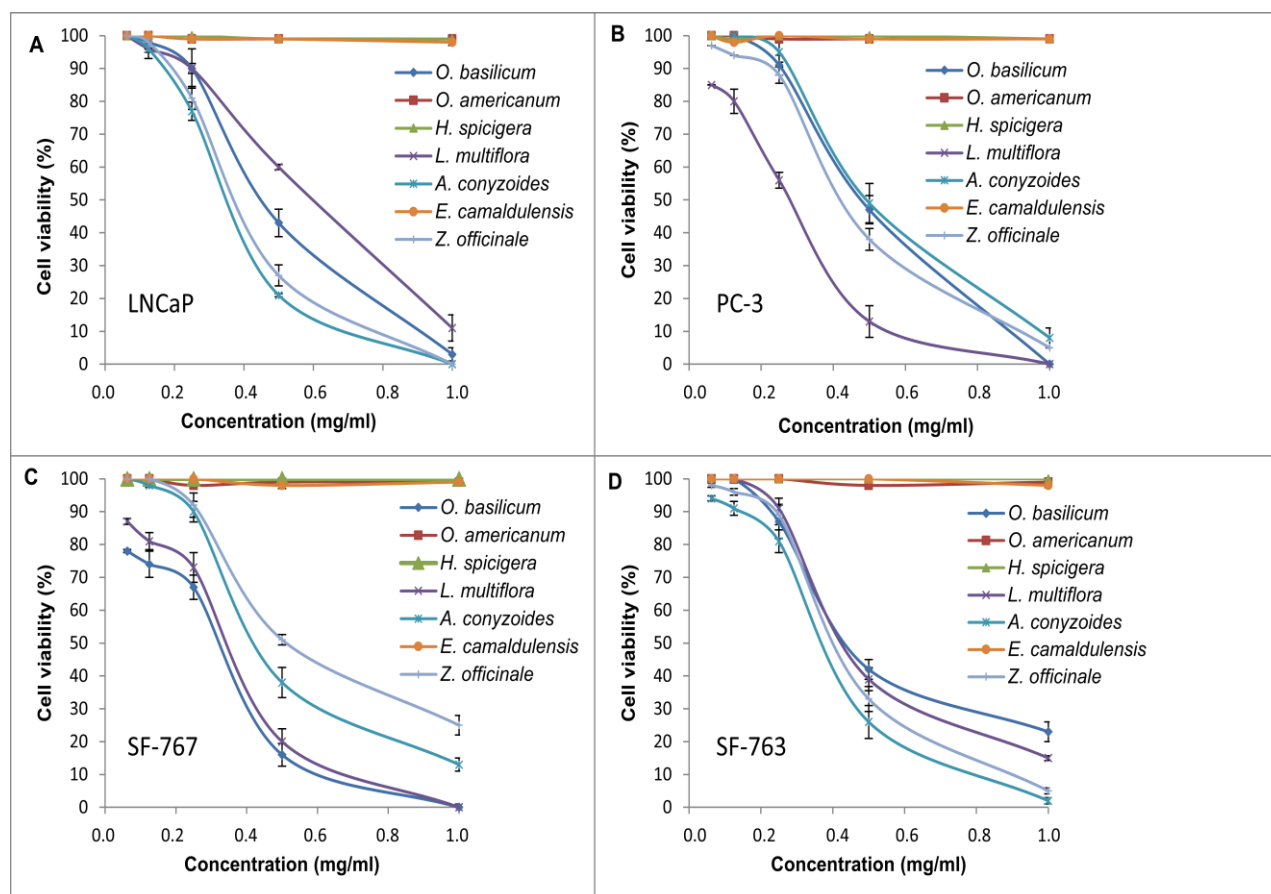


Figure 42: Concentration-dépendante de l'activité anti-proliférative des huiles essentielles après 72 heures d'induction

A cellules LNCaP; B) cellules PC-3; C) des cellules SF- 767; D) les cellules SF- 763. Les expériences ont été effectuées 3 fois en octuplets

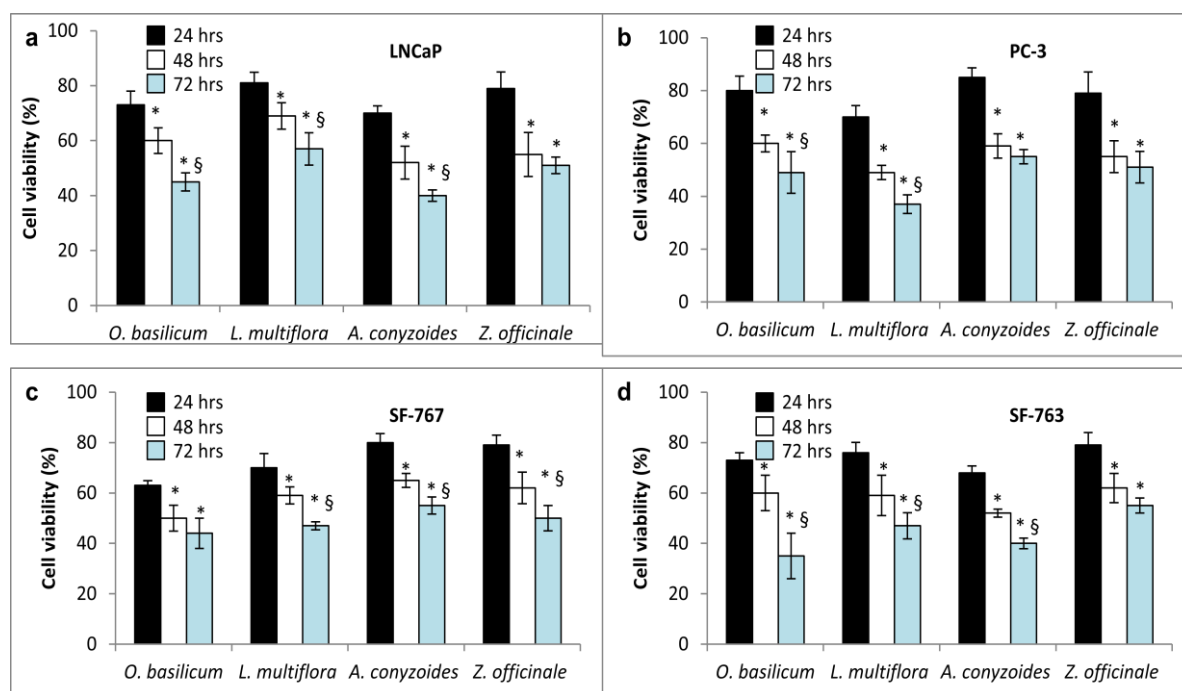


Figure 43: Temps-dépendant de l'activité anti-proliférative des huiles essentielles après 24, 48 et 72 heures d'induction.

Les cellules ont été incubées à la concentration IC_{50} de chaque huile essentielle. a, les cellules LNCaP ; b, les cellules PC-3 ; c, les cellules SF- 767 et d, les cellules SF- 763. *, $p < 0,05$ par rapport aux 24 heures de traitement ; §, $p < 0,05$ par rapport aux 48 heures de traitement. Les expériences ont été effectuées 3 fois en octuplets.

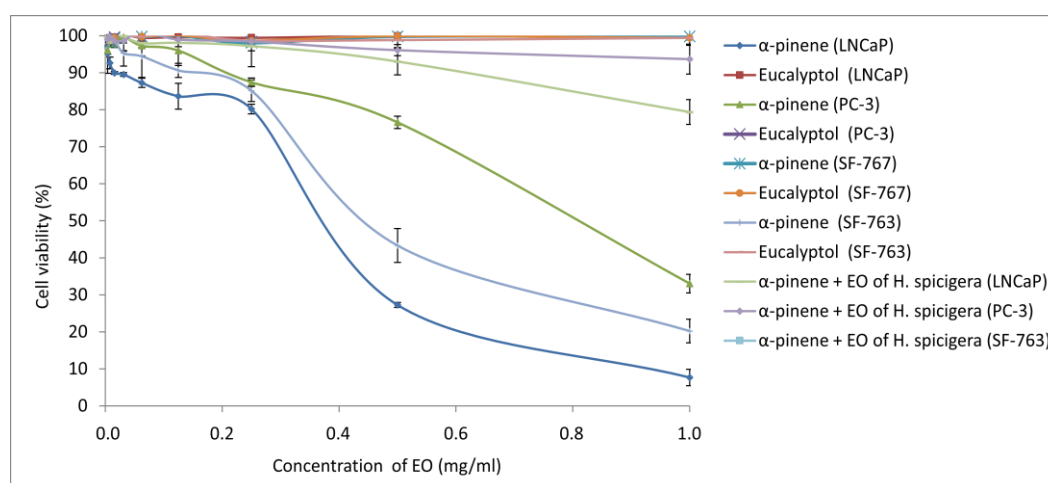


Figure 44: Activité anti-proliférative concentration-dépendante de composés majoritaires purifiés et de leur combinaison avec les huiles essentielles

Les tests ont été effectués sur les lignées cellulaires LNCaP et PC- 3 du cancer de la prostate, et les lignées SF-767 et SF-763 de glioblastome. Les expériences ont été effectuées 3 fois en octuplets.

II. DEUXIEME PARTIE DE L'ETUDE : RESULTATS DU DEUXIEME ARTICLE

Anti-Cancer activity of two cymbopogon spices essential oils, their combination and the major Compound citral.

Bagora BAYALA^{1,4,5,6,7}, Imaël H. N. BASSOLE³, Charlemagne GNOULA^{1,8}, Laurent MOREL^{4,5,6,7}, Jean-Marc A. LOBACCARO^{4,5,6,7*}, Jacques SIMPORE^{1,2*}

II.1 Composition des huiles essentielles de *C. giganteus* et de *C. citratus*

L'analyse chimique des huiles essentielles de *Cymbopogon giganteus* et de *Cymbopogon citratus* donne plusieurs composés (Figure 46) dont les structures chimiques des principaux composés sont présentées sur la Figure 45. La composition en pourcentage des composés de ces huiles essentielles sont répertoriés dans le tableau 7. Brièvement, ces huiles essentielles contiennent principalement un mélange complexe d'hydrocarbures monoterpènes et oxygénés, des hydrocarbures sesquiterpéniques et oxygénés, des composés acycliques, cycliques, bicycliques et tricycliques terpènes (Tableau 7). Les terpènes oxygénés ont été dominants dans les huiles essentielles de *C. giganteus* et *C. citratus* principalement des monoterpènes oxygénées (Tableau 7). Les terpènes acycliques sont les plus abondants dans les huiles essentielles de *C. citratus* tandis que dans les huiles essentielles de *C. giganteus*, les terpènes cycliques sont les plus abondants (Tableau 7).

Un total de 33 composés ont été identifiés dans l'huile essentielle de *C. giganteus* (Figure 46) dont les composés majoritaires étaient limonène (19,33%), le mentha-1(7),8-dien-2-ol cis (17,34%), le mentha-1(7),8-dien-2-ol trans (13,95%), le mentha-2,8-Diène-1-ol trans-para (13,91%), mentha-2,8-Diène-1-ol cis-para (8,10%) (Figure 45), deux composés isomères à spectre de masse MW 152 et MW 152 isomère ayant des pourcentages respectifs de 4,97% et de 4,7%, et les composés mineurs étaient le carvone (3,18%), 4-caranone cis (2,32%), linalool (1,39%), eucalyptol (1,16%) (Tableau 7).

Dans l'huile essentielle de *C. citratus*, ont été identifiés 15 composés (Figure 46). Parmi ces composés, le géraniol (48,18%), le néral (34,37%) et le myrcène (5,37%) étaient les composés majoritaires (Figure 45), et le géraniol (3,27%) et l'isogéraniol (1,07%) les composés minoritaires (Tableau 7).

Troisième partie-Chapitre 6

Tableau 7: Composition chimique des huiles essentielles de *Cymbopogon giganteus* et de *Cymbopogon citratus*.

Composés	Temps de Retention (min)	<i>C. giganteus</i>	<i>C. citratus</i>
		Pourcentage (%)	Pourcentage (%)
Alpha pinène	10,52	0.131	---
Camphène	12.12	0.108	---
6-Methyl-5-Heptèn-2-one	12.434	---	0.899
Myrcene	12.56	0.153	5.367
Menthatriène-1 ,3,8-para	13.09	0.373	---
Para-Cymène	13.76	0.818	---
Limonène	13.95	19.329	---
Eucalyptol	14.06	1.162	0.158
Para-cymenène	15.94	0.396	---
Perillène	16,15	---	0.163
Linalool	16.26	1.387	0.695
Mentha-2,8-Diène-1-ol trans-para	17.00	13.914	---
Cis-limonène oxide	17.29	0.124	---
Mentha-2,8-Diene-1-ol cis-para	17.44	8 .104	---
Camphre	17.76	0.373	
Citronellal	17.815	---	0.122
Trans limonène oxide	17.85	0.009	---
Verbenol trans	18.08	---	0.511
Isogeranial	18,63	---	1.074
Mentha-1(7),8-dièn-2-ol cis	18.99	17.338	---
Cis Dihydrocarvone	19.26	0.322	---
MW 152 (non identifié)	19.32	4.966	---
Trans Dihydrocarvone	19.45	0.196	---
4-Caranone cis	19.51	2.316	---
MW 152 isomer (non identifié)	19.83	4.697	
Citronellol	19.930	---	0.142
Mentha-1(7),8-dièn-2-ol trans	20.18	13.953	
Néral	20,38	---	34.374
Carvone	20.57	3.176	---
Géraniol	20.656	---	3.269
Geranial	21.223	---	48.179
Bornyl acetate	21.64	0.232	---
Geranyl formate	21.919	---	0.093
Neric acid	23.327	---	0.859
Geranyl acetate	23.988	---	0.425
β-caryophyllène	25.15	0.348	---
α-bergamotène trans	25.43	0.445	---
α-cubebène	25.61	0.141	---
Aromadendrene	26.13	0.138	---
α-farnesène	26.78	0.177	---

Troisième partie-Chapitre 6

Viridiflorène	26.86	0.069	---
Bicyclogermacrène	26.97	0.165	---
Spathulenol	28.88	0.097	---
Caryophyllène oxide	29.02	0.151	---
Epi globulol	29.29	0.144	---
TOTAL		95.452	96.33
Monoterpènes hydrocarbones		21.308	5.53
Sesquiterpène hydrocarbones		1.483	0
Terpènes Oxygénées		54.894	90.8
Monoterpène Oxygénées		54.502	90.8
Sesquiterpene Oxygénées		0.392	0
Monoterpène alcools		46.592	4.617
Monoterpènes aldéhydes		0	83.749
Terpènes Acycliques		2.09	95.498
Terpènes Cycliques		70.875	0.158
Terpènes Bicycliques		4.269	0.674
Terpènes Tricycliques		0.241	0

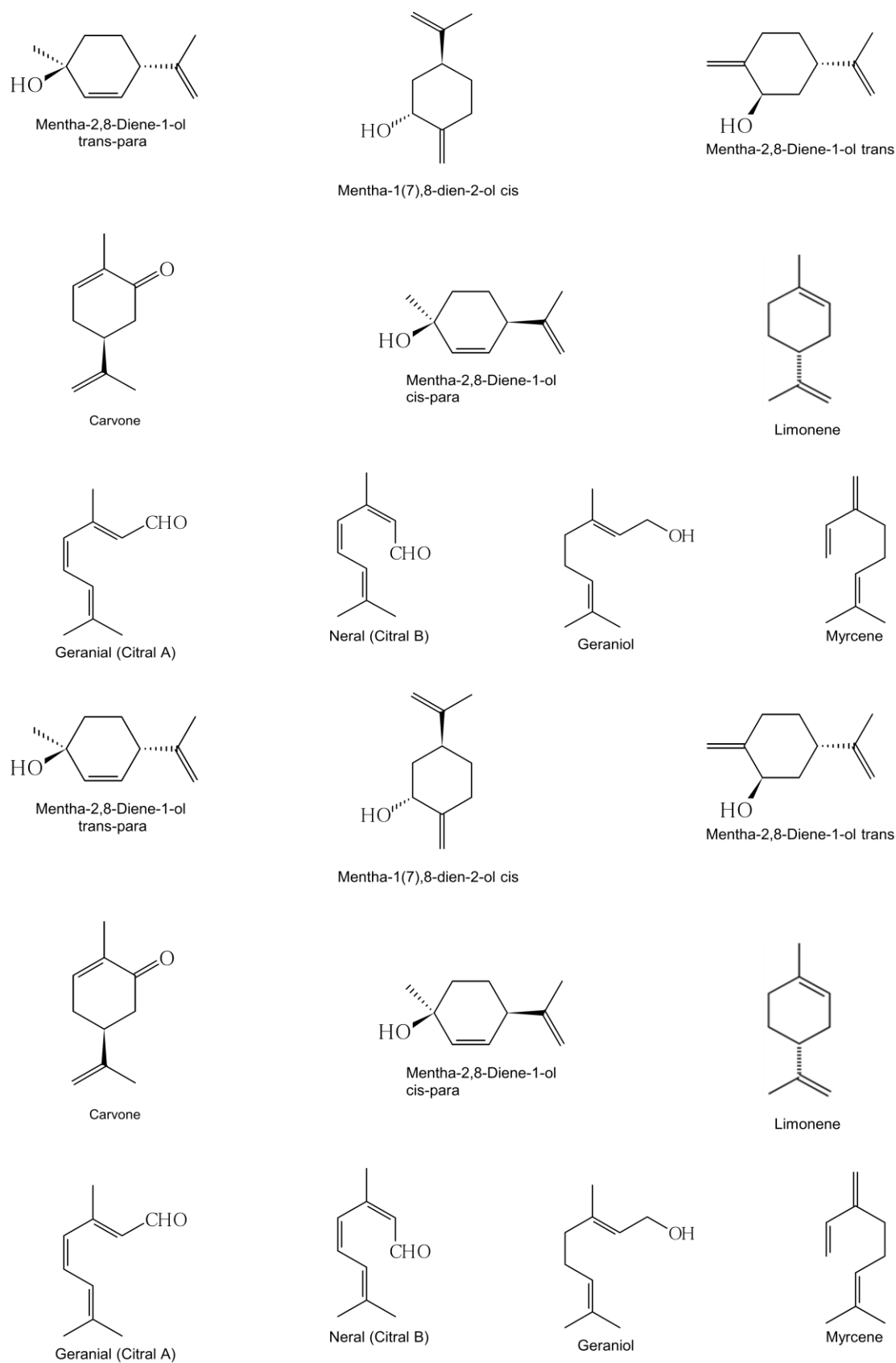
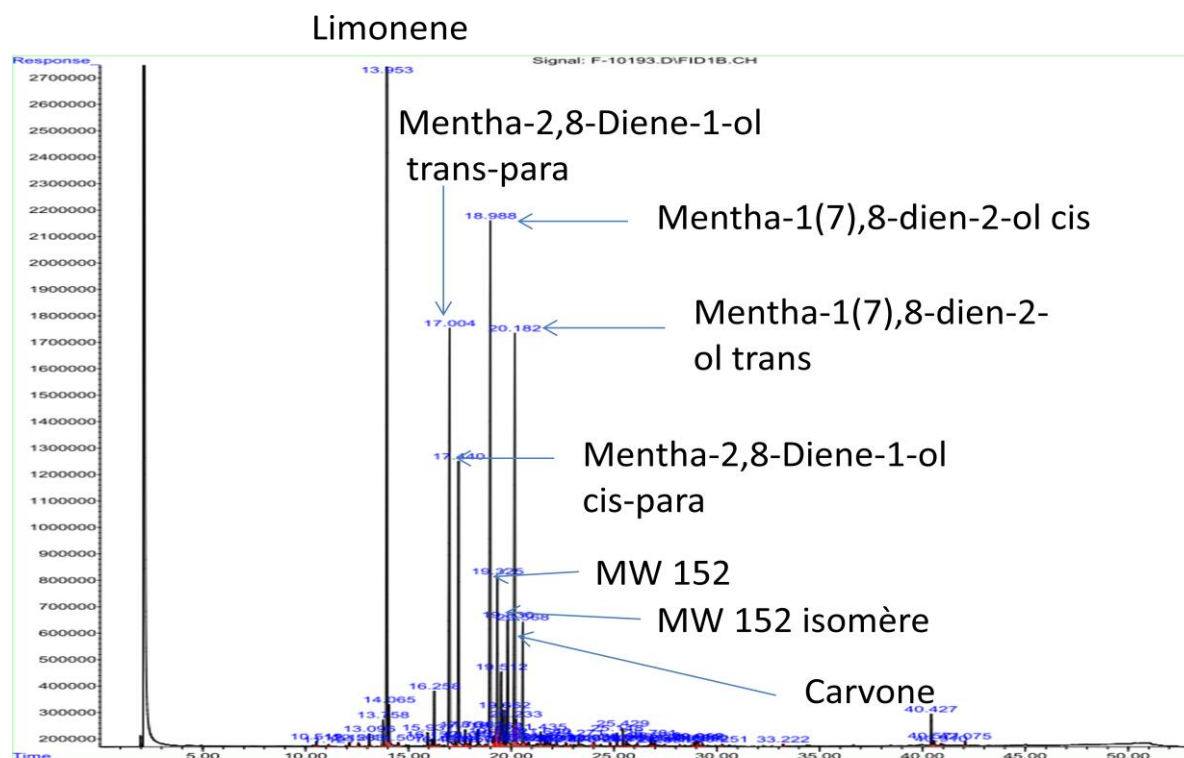
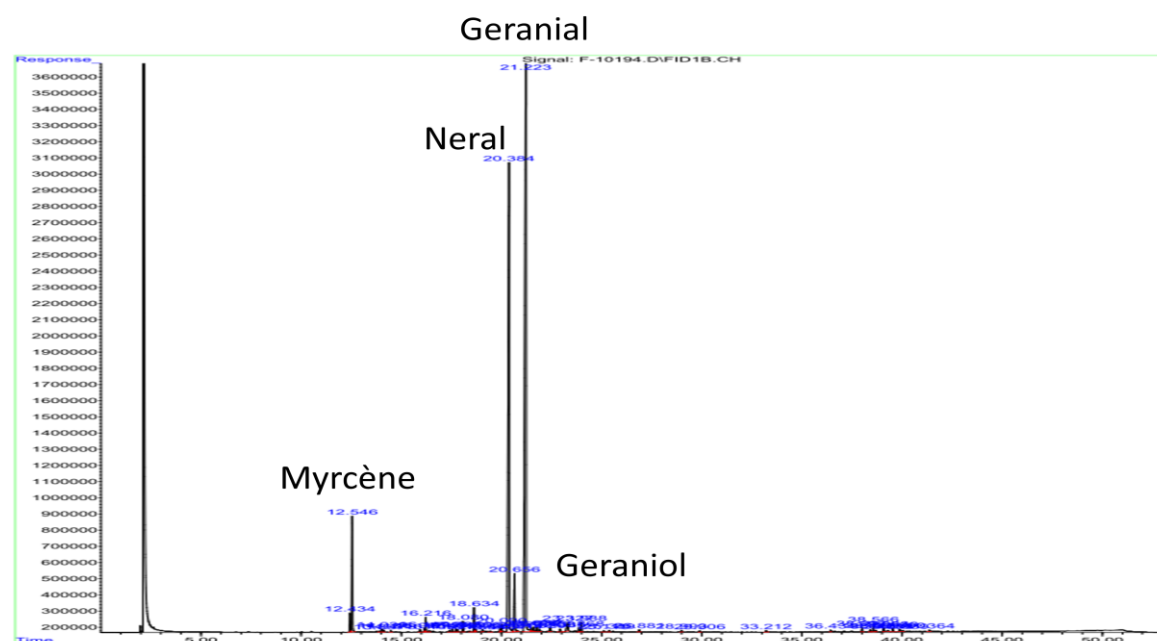


Figure 45: Structures chimiques des principaux composés présents dans les huiles essentielles de *C. giganteus* et de *C. citratus*



C. giganteus



C. citratus

Figure 46: Chromatogrammes de l'huile essentielle de *C. giganteus* et de *C. citratus* avec leurs principaux composés identifiés

II.2 Activité antioxydante et anti-inflammatoire de l'huile essentielle de C. giganteus et C. citratus

C. giganteus et *C. citratus* sont largement utilisées dans la médecine traditionnelle pour le traitement de diverses pathologies dont certaines d'entre elles sont liées à l'oxydation et à l'inflammation. Cette partie de l'étude a été consacrée à l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante et anti-inflammatoire des huiles essentielles de ces deux plantes. Les résultats ainsi obtenus sont consignés dans le tableau 8. Les huiles essentielles *C. giganteus* et *C. citratus* testées possèdent un effet inhibiteur de la lipoxigénase traduit par les pourcentages d'inhibition enregistrés (Tableau 8).

Tableau 8: Activités antioxydante et anti-inflammatoire de l'huile essentielle de *C. giganteus* et *C. citratus*.

	Activité antioxydante		Activité anti-inflammatoire		
	DPPH test		ABTS test	Inhibition de la Lipoxigenase	
Huiles essentielles	Concentration	% Inhibition	μMET/g	% Inhibition	Concentration
<i>C. giganteus</i>	8mg/ml	28,04±2,5 ^B	0,59±0,16 ^A	0,8mg/ml	98,22±3,72
<i>C. citratus</i>	8mg/ml	67,58±3,1 ^A	0,318±0,21 ^B	8 mg/ml	98,54±4

DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl); ABTS (2,2'-azinobis [acide 3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique]); les valeurs sont exprimées sous forme de valeurs moyennes ± écart type (n = 3 expériences en quadruplicat); l'activité DPPH est exprimée en pourcentage d'inhibition et l'activité ABTS est donnée en μM ET/g (10⁻³ mol équivalent Throlox/g d'huile essentielle); les valeurs avec la même lettre dans chaque colonne peuvent être considérées comme identiques (p < 0,05). Concernant l'activité anti-lipoxigénase, les valeurs sont exprimées sous forme de valeurs moyennes ± écart type (n = 3 expériences); %, Pourcentage.

II.3 Activité antiproliférative des huiles essentielles de C. giganteus et de C. citratus

Cette partie de l'étude met en évidence l'activité antiproliférative des huiles essentielle de *C. giganteus* et de *C. citratus* sur les lignées LNCaP et PC-3 du cancer de la prostate et les lignées cellulaires SF-767 et SF-763 du glioblastome (Tableau 9). Les huiles essentielles de ces deux plantes ont présenté une activité antiproliférative aussi bien sur les lignées LNCaP et PC-3 du cancer de la prostate que celles SF-767 et SF-763 du glioblastome. La combinaison de ces huiles et le citral ont également été antiprolifératifs sur ces cellules.

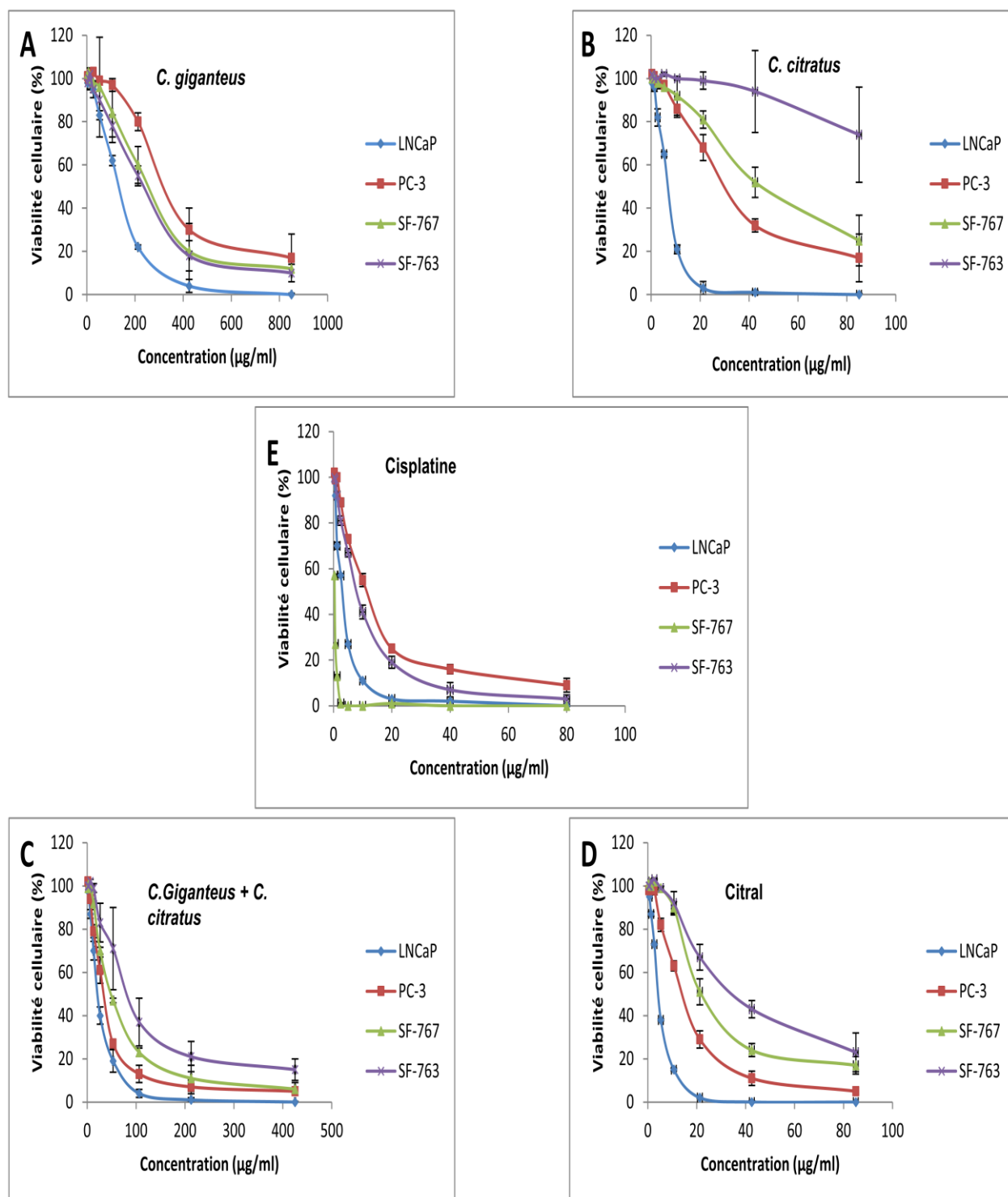


Figure 47: Concentration-dépendante de l'activité anti-proliférative des huiles essentielles, et composés après 72 heures d'induction des cellules LNCaP, PC-3 du cancer de la prostate, et SF- 767 et SF- 763 du glioblastome

A) *C. giganteus*; B) *C. citratus*; C) *C. giganteus + C. citratus*; D) Citral et E) Cisplatine (control). Les expériences ont été effectuées 3 fois en sextuplets.

Troisième partie-Chapitre 6

Tableau 9: IC₅₀ des huiles essentielles et composés testés sur les cellules LNCaP et PC-3 du cancer de la prostate et sur les lignées cellulaires SF-767 et SF-763 de glioblastome.

Huiles essentielles	IC ₅₀ (µg/ml)			
	Cancer de la Prostate		Glioblastome	
	LNCaP	PC-3	SF-767	SF-763
<i>C. giganteus</i>	160,06±1,16 ^D	303,23±21,5 ^C	255,06±39,5 ^D	217,01±13,6 ^E
<i>C. citratus</i>	6,36±2,7 ^B	32,1±9,1 ^B	45,13±19,3 ^C	172,05±25,6 ^D
<i>C. giganteus</i> + <i>C. citratus</i>	23,67±3,5 ^C	29,02±7,7 ^B	52,76±0,1 ^C	90,5±17,8 ^C
Valeurs FIC	3,87	1	1,38	0,94
Interactions	antagonisme	addition	indifférence	synergisme
Composés				
Citral	4,32±0,1 ^B	14,3±4,2 ^A	22,35±5,02 ^B	35,27±11 ^B
Cisplatine (contrôle)	2,91±0,4 ^A	11,2±1,2 ^A	0,38±0,2 ^A	8,18±2,3 ^A

Concentration inhibitrice 50 (IC₅₀). Les valeurs sont exprimées en valeurs moyennes ± écart type (n = 3 expériences sextuplet); les valeurs avec la même lettre dans chaque colonne peuvent être considérées comme identiques (p < 0,05)

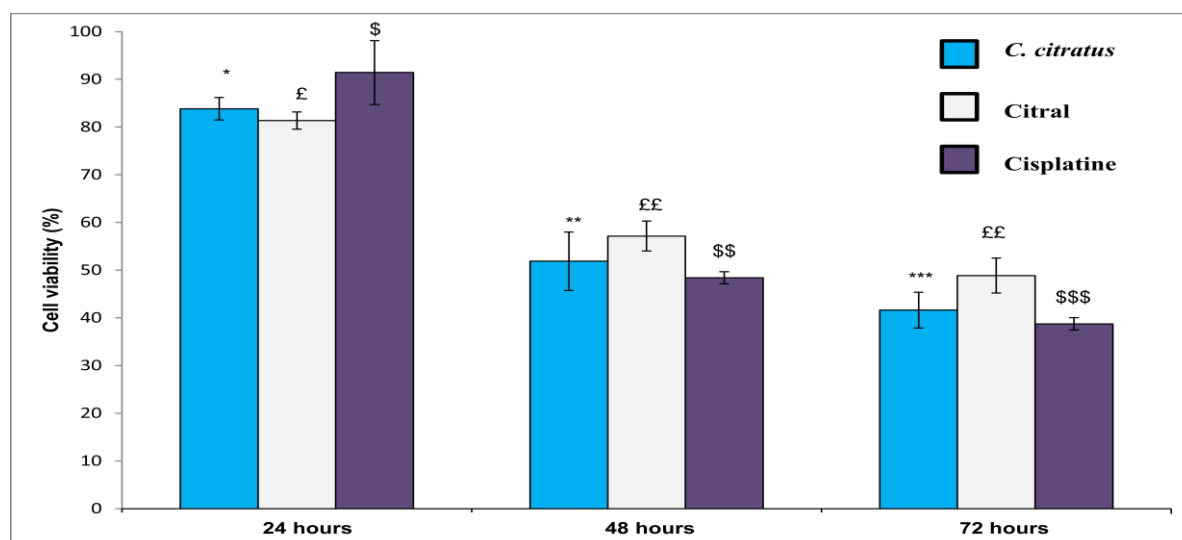


Figure 48: Activité anti-proliférative de l'huile essentielle de *C. citratus*, du Citral et du Cisplatine après 24, 48 et 72 heures d'induction des cellules LNCaP du cancer de la Prostate

Les cellules ont été incubées à la IC₅₀ de *C. citratus*, du Citral et du Cisplatine; **, £ £, \$ \$, p < 0,05 par rapport à 24 heures de traitement; ***, £ £ £, \$ \$ \$, p < 0,05 par rapport aux 48 heures de traitement. Les expériences ont été effectuées 3 fois dans des sextuplets.

La cytotoxicité de l'huile essentielle de *C. citratus*, du citral et du cisplatine semble être sélective vue la variabilité des effets antiprolifératifs de ces composés sur les différentes lignées des différents types de cancers (Tableau 9). Afin de confirmer cette sélectivité des

Troisième partie-Chapitre 6

cellules MPE constituées de cellules LXR $+/+$ non cancéreuses et moins proliférantes et de cellules LXR $-/-$, cancéreuses et très proliférantes ont été utilisées pour des tests de confirmation (Tableau 10).

Tableau 10: IC₅₀ des huiles essentielles et composés testés sur LXR $+/+$ et LXR $-/-$ de la prostate dorsale de souris.

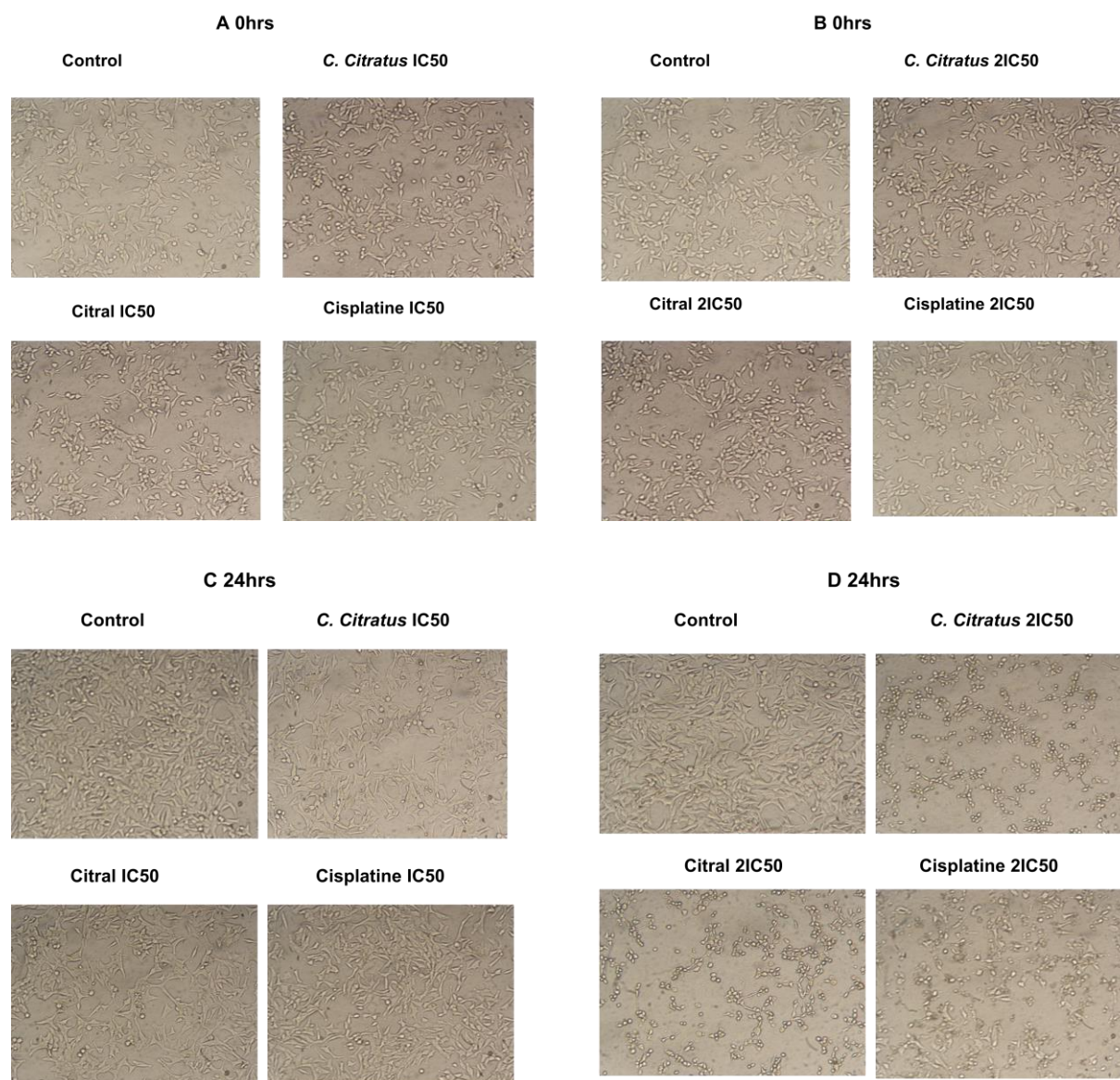
IC ₅₀ (µg/ml)		
Huile essentielle et composés	Lignées cellulaires	
	LXR $+/+$	LXR $-/-$
<i>C. citratus</i>	15,02±1,59 ^C	10,43±1,14 ^C
Citral	10,40±2,45 ^B	6,97±1,56 ^B
Cisplatine	4,29±2,29 ^A	1,58±0,6 ^A

Concentration inhibitrice 50 (IC₅₀). Les valeurs sont exprimées en valeurs moyennes ± écart type (n = 3 expériences en sextuplet); les valeurs avec la même lettre dans chaque colonne peuvent être considérées comme identiques (p < 0,05).

III. TROIXIEME PARTIE DE L'ETUDE : RESULTATS DU TROIXIEME ARTICLE

III.1 Action des huiles de *C. citratus*, du citral et du cisplatine sur la morphologie cellulaire

Les concentrations inhibitrices 50 (IC₅₀) de l'huile essentielle de *C. citratus*, du citral son composé majoritaire, et du cisplatine (control positif) ont été utilisées pour induire les lignées cellulaires LNCaP du cancer de la prostate afin d'observer leur action sur la morphologie de ces cellules (Figure 49).



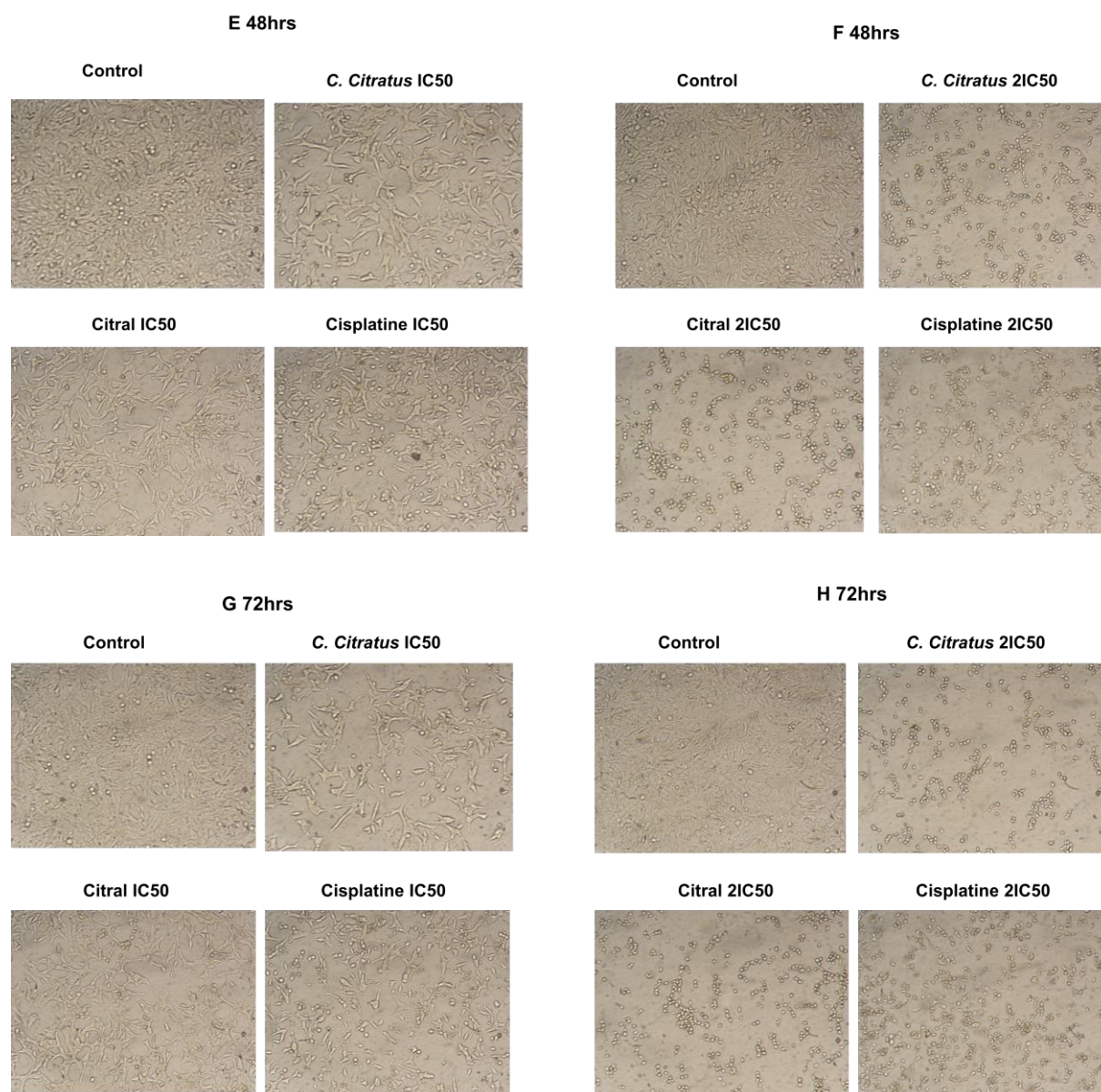


Figure 49: Photo de l'action de l'huile essentielle de *C. citratus*, du Citral et du Cisplatine sur la morphologie cellulaire

A0hrs : Début de l'induction à l'IC₅₀ par rapport à un contrôle non induit; B0hrs : Début de l'induction avec 2xIC₅₀ ; C24hrs : temps correspondant à 24heures après l'induction à l'IC₅₀ ; D24hrs : temps correspondant à 24heures après l'induction avec 2xIC₅₀ ; E48hrs : temps correspondant à 48heures après l'induction à l'IC₅₀ ; F48hrs : temps correspondant à 48heures après l'induction avec 2xIC₅₀ ; G72hrs : temps correspondant à 72heures après l'induction à l'IC₅₀ ; H72hrs : temps correspondant à 72heures après l'induction avec 2xIC₅₀. Les cellules ont d'abord étéensemencées 24heures avant l'induction.

III.2 Action de l'huile essentielle de *C. citratus*, du citral et du cisplatine sur la résistance à l'anoïkis

L'incapacité des cellules cancéreuses à mourir explique l'émergence de cancers et la résistance de certaines tumeurs aux traitements chimiothérapeutiques. Ainsi l'action de l'huile essentielle de *C. citratus*, et du citral son composé majoritaire sur la résistance à l'anoïkis des cellules LNCaP est présenté sur la figure 50 et la quantification des clones sur la figure 51. Contrairement au contrôle, aucun clone n'a été observé dans les puits induits avec l'huile essentielle de *C. citratus*, le citral et le cisplatine.

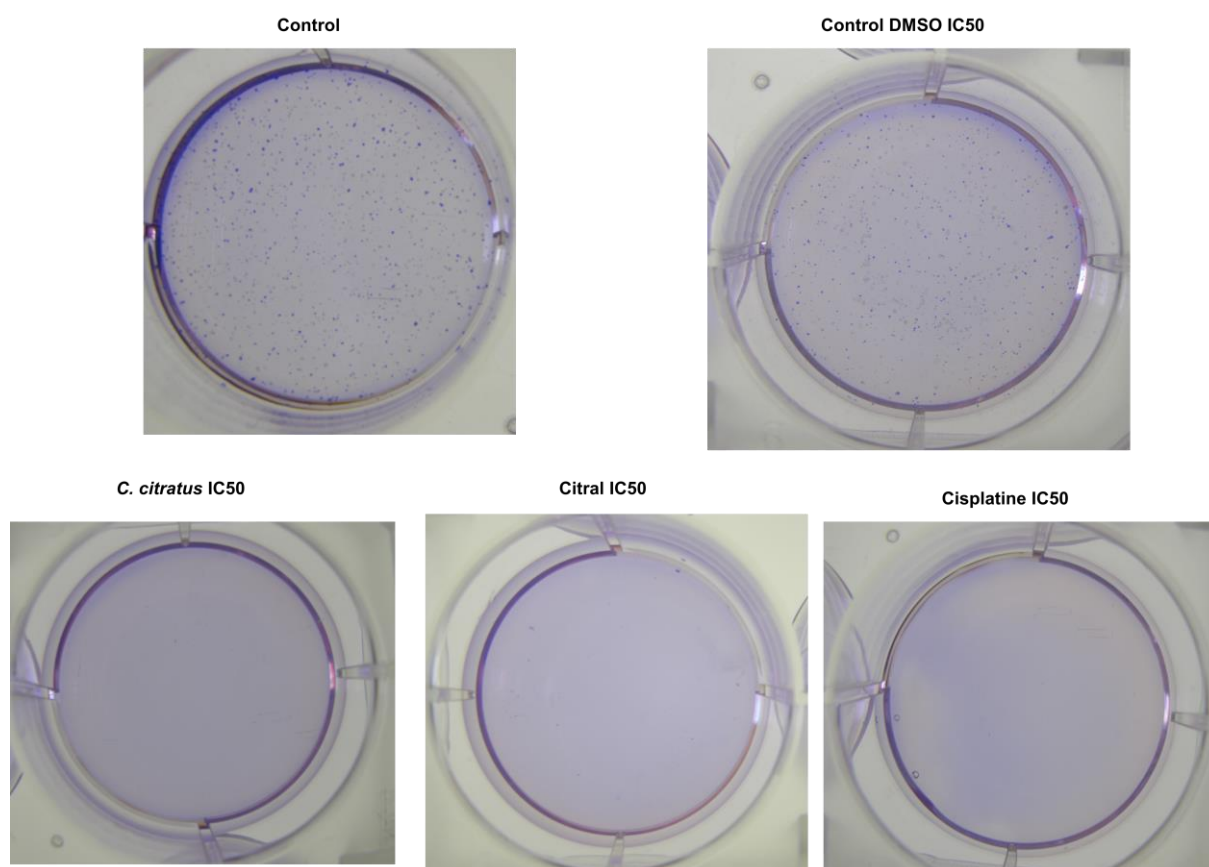


Figure 50: Photo de la mise en évidence de la résistance à l'anoïkis

Mise en évidence de la présence ou absence de clones formés après 15 jours d'induction des cellules LNCaP du cancer de la prostate ; Les cellulesensemencées et induites 24 heures après ensemencement, à la concentration inhibitrice 50 de chaque composé, ont été récoltées puisensemencées à nouveau dans la base Agar et induites 2 fois par semaine pendant 15 jours.

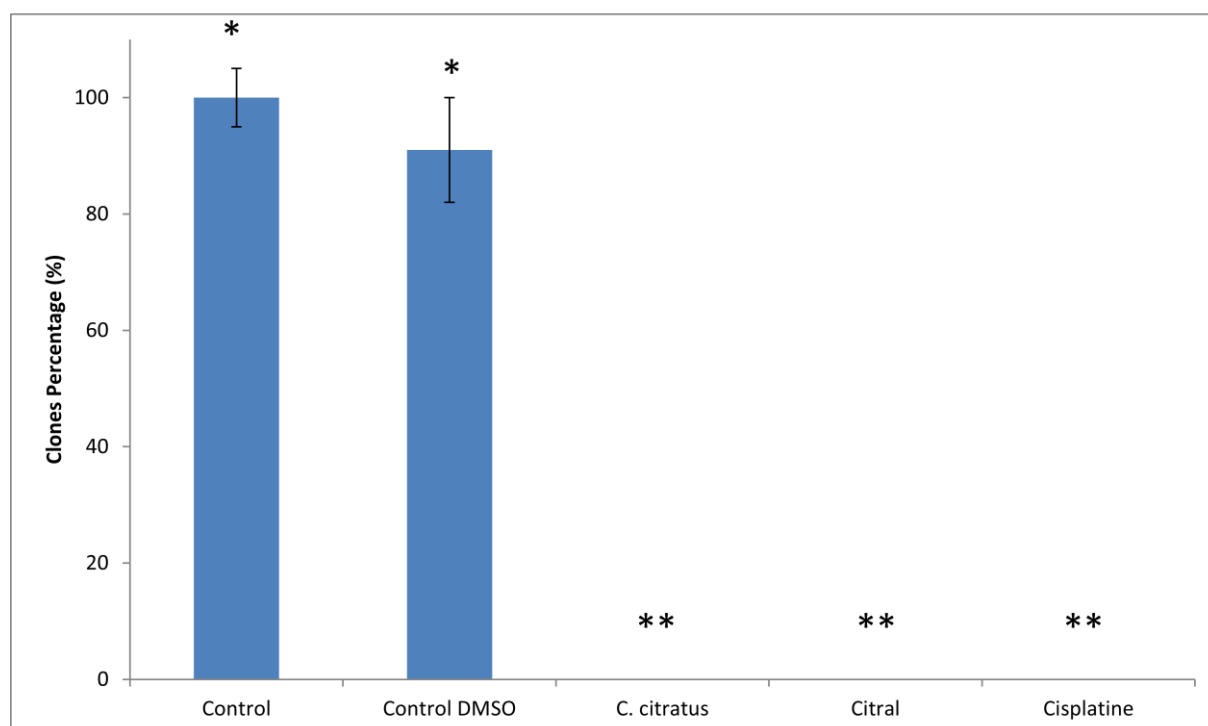


Figure 51: Pourcentage de clones formés après 15 jours d'induction

Les valeurs sont exprimées en valeurs moyennes \pm écart type (n = 3 expériences en triplet); * ou **, pour valeurs non significativement différents ; * et **, pour les valeurs significativement différentes ($p < 0,05$)

III.3 Action de l'huile essentielle de C. citratus, du Citral et du Cisplatine sur la migration des cellules LNCaP

La formation des métastases au cours de l'évolution du cancer s'explique par la capacité des cellules à migrer. Cette partie de l'étude a permis de tester l'action des huiles essentielles de *C. citratus* et de son composé majoritaire, le citral sur la migration des cellules LNCaP du cancer de la prostate (Figure 52). Cette activité a été quantifiée et présentée sur la Figure 53.

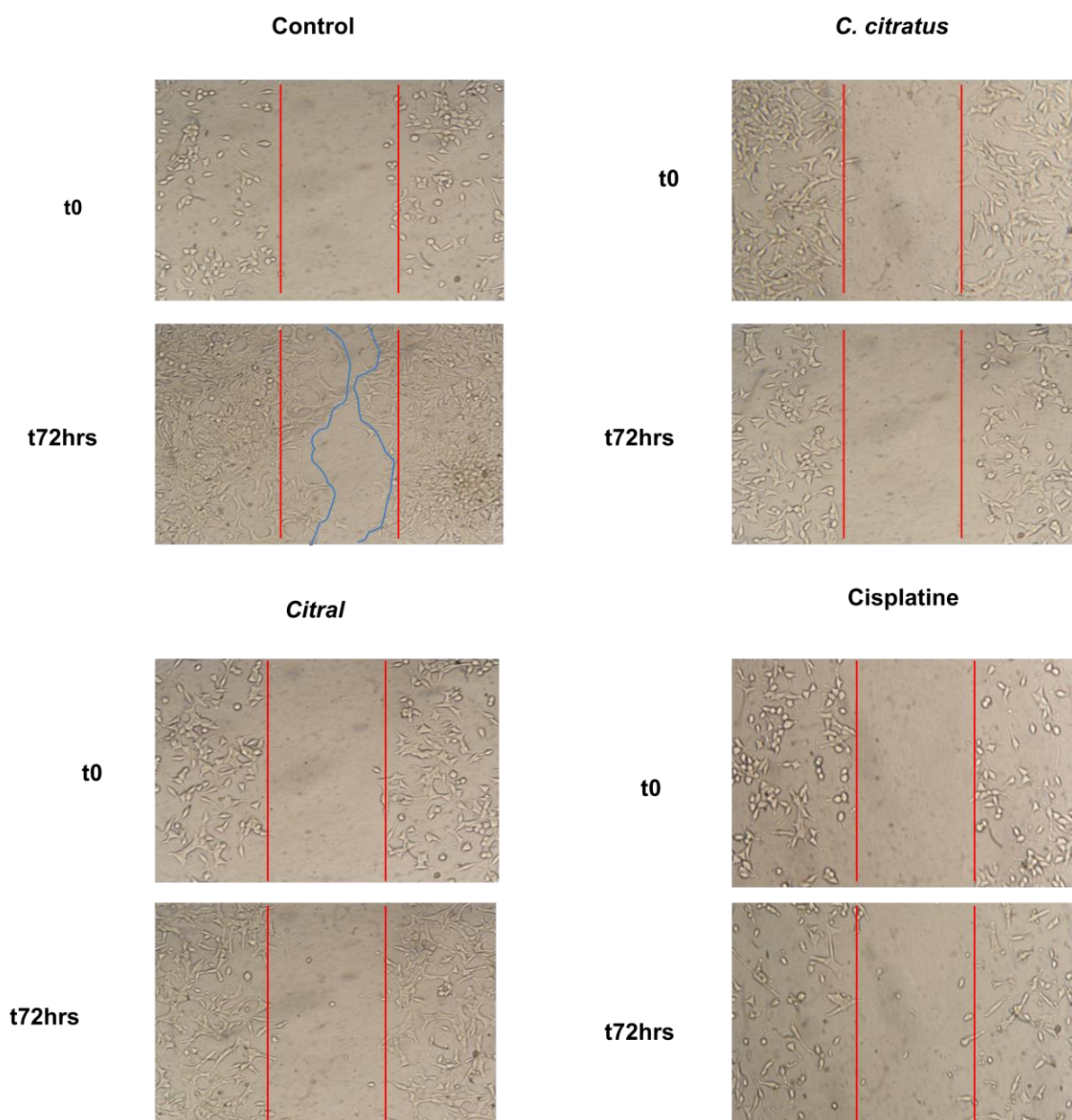


Figure 52: Photo du test de Scratch

Comblement ou non de la brèche faite sur les cellules LNCaP du cancer de la prostate après 24 heures d'ensemencement suite à l'induction pendant 72 heures d'incubation par la IC_{50} de l'huile essentielle de *C. citratus*, du citral et du cisplatine

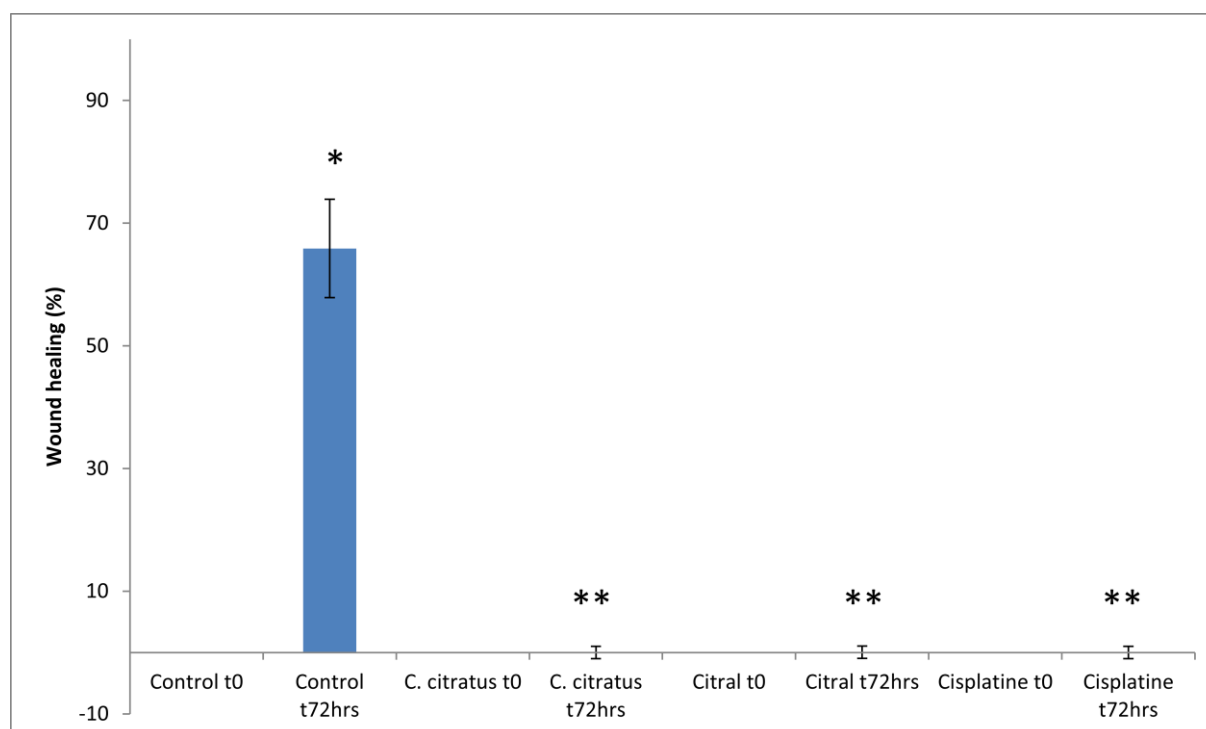


Figure 53: Quantification du pourcentage de la brèche comblée du test de scratch

Les valeurs sont exprimées en valeurs moyennes \pm écart type ($n = 3$ expériences en triplet); * et ** pour les valeurs significativement différentes ; **, pour les valeurs non significativement différentes ($p < 0,05$).

III.4 Analyse des protéines par Western Blot

L'analyse des protéines (Figure 54) a été réalisée afin de déterminer le mécanisme mis en jeu par l'huile essentielle de *C. citratus* et le citral son composé majoritaire pour lutter contre la prolifération, la résistance à l'anoikis et contre la migration des cellules du cancer de la prostate. En effet les cellules LNCaP du cancer de la prostate ont été induites avec l'IC₅₀ de l'huile essentielle de *C. citratus*, du citral et du cisplatine. Les protéines extraites et analysées par western blot ont également été quantifiées (Figure 55).

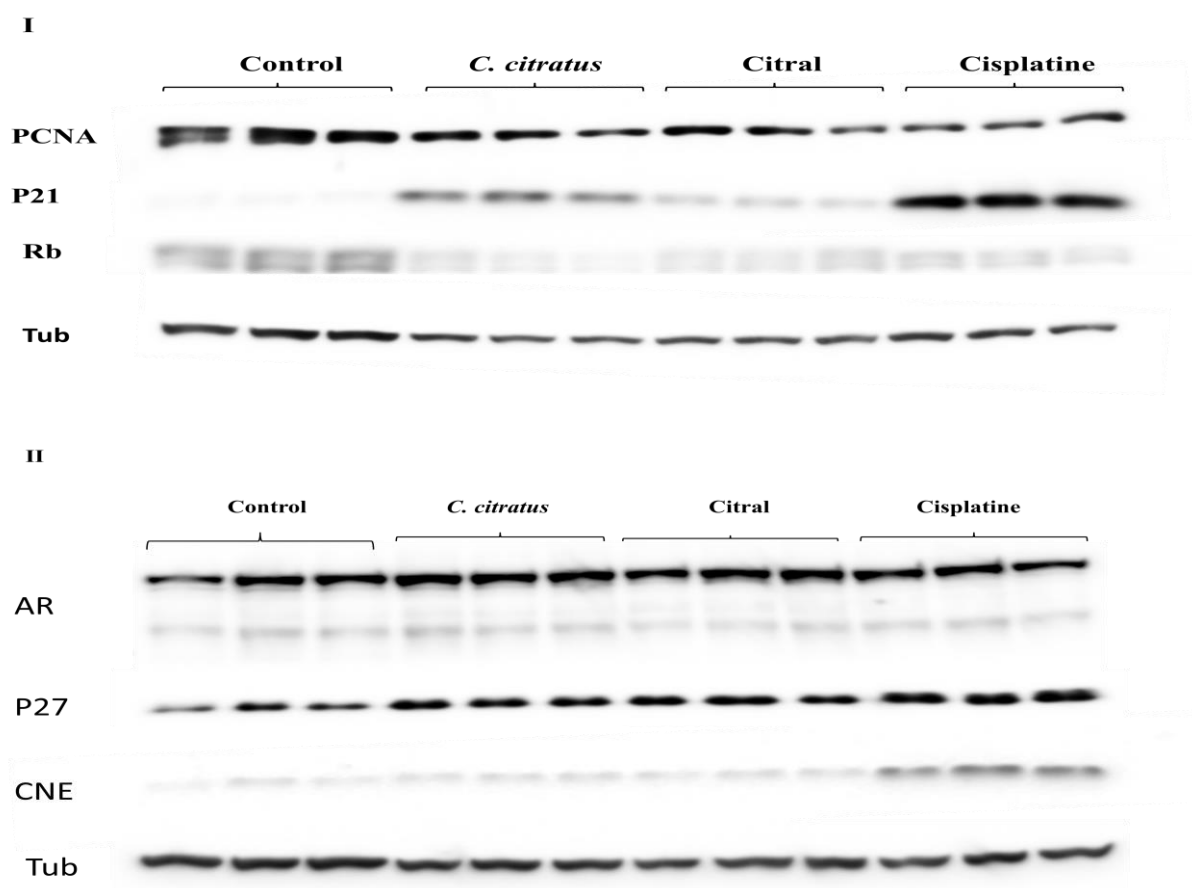


Figure 54: Spots Westerns Blots des protéines après 72 heures d'induction

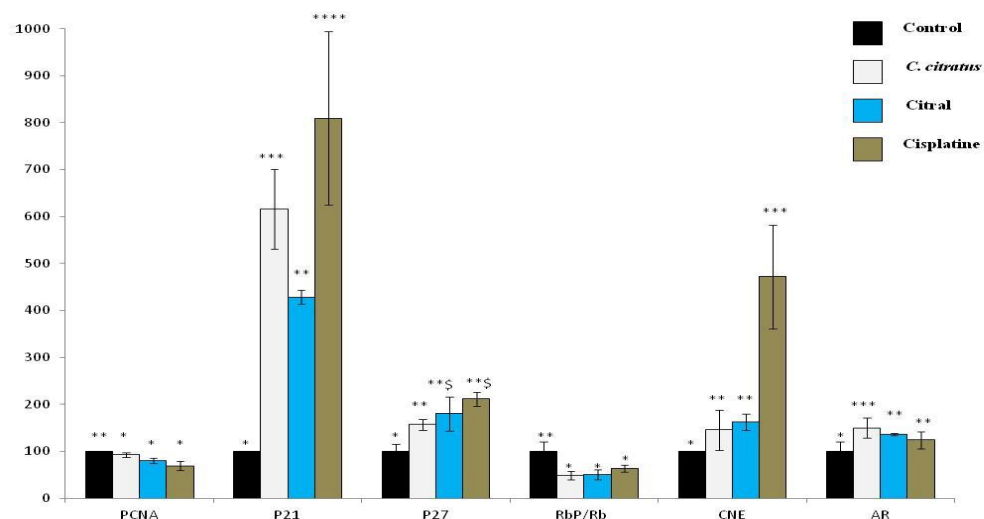


Figure 55: Quantification des protéines analysées par Western Blot

Les valeurs sont exprimées en valeurs moyennes \pm écart type ($n = 3$ expériences en triplet); *, pour valeurs non significativement différents pour chaque proteine ; * , ** et ***, valeurs significativement différentes pour chaque proteine ; \$, identiques statistiquement ($p < 0,05$).

IV. QUATRIEME PARTIE DE L'ETUDE : RESULTATS DES TRAVAUX COMPLEMENTAIRES

Cette partie de l'étude a consisté à réaliser la combinaison des composés majoritaires des huiles essentielles de *C. giganteus* et de *C. citratus* (Tableau 11). Cette combinaison permet de rechercher les effets synergiques éventuellement.

Tableau 11: IC₅₀ des composés majoritaires des huiles essentielles testées sur les cellules LNCaP du cancer de la prostate et celles SF-767 de glioblastome.

Composés et combinaison	IC ₅₀ (µg/ml)	
	Lignées cellulaires	
	LNCaP (Cancer de la Prostate)	SF-767 (Glioblastome)
Citral	4,32±0,1 ^A	22,35±5,2 ^A
Limonène R	927,9±20,6 ^F	683,02±9,7 ^D
Limonène S	458,93±37,3 ^E	332,02±19,5 ^C
Limonène R+S	325,32±25,5 ^D	Sup 842 ^E
Citral + Limonène R	28,26±6,9 ^C	44,89±6,9 ^B
Citral + Limonène R+S	16,64±0,2 ^B	18,36±8,7 ^A

Concentration inhibitrice 50 (IC₅₀). Les valeurs sont exprimées en valeurs moyennes ± écart type (n = 3 expériences en sextuplet); les valeurs avec la même lettre dans chaque colonne peuvent être considérées comme identiques (p < 0,05).

CHAPITRE 7. DISCUSSION GENERALE

I. COMPOSITION CHIMIQUE DES DIFFERENTES HUILLES ESSENTIELLES

L'analyse chimique des huiles essentielles de *Ocimum basilicum*, *Ocimum americanum*, *Hyptis spicigera*, *Lippia multiflora*, *Ageratum conyzoides*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Zingiber officinale*, *Cymbopogon giganteus* et *Cymbopogon citratus* montre qu'ils présentent une diversité de groupes chimiques. En effet chaque huile essentielle est composée d'un mélange complexe de molécules variables en quantité et en qualité et d'une espèce à l'autre.

Contrairement à notre étude où 33 composés ont été identifiés, 53 composés ont été identifiés dans les huiles essentielles de *C. giganteus* (Kpoviessi et al., 2014). Cependant, les composés majoritaires, le trans-p-mentha-1 (7),8-diène-2-ol, le trans-carvéol, le trans-p-mentha-2,8-diéanol, le cis-p-mentha-2,8-diéanol, le cis-p-mentha-1 (7),8-diène-2-ol, le limonène, le cis-carvéol et le cis-carvone (Kpoviessi et al., 2014) sont pour la plupart retrouvés dans l'huile essentielle de *C. giganteus* de notre analyse. Bassolé et al. (2011) ont identifié 86,0% de composés contenus dans l'huile essentielle de cette plante contre 95,45% de composés identifiés dans notre analyse. Les composés majoritaires selon les études de Bassolé et al. (2011) étaient le limonène (42%) et un ensemble d'alcools monoterpéniques: trans-p-mentha-1 (7),8-diène-2-ol (14,2%), le cis-p-mentha-1 (7), 8-diène-2-ol (12%), trans-p-mentha-2,8-diène-1-ol (5,6%) et cis-p-mentha-2,8-diène-1-ol (5,2%). Le chémotype retrouvé par Bassolé et al., a également été retrouvé dans notre analyse avec des variations importantes, surtout le limonène (19,33%) dans notre analyse a doublé dans celles de Bassolé et al., où il est passé à 42%. Les facteurs environnementaux et physiques justifieraient ces variations.

Dans les travaux de Kpoviessi et al., (2014) 29 composés ont été caractérisés dans l'huile essentielle de *C. citratus* dont les constituants principaux, le géraniol, le néral, le β -pinène et le cis-géraniol (Kpoviessi et al., 2014). Ce nombre de composés identifiés dans cette étude correspond au double des composés identifiés dans la notre, mais le même chémotype a été retrouvé dans ces deux études. L'analyse chimique de l'huile essentielle de feuilles de *C. citratus* du Burkina Faso effectuée par Bassolé et al., (2011) a présenté 96,3% de composés identifiés dont le Géraniol (48,1%), néral (34,6%) et le myrcène (11,0%) ont été les principaux composés (Bassolé et al., 2011). Cette analyse est en accord avec celle effectuée dans notre étude où les mêmes composés ont été identifiés à des pourcentages relativement identiques. Cinq principaux constituants, le E-citral, le Z-citral, le bêta-myrcène, le selina-6-

en-4-ol et le cis-ocimène ont été identifiés dans l'huile essentielle de *C. citratus* (Tadtong et al., 2014). Cette composition chimique des travaux de Tadtong et al., est différente de celle de notre étude. Un total de 16 composés chimiques qui représentent 93,69% de l'huile essentielle de *C. citratus* ont été identifiés où le géraniol (27,04%), le néral (19,93%) et le myrcène (27,04%) ont été les principaux constituants (Gbenou et al., 2013). Ces mêmes composés ont été mis en évidence dans notre analyse mais à des proportions différentes. Cette différence a également été constatée dans les travaux de Kumar et al., (2013) où le citral (47%) et le 1,8-cinéol (7,5%) ont été mis en évidence comme principaux composés.

Sur la base de la composition chimique, sept chemotypes ont été décrits pour l'huile essentielle de *O. basilicum*: (1) linalol, (2) linalol/eugénol, (3) méthyl chavicol sans linalol, (4) méthyl chavicol/linalol, (5) eugénol de méthyle/linalol, (6) le cinnamate de méthyle/linalol et (7) de chemotypes bergamotène (Zheljazkov et al., 2008). Ces chénotypes sont différents entre eux et aussi différents de celui obtenu dans l'huile essentielle des feuilles de *O. basilicum* de notre analyse, à savoir le chénotype α -terpinéol/ β -caryophyllène. Cette différence pourrait se justifier par le fait que la composition d'une huile essentielle dépend des facteurs génétiques, de l'âge, de la saison et/ou de l'environnement de la plante (Senatore et al., 1998). Govindarajan et al. (2013) ont par ailleurs identifié le linalol (52,42%), l'eugénol de méthyle (18,74%) et 1, 8 cinéole (5,61%) comme étant les principaux composés chimiques de cette huile essentielle.

La composition de l'huile essentielle de *O. americanum* obtenue est différente de celle rapportée par les Indiens (Govindarajan et al., 2013). Yamada et al. (2013) ont aussi identifié au total vingt-six composés qui représentent 98,9% dont le linalol (19,63%) et le 1,8-cinéole (17,27%), les composés principaux qui diffèrent également de ceux de notre étude mais aussi de ceux de Govindarajan et al. en 2013. Inversement, nos données corroborent les données publiées par Djibo et al., en 2004.

Les composés majoritaires, le β -caryophyllène (21%), l' α -pinène (20,11%), le sabinène (10,26%), le β -pinène (9,22%), l' α -phellandrène (7,03%) de l'huile essentielle de *H. spicigera* obtenus dans notre étude sont similaires à ceux rapportés par McNeil et al., (2011). Par ailleurs, ces résultats diffèrent de ceux de Takayama et al. (2011) où l' α -pinène (50,8%), cinéole (20,3%) et le β -pinène (18,3%) ont été identifiés comme composés majoritaires et également de ceux obtenus par Wekesa et al. (2011) dont l' α -pinène (27,4%), le β -

pinène (17,6 %), le L-phellandrène/thujène (12,2%), le limonène/phellandrène (9,4%) et l'isocaryophyllène (9,2%) les composés majoritaires.

L'huile essentielle de *L. multiflora* a présenté une composition différente de celle rapportée précédemment par Bassolé et al., (2010) qui a identifié 29 composés représentant au total 97,3% dont le p-cymène (21,3%), le thymol (14%), β -caryophyllène (12,9%), carvacrol (9,3%) et la carvone (8,6%) étaient les principaux composés. Par ailleurs, Kouamé et al. (2008) ont mis en évidence des composés majoritaires différents, le 1,8-cinéol (48,9%), le Geranial (15,1%), l' α -Terpinéol (8,5%) et le Sabinène (5,1%). Le linalool (46,6%) et (E)-nerolidol (16,5%) identifiés comme étant les composés majoritaires de l'huile essentielle de cette plante (Tia et al., 2011) sont aussi différents de ceux obtenus. La composition d'une huile essentielle dépend des facteurs génétiques, de l'âge, de la saison et/ou de l'environnement de la plante (Senatore et al., 1998). Ce fait justifierait cette variation de la composition chimique observée.

La composition chimique de l'huile essentielle de *A. conyzoides* de cette étude est comparable à celle décrite par de Melo et al., (2011) et Nogueira et al., (2010). Par contre, Abdelkader et Lockwood, en 2011 ont décrit le précocène I, la germacrène D, le β -caryophyllène et le précocène II comme les principaux constituants de l'huile essentielle de *A. conyzoides*.

Dans l'huile essentielle de *E. camaldulensis*, les composés majoritaires identifiés, l'eucalyptol (59,55%), l' α -pinène (9,17%) et le limonène (8,76%) formant le chémotype de cette huile est similaire à celle rapportée par da Cruz Francisco et al., (2001), mais diffère de la chémotype isolée par Herzi et al., en 2013.

Les résultats de la composition chimique de l'huile essentielle de *Z. officinale* sont comparables à ceux rapportés par Nogueira de Melo et al., (2011) qui ont trouvé l'arcurcumène (59%), le β -myrcène (14%), le 1,8-cinéole (8%), le citral (7,5%) et le zingibérène (7,5%) comme étant les principaux composés de l'huile essentielle de cette plante. Ces composés sont différents de ceux rapportés par Yamamoto-Ribeiro et al. (2013) où l' α -zingibérène (23,9%) et le citral (21,7%) ont été identifiés comme étant les composés majoritaires.

II. ACTIVITE ANTIOXYDANTE DES HUILES ESSENTIELLES

Un antioxydant est toute substance capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi, retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats (Berger, 2006). C'est une substance qui en faible concentration comparativement à la quantité des substances oxydables telles que les espèces oxygénées réactives (ROS), retarde significativement ou prévient l'oxydation des substrats comme les lipides, les protéines, les ADN et les carbohydrates. Toutes les huiles essentielles testées ont ainsi présenté une activité antioxydante qui s'est traduite par leur pouvoir réducteur des radicaux libres DPPH[•] et ABTS⁺. Ce pouvoir réducteur des radicaux libres qui sont à l'origine de l'oxydation confirme l'utilisation traditionnelle de ces plantes pour traiter entre autres, des maladies oxydatives. L'huile essentielle de *C. citratus* a présenté la meilleure capacité à piéger les radicaux DPPH[•] créés *in vitro* pour une concentration de 8mg/ml (Tableau 8) tandis que celle de *L. multiflora* présente la plus forte capacité de réduire les radicaux ABTS⁺ (1.02 $\mu\text{mol ET/g}$) (Tableau 4). En outre, *E. camaldulensis*, *L. multiflora* et *H. spicigera* (Tableau 4) respectivement, ont également présenté des activités antioxydantes intéressantes.

Pour la plupart des huiles essentielles testées, l'effet obtenu avec la méthode DPPH n'est pas corrélé par celui obtenu par la méthode ABTS ; les résultats diffèrent par ces deux méthodes. Ces variations peuvent s'expliquer par les mécanismes impliqués dans les réactions antioxydantes des radicaux. Les huiles essentielles ont été solubilisées dans le méthanol pour le test DPPH et dans l'éthanol pour le test ABTS. La solubilité des huiles essentielles dans ces différents solvants peut influencer sur leur effet. En effet, l'activité antioxydante des composés testés dépend de l'agent utilisé et insistant sur le mécanisme d'action de l'anti-oxydant (Soares et al., 2003). D'autres facteurs, tels que la stéréo-sélectivité des radicaux ou la solubilité des composés dans les systèmes de tests différents peuvent aussi influencer sur la capacité de chaque huile à réagir et à réduire les différents radicaux (Yu et al., 2002). Dans ce sens, Del Castillo et al., (2002) ont analysé un café de plusieurs processus de torréfaction et rapporté des réponses plus élevées par le test ABTS dans une solution aqueuse de café par rapport à la solution éthanolique. Ils ont attribué cette différence au fait que certains composants, apportant une contribution importante à l'activité antioxydante des dilutions aqueuses, ne sont pas solubles dans l'éthanol. La différence de fonctions chimiques des composés contenus dans les différentes huiles essentielles analysées pourrait aussi expliquer les variations de l'activité entre les deux méthodes dans notre étude. Par exemple les principaux constituants de *C. citratus* sont des terpènes acycliques, des monoterpènes oxygénés dont principalement des

monoterpènes aldéhydes tandis que les principaux composés de l'huile essentielle de *O. basilicum* sont des monoterpènes alcools, et ceux de l'huile essentielle de *L. multiflora*, des monoterpènes hydrocarbure.

Les monoterpènes sont connus comme étant antioxydants. Ainsi, les monoterpènes contenus dans ces huiles essentielles pourraient agir comme agents antioxydants et donc justifier l'activité de ces huiles essentielles. Des études antérieures ont montré que les monoterpènes oxygénés, tels que le thymol, le carvacrol et le α -terpinéol, sont principalement responsables du potentiel antioxydant des huiles végétales qui les contiennent (Bicas et al., 2011; Miguel, 2010). Le monoterpène β -caryophyllène a été prouvé à posséder également une activité de piégeage des radicaux libres en utilisant le test de DPPH (Dar et al., 2011). Les plantes médicinales ayant une activité antioxydante intéressante constitueraient une source de traitement des maladies où sont impliquées les Espèces Oxygénées Réactives (EOR) et Espèces Azotées Réactives (EAR) (Mantle et al., 2000). Ces plantes permettraient en amont, une prévention efficace contre le cancer de la prostate et le glioblastome, qui sont souvent dus à l'excès de radicaux libres dans l'organisme tout comme d'autres types de cancer.

III. ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE DES HUILES ESSENTIELLES PAR INHIBITION DE LA LIPOXYGENASE

L'élimination de l'inflammation peut représenter une stratégie pour la prévention et le traitement du cancer. À cette fin, cette étude a permis d'évaluer les propriétés anti-inflammatoires des huiles essentielles extraites. Toutes les huiles essentielles testées possèdent un effet anti-inflammatoire par l'inhibition de la lipoxygénase. Les sources d'inflammation sont très répandues et comprennent les infections microbiennes et virales; l'exposition aux allergènes, les radiations et les produits chimiques toxiques, les maladies auto-immunes et chroniques, l'obésité, la consommation d'alcool, l'utilisation de tabac, et une alimentation riche en calories (Aggarwal et al., 2009; Schetter et al., 2010). Deux stades de l'inflammation existent, l'inflammation aiguë et chronique. L'inflammation aiguë est une étape initiale de l'inflammation (de l'immunité innée), qui est médiée par l'activation du système immunitaire. Ce type d'inflammation persiste seulement pendant un court laps de temps et est généralement bénéfique pour l'hôte. Si l'inflammation dure pendant une longue période, la deuxième étape de l'inflammation, ou une inflammation chronique s'installe dans l'hôte et peut prédisposer à diverses maladies chroniques, y compris le cancer (Lin and Karin, 2007). L'inflammation chronique donc augmente fortement le risque de divers cancers.

De ces huiles essentielles des neufs plantes testées au total, l'huile essentielle de *Z. officinale* a présenté la meilleure activité anti-inflammatoire se traduisant par un pourcentage d'inhibition de la lipoxigénase de 100% à 8mg/ml et de 50,9% à 0,4 mg/ml. L'activité anti-inflammatoire de *Z. officinale* (50,9 % d'inhibition à 0.4mg/ml) est donc très intéressante comparativement à celle de la quercétine utilisée comme contrôle qui est de 52,32% d'inhibition à 0,1 mg/ml. Cette meilleure activité anti-inflammatoire présentée par l'huile essentielle de *Z. officinale* est suivie de celle de *C. citratus* (98,22% à 0,8mg/ml), de celle de *C. giganteus* (98,54% à 8mg/ml), puis successivement de celle de *O. basilicum* (98,2 %), *E. camaldulensis* (96,4 %), *L. multiflora* (96,4 %), *H. spicigera* (75,1%), *A. conyzoides* (48,3%) et *O. americanum* (31,6 %) toutes à une concentration de 8mg/ml. Ces dernières huiles essentielles actives à 8mg/ml ne sont pas actives à la concentration de 0,4 mg/ml car n'ayant présenté aucun effet significatif. Cet effet est ainsi fonction de la concentration. De toutes les huiles essentielles testées, *Z. officinale* renferme la plus forte teneur en sesquiterpènes hydrocarbonés (44,6%). Cette forte composition en composés hydrocarbonés sesquiterpènes pourrait justifier la meilleure activité présentée par cette huile essentielle. En effet, plusieurs études ont montré l'effet anti-inflammatoire des sesquiterpènes (Cengiz et al., 2011). Par ailleurs, les Lipoxigénases et leurs métabolites actifs (HPETE et HETE) sont impliqués dans de nombreux cancers humains (Samuelsson et al., 1987). Pidgeon et al., (2002) ont également montré l'implication de la 15- lipoxigénase dans le développement du cancer de sein, de la prostate et colorectaux où elle est surexprimée (Pidgeon et al., 2002). En outre, la 5-LOX ARNm et/ou sa protéine d'activation FLAP sont surexprimés dans le cancer de la prostate (Gupta et al., 2001). Ainsi, les huiles essentielles à fortes teneurs en composés sesquiterpènes de ces plantes, en inhibant cette enzyme pourraient aider à prévenir et traiter le cancer de la prostate et le glioblastome dans lesquels l'inflammation est impliquée.

IV. ACTIVITES ANTIPROLIFERATIVES DES HUILES ESSENTIELLES ET COMPOSES

Activité antiproliférative des huiles essentielles

Les LNCaP sensibles aux androgènes et PC3 résistants aux androgènes sont des lignées cellulaires du cancer de la prostate. Ce cancer a son incidence qui augmente et représente la deuxième cause de décès par cancer chez l'homme (Greenlee et al., 2000). Le glioblastome, reconnu comme la forme la plus fréquente et la plus mortelle des cancers du système nerveux central (Iacob and Dinca, 2009) ; les techniques chirurgicales, les composés

chimiothérapeutiques et les stratégies de radiothérapie actuellement utilisées ont fait très peu de succès dans l'augmentation de l'espérance de vie des patients atteints de cette tumeur. Les lignées cellulaires SF-767 et SF-763 choisis pour notre étude sont résistantes à la radiothérapie; les lignées SF-767 entraînent une activation de la voie STAT3 et la lignée SF-763, une co-activation des voies STAT3 et AKT de façon constitutive.

Les huiles essentielles de *C. giganteus* et *C. citratus*, *O. basilicum*, *Z. officinale*, *L. multiflora* et *A. conyzoides* ont présenté une activité antiproliférative sur les deux lignées cellulaires LNCaP et PC-3 du cancer de la prostate et à la fois sur celles SF-767 et SF-763 de glioblastome. Cependant, les huiles essentielles de *E. camaldulensis*, *O. americanum* et *H. spicigera* n'ont pas présenté d'effet anti-prolifératif, ni sur les lignées prostatiques ni sur celles de glioblastomes jusqu'à une concentration maximale de 8mg/ml testée.

L'huile essentielle de *C. citratus* a présenté la meilleure activité antiproliférative aussi bien sur les lignées cellulaires LNCaP (IC_{50} = 6,36 μ g/ml) et PC-3 (IC_{50} = 32,1 μ g/ml) du cancer de la prostate que sur les lignées cellulaires SF-767 (IC_{50} = 45,13 μ g/ml) et SF-763 (IC_{50} = 172,05 μ g/ml) du glioblastome. Avec des IC_{50} respectives de 160,06 μ g/ml, 303,23 μ g/ml, 255,06 μ g/ml et 217,01 μ g/ml sur les lignées cellulaires LNCaP, PC-3 du cancer de la prostate et SF-767, SF-763 du glioblastome, *C. giganteus* est la deuxième huile la plus active après *C. citratus*. Puis enfin nous avons successivement *A. conyzoides* (IC_{50} de 350 μ g/ml) et *Z. officinale* (IC_{50} de 380 μ g/ml) sur la lignée cellulaire LNCaP du cancer de la prostate; *L. multiflora* et *O. basilicum* (IC_{50} de 300 μ g/ml) sur la lignée cellulaire PC- 3 du cancer de la prostate et la lignée cellulaire SF- 767 (IC_{50} de 300 μ g/ml) ; et *A. conyzoides* (IC_{50} de 380 μ g/ml) sur la lignée cellulaire SF-763 du glioblastome. Ces huiles essentielles ayant présenté des effets antiprolifératifs sont pour la plupart riches en composés terpéniques oxygénés. En effet, des études ont démontré l'activité antiproliférative et anticancéreuse des terpènes (Gould, 1997). Par ailleurs, les effets antiprolifératifs de ces huiles essentielles sont non seulement fonction de la concentration mais aussi temp-dépendants.

Selon les recommandations publiées par le NCI (National Cancer Institute) un extrait ayant une IC_{50} inférieure à 30 μ g/mL lors de tests de cytotoxicité peut être considéré comme une source potentielle de molécules cytotoxiques (Jokhadze et al., 2007). Un composé dont la IC_{50} est inférieure à 10 μ g/ml est potentiellement très toxique, un composé dont la IC_{50} est comprise entre 10-100 μ g/ml est potentiellement toxique, un composé dont la IC_{50} est comprise entre 100-1000 μ g/ml est potentiellement nocif et un composé dont la IC_{50} supérieure à 1000 μ g/ml est potentiellement non-toxique (Gad-Shayne, 1999; Hussain et al.,

2010). En d'autres termes, un composé dont la IC_{50} est inférieure à 20 μ g/ml *in vitro* est active (Boik, 2001) et pourrait de ce fait être utilisé en chimiothérapie dans le traitement du cancer. L'huile essentielle de *C. citratus* principalement dont la IC_{50} est de 6,36 μ g/ml sur la lignée cellulaire LNCaP du cancer de la prostate est donc d'une très bonne activité antiproliférative. Cette forte activité pourrait s'expliquer par sa forte teneur en composés monoterpéniques oxygénés (90%), principalement des aldéhydes monoterpènes (85%). En effet, les monoterpènes empêchent le processus de cancérogenèse lors de l'initiation et les étapes de promotion/progression (Gould, 1997). Les monoterpènes sont efficaces dans le traitement des cancers précoces et avancés ; le monoterpène pirillyl alcool a été décrit pour avoir une activité anti-proliférative sur le glioblastome par l'inhibition de la pompe Na/K-ATPase (Garcia et al., 2010). D'autres monoterpènes, tel que le limonène a été démontré pour prévenir les cancers mammaires, du foie, du poumon, et d'autres cancers (Gould, 1997). La forte teneur en monoterpènes de ces huiles essentielles expliquerait donc l'activité anti-proliférative de ces huiles.

Activité antiproliférative des composés majoritaires des huiles essentielles plus actives et du cisplatine, un anticancéreux utilisé comme contrôle

Afin de rechercher les composés potentiellement actifs et de justifier l'activité de ces huiles essentielles, le citral, mélange du géraniol (Cital A) et du néral (Cital B), composé majoritaire de l'huile essentielle de *C. citratus* et le limonène (limonène R et limonène S), composé majoritaire de *C. giganteus*, ont été testés sur les lignées plus sensibles, la lignée cellulaire LNCaP du cancer de la prostate et la lignée SF-767 du glioblastome. Le citral a présenté la meilleure activité antiproliférative aussi bien sur la lignée LNCaP que sur celle SF-767 avec des IC_{50} respectifs de 4,32 μ g/ml et 22,35 μ g/ml. La lignée cellulaire LNCaP a été plus sensible au citral que la lignée cellulaire SF-767. Le limonène R et le limonène S ont présenté de faibles activités contrairement au citral. De ces deux isomères du limonène, la forme S a présenté la plus forte activité sur la lignée LNCaP (IC_{50} = 458,93 μ g/ml) et sur la lignée SF-767 (IC_{50} = 332,02 μ g/ml) par rapport à la forme R sur la lignée LNCaP (IC_{50} = 927,9 μ g/ml) et la lignée SF-767 (IC_{50} = 683,02 μ g/ml). Le cisplatine, connu pour être un excellent cytotoxique et antiprolifératif, a présenté la meilleure activité antiproliférative comparativement au citral aussi bien sur la lignée cellulaire LNCaP du cancer de la prostate que sur celle SF-767 du glioblastome avec des IC_{50} respectives de 2,91 μ g/ml et 0,38 μ g/ml. Contrairement au citral, le cisplatine est plus actif sur les cellules du glioblastome que sur celle du cancer de la prostate. Raménée en molarité, la IC_{50} du cisplatine (9,7 μ M) correspond

au tiers de celle du citral (28,4 μ M) ; cela traduit que l'effet antiprolifératif du cisplatine sur la lignée LNCaP du cancer de la prostate correspond à trois fois celui du citral. De Martino et al., (2009) ont montré son activité pro-apoptique sur la leucémie lymphocytaire chronique. Le citral a également présenté une forte activité cytotoxique sur les cellules HeLa du cancer cervical (Mesa-Arango et al., 2009). Chaouki et al., en 2009 ont montré que le traitement des cellules MCF-7 avec le citral a provoqué une inhibition de la croissance cellulaire avec un arrêt du cycle en phase G(2)/M et une induction de l'apoptose.

En définitive, le citral a présenté la meilleure activité antiproliférative sur la lignée cellulaire LNCaP du cancer de la prostate, la plus sensible de toutes aux composés testés. Tenant compte des analyses statistiques, cette activité présentée par le citral n'est pas significativement différente de celle de l'huile essentielle de *C. citratus* dont il est le composé majoritaire. Le citral est donc le composé antiprolifératif à l'origine de l'activité de l'huile essentielle de *C. citratus*. L'activité du citral étant le tiers de celle du cisplatine, on peut déduire que l'activité antiproliférative de l'huile essentielle naturelle de *C. citratus* correspond au tiers de l'activité du cisplatine, un anticancéreux de référence utilisé dans la chimiothérapie du cancer. Le composé naturel le plus toxique est d'environ 270 fois moins toxique que la molécule de chimiothérapie la plus toxique (Boik, 2001). Cependant, ils sont aussi moins toxiques pour les cellules cancéreuses que la plupart des médicaments de chimiothérapie (Boik, 2001). De nombreuses molécules cytotoxiques d'origine végétale sont largement utilisées dans la chimiothérapie (Newell, 2005). L'huile essentielle de *C. citratus* pourrait offrir un espoir dans la prise en charge du cancer de la prostate.

Activité antiproliférative de la combinaison des huiles essentielles les plus actives et des composés majoritaires de celles-ci

Afin de vérifier d'éventuels effets synergiques, les combinaisons des huiles essentielles les plus actives et de composés majoritaires ont été testées sur les lignées cellulaires. La combinaison de *C. giganteus* et de *C. citratus* a présenté un effet antagoniste sur la lignée cellulaire LNCaP et un effet additif sur celle PC-3 du cancer de la prostate (Tableau 9). Sur le glioblastome, cette combinaison a présenté un effet indifférent sur la lignée cellulaire SF-767 et un effet synergique sur celle SF-763. La combinaison de ces deux huiles essentielles potentialise donc l'effet antiprolifératif sur la lignée cellulaire SF-763 du glioblastome ce qui implique que la combinaison de ces deux huiles essentielles permettrait plus une meilleure prise en charge de tumeurs de ce type cellulaire de cancer. La combinaison du citral et du limonène R+S a présenté le meilleur effet antiprolifératif sur la lignée LNCaP (IC₅₀ = 16,64

µg/ml) et sur la lignée cellulaire SF-767 ($IC_{50} = 18,36 \mu\text{g/ml}$). Cette combinaison du citral et du limonène R+S diminue l'activité du citral donnant un effet antagoniste sur la lignée LNCaP du cancer de la prostate tandis que la combinaison du limonène R et S a présenté un effet additif. La combinaison du citral et du limonène R a présenté un effet antagoniste aussi bien sur la lignée LNCaP du cancer de la prostate que sur la lignée SF-767 du glioblastome.

Activité antiproliférative de l'huile essentielle de C. citratus, du citral et du cisplatine sur les cellules LXR+/+ et LXR -/- de prostate dorsal de souris

Le cisplatine a présenté la meilleure activité antiproliférative aussi bien sur la lignée cellulaire LXR +/+ ($IC_{50} = 4,29 \mu\text{g/ml}$) que celle LXR -/- ($IC_{50} = 1,58 \mu\text{g/ml}$) comparativement au citral (IC_{50} LXR +/+ = $10,40 \mu\text{g/ml}$ et IC_{50} LXR -/- = $6,97 \mu\text{g/ml}$) puis à l'huile essentielle de *C. citratus* pour la quelle la IC_{50} est de $15,02 \mu\text{g/ml}$ pour LXR +/+ et de $10,43 \mu\text{g/ml}$ LXR -/- (Tableau 10). Statistiquement, l'effet de l'huile essentielle de *C. citratus* et du citral son composé majoritaire (82,55% de citral sur 96,33% du total de composés identifiés) sont similaires et correspondent au tiers de l'effet produit par le cisplatine. Ces résultats montrent également bien que la lignée cancéreuse LXR -/- est plus sensible aux composés testés que la lignée non cancéreuse LXR +/+ ; cela se traduit par la diminution de la concentration inhibitrice 50 (IC_{50}) en passant de la lignée cellulaire LXR +/+ à la lignée cellulaire LXR -/- d'une manière générale pour tous les composés testés.

V. ACTION DE L'HUILE ESSENTIELLE DE C. CITRATUS, DU CITRAL ET DU CISPLATINE SUR LA MORPHOLOGIE CELLULAIRE

L'huile essentielle de *C. citratus*, le citral et le cisplatine présentent des effets sur la morphologie des cellules LNCaP du cancer de la prostate (Figure 49). Ces images présentent non seulement une dégradation de la morphologie des cellules LNCaP en fonction de la concentration traduite par une forte dégradation de la morphologie des cellules induites avec de double de la concentration inhibitrice 50 par rapport et celles induites à la concentration inhibitrice 50 ; mais aussi en fonction du temps, se traduisant par des morphologies des cellules LNCaP de plus en plus dégradées observées respectivement après 24 heures, 48 heures et 72 heures d'induction. L'huile essentielle de *C. citratus*, le citral et le cisplatine auraient donc un effet cytotoxique sur les cellules LNCaP du cancer de la prostate.

VI. ACTION DE L'HUILE ESSENTIELLE DE *C. CITRATUS*, DU CITRAL ET DU CISPLATINE SUR LA RESISTANCE A L'ANOÏKIS

La mort d'une cellule est un processus biologique normal dans un organisme vivant. En participant à des processus physiologiques aussi divers que le développement de l'embryon, la formation du cerveau, le contrôle du nombre des cellules dans l'organisme ou l'établissement d'une immunité efficace, elle est indispensable à la survie, notamment, de l'espèce humaine. L'anoïkis est une mort cellulaire initiée à la suite du détachement d'une cellule de la matrice extracellulaire. L'huile essentielle de *C. citratus*, le citral et le cisplatine induisent l'anoïkis des cellules LNCaP du cancer de la prostate (Figure 50). Cela s'explique par l'absence de clone sur les photos des puits traités par l'huile essentielle de *C. citratus*, le citral et le cisplatine (Figure 50), et la présence des clones formés dans les puits control et les puits control positif DMSO utilisés (Figure 50). En empêchant les cellules cancéreuses LNCaP de résister à l'anoïkis, l'huile essentielle de *C. citratus* et le citral, son composé majoritaire, permettraient d'éliminer les cellules cancéreuses à l'origine du cancer de la prostate donc de limiter son évolution. La quantification des résultats (Figure 51) montre qu'il n'y a quasiment pas de clones formés suite au traitement des cellules LNCaP par l'huile essentielle de *C. citratus*, le citral et le cisplatine aux différentes concentrations inhibitrices 50. Selon les travaux de Songserm et al., (2012), le cisplatine est connu pour empêcher la résistance à l'anoïkis du cancer de poumon à petites cellules. Il s'agit ici de la première étude réalisée jusqu'à ce jour, qui montre l'induction de l'anoïkis par l'huile essentielle de *C. citratus* et du citral son composé majoritaire. Par ailleurs, certains alcaloïdes de plantes ont déjà été cités pour inhiber la prolifération des cellules du cancer de sein par inhibition de la résistance à l'anoïkis (Kim et al., 2010).

VII. ACTION DE L'HUILE ESSENTIELLE DE *C. CITRATUS*, DU CITRAL ET DU CISPLATINE SUR LA MIGRATION DES CELLULES LNCaP DE LA PROSTATE

Le cancer est une population de cellules qui se développent anormalement au sein d'un tissu ne répondant donc plus aux règles d'homéostasie, aboutissant à la formation d'une tumeur primitive. La croissance d'une tumeur peut avoir pour origine une augmentation de la prolifération et/ou une diminution de la mort cellulaire. La migration cellulaire demeure un obstacle majeur au traitement du cancer en général et de celui de la prostate en particulier. En effet, l'acquisition de la capacité migratoire par les cellules cancéreuses permet leur dissémination métastatique à l'origine d'environ 90% des décès des patients cancéreux. Les

résultats de nos études montrent que le traitement avec la IC₅₀ de l'huile essentielle de *C. citratus*, du citral et du cisplatine des cellules LNCaP du cancer de la prostate empêche leur migration pendant que les cellules non traitées (control) migrent (Figure 52). La quantification de ces résultats traduit le comblement de la brèche control non traité de 65,88% au bout de 72 heures tandis que les cellules traitées avec la IC₅₀ sont incapables de migrer et meurent pour certaines au bout de 72 heures laissant donc les brèches quasiment non comblées jusqu'à 72 heures après induction (Figure 53). Ces résultats traduisent l'aptitude de l'huile essentielle de *C. citratus* et du citral, son composé majoritaire, à empêcher la migration cellulaire des LNCaP du cancer de la prostate tout comme le cisplatine. De ce fait, l'huile essentielle de *C. citratus* et le citral empêcheraient donc la formation des métastases dans le cancer de la prostate.

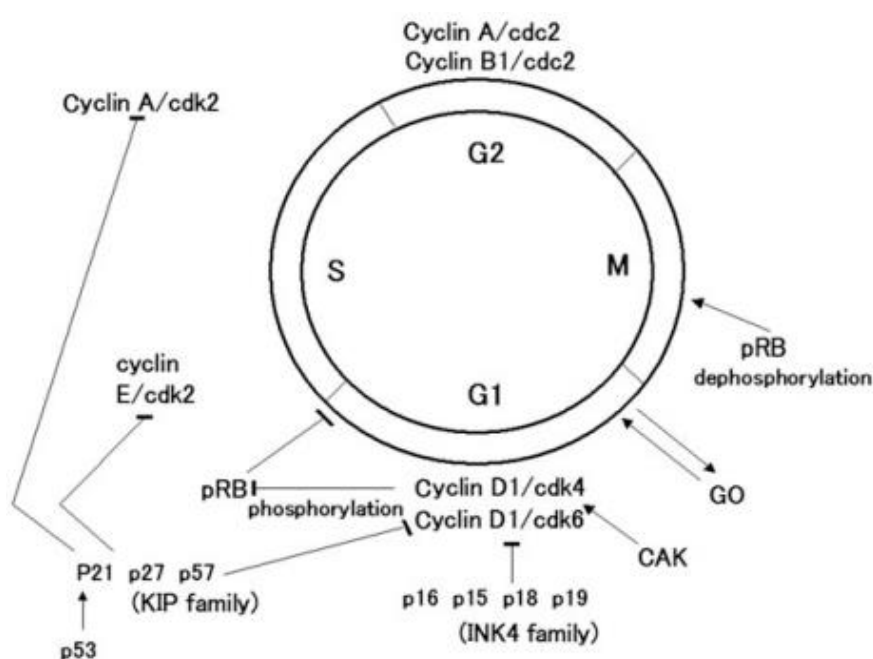
VIII. ANALYSE DES PROTEINES

Afin d'approfondir les processus mis en jeu dans l'activité antiproliférative, anti-migratoire et l'induction de l'anoïkis de l'huile essentielle de *C. citratus* et du citral sur les cellules du cancer de la prostate, la régulation d'un certain nombre de protéines a été étudiée. L'analyse de ces protéines a montré une diminution de PCNA et une perte de phosphorylation de Rb (Figure 54I), une augmentation des protéines P21 (Figure 54I), P27, Cycline E et AR (Figure 54II) après 72 heures d'induction par l'huile essentielle de *C. citratus*, le citral et le cisplatine. La quantification des protéines est présentée dans la figure 55. Comparativement aux cellules non traitées (control), on observe une diminution de PCNA des cellules traitées par l'huile essentielle de *C. citratus*, le citral et le cisplatine. Cette diminution traduit l'inhibition de la prolifération des cellules LNCaP du cancer de la prostate. L'induction des cellules avec l'huile essentielle de *C. citratus*, le citral et le cisplatine a entraîné une augmentation significative de la protéine P21 et P27 (Figure 55) et une perte de phosphorylation de la protéine Rb traduit également par sa diminution observée impliquant donc un arrêt du cycle cellulaire. Les travaux de (Lee et al., 2013) ont montré l'implication des protéines P21 et Rb dans l'inhibition du cancer de la prostate.

Au cours du cycle cellulaire, les cyclines apparaissent et disparaissent ponctuellement ce qui permet l'avancée dans le cycle. Quant à la cycline E, elle apparaît progressivement pendant la phase G1 puis disparaît progressivement au début de la phase S. Ainsi, l'augmentation de la cycline E (Figure 55) suite aux traitements réalisés par rapport aux cellules non traitées montrerait que l'huile essentielle de *C. citratus*, le citral et le cisplatine agiraient sur les

cellules LNCaP après la phase G1 de leur cycle. Une augmentation des récepteurs aux androgènes (AR) a été enregistrée, ceci traduirait la sensibilité des récepteurs de ces cellules LNCaP suite au traitement. L'huile essentielle de *C. citratus*, le citral et le cisplatine augmenteraient la sensibilité de ces cellules prostatique aux androgènes.

Un mécanisme d'action comme suit pourrait expliquer le processus mis en jeu par l'huile essentielle de *C. citratus*, le citral. En effet, en empêchant la prolifération des cellules LNCaP du cancer de la prostate, l'huile essentielle de *C. citratus* et le citral son composé majoritaire activeraient P21 et P27, ces protéines devenues actives, vont inhiber le complexe cycline D1/cdk4 et/ou cycline D1/cdk6, ce qui va entraîner la perte de phosphorylation de Rb qui entrainerait un arrêt du cycle en phase G1/S.



(Dobashi,2005).

Cette voie de signalisation impliquant ces protéines traduirait l'action de l'huile essentielle de *C. citratus* et du citral sur les cellules cancéreuses LNCaP du cancer de la prostate.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

CONCLUSION GENERALE

Au cours de notre travail, nous avons déterminé la composition chimique, l'activité antioxydante à travers la capacité à piéger les radicaux libres, l'activité anti-inflammatoire par inhibition de la lipoxygénase et surtout pour la première fois l'activité anti-proliférative des huiles essentielles de *C. giganteus*, *C. citratus*, *O. basilicum*, *O. americanum*, *H. spicigera*, *L. multiflora*, *A. conyzoides*, *E. camaldulensis* et de *Z. officinale*; neuf (09) plantes du Burkina Faso sur les lignées cellulaires LNCaP et PC-3 du cancer de la prostate et celles SF-767 et SF-763 des glioblastomes. Les huiles essentielles de *C. giganteus*, *C. citratus*, *O. basilicum*, *Z. officinale*, *L. multiflora* et *A. conyzoides* ont présenté des effets antiprolifératives, antioxydants par inhibition des radicaux DPPH et ABTS créés *in vitro* et anti-inflammatoires par inhibition de la lipoxygénase. Ces résultats confirment qu'il existe une relation entre ces trois activités. Les huiles essentielles de *C. citratus* et de *L. multiflora* ont présenté respectivement les meilleures activités antioxydantes. Tandis que les huiles essentielles de *C. citratus* et de *Z. officinale* ont présenté les meilleures activités anti-inflammatoires par inhibition de la lipoxygénase. L'huile essentielle de *C. citratus* a présenté la meilleure activité antiproliférative aussi bien sur les lignées cellulaires LNCaP et PC-3 du cancer de la prostate que sur celles SF-767 et SF-763 du glioblastome. La lignée cellulaire LNCaP du cancer de la prostate a été la plus sensible à l'huile essentielle de *C. citratus* et au citral son composé majoritaire. Ainsi, l'effet antiprolifératif de l'huile essentielle de *C. citratus* sur la lignée cellulaire LNCaP du cancer de la prostate est corrélé et est statistiquement égale à celui du citral son composé majoritaire qui correspond au tiers de l'effet présenté par le cisplatine, un anticancéreux de référence utilisé dans la chimiothérapie. Par ailleurs l'huile essentielle de *C. citratus* et le citral son composé majoritaire induisent de l'anoikis et empêchent la migration des cellules LNCaP tout comme le cisplatine. L'huile essentielle de *C. citratus* et le citral entraînent une activation de la protéine P21 et P27 et la répression du rétinoblastome (Rb) des cellules LNCaP du cancer de la prostate à l'image du cisplatine. Ces résultats confirment la forte utilisation de *Cymbopogon citratus* communément appelé citronnelle dans la médecine traditionnelle principalement au Burkina Faso.

En définitive, les résultats de ces travaux montrent que les huiles essentielles de certaines plantes du Burkina Faso ont un potentiel anti-tumoral sur les lignées cellulaires LNCaP et PC-3 du cancer de la prostate, et les lignées cellulaires SF-767 et SF-763 de glioblastome. L'huile essentielle de *C. citratus* particulièrement très active, offre un espoir pour la recherche d'anti-tumoraux pour la chimiothérapie du cancer de la prostate.

PERSPECTIVES

- Poursuivre l'élucidation du mécanisme d'action de l'huile essentielle de *C. citratus* et celle du citral son composé majoritaire par :
 - *La mesure des marqueurs d'apoptose, PARP et Caspase 3 clivé
 - *La détermination du niveau du cycle cellulaire touché (G0/G1, G2/M, S) par cytométrie en flux (FACS) ;
- Tester *in vivo* l'huile essentielle de *C. citratus* et le citral sur des modèles de greffes LNCaP de cancer de prostate sur souris immunodéprimées : analyses histologiques, moléculaires et biochimiques ;
- Effectuer des tests toxicologiques avec l'huile essentielle de *C. citratus* et le citral ;
- Tester les huiles essentielles des plantes de cette étude, principalement celle de *C. citratus* et le citral sur d'autres lignées cellulaires de cancers

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES

- Abate-Shen, C., Shen, M.M., 2000. Molecular genetics of prostate cancer. *Genes Dev.* 14, 2410–2434.
- Abdelkader, M.S.A., Lockwood, G.B., 2011. Volatile oils from the plant and hairy root cultures of *Ageratum conyzoides* L. *Nat. Prod. Res.* 25, 909–917. doi:10.1080/14786419.2010.531724
- Abe, S., Sato, Y., Inoue, S., Ishibashi, H., Maruyama, N., Takizawa, T., Oshima, H., Yamaguchi, H., 2003. [Anti-*Candida albicans* activity of essential oils including Lemongrass (*Cymbopogon citratus*) oil and its component, citral]. *Nihon Ishinkin Gakkai Zasshi Jpn. J. Med. Mycol.* 44, 285–291.
- Abena, A.A., Atipo-Ebata, J.K., Hondi Assah, T., Diatewa, M., 2001. [Psychopharmacological properties of crude extract and essential oil of *Lippia multiflora*]. *L'Encéphale* 27, 360–364.
- Abena, A.A., Diatewa, M., Gakosso, G., Gbeassor, M., Hondi-Assah, T., Ouamba, J.M., 2003. Analgesic, antipyretic and anti-inflammatory effects of essential oil of *Lippia multiflora*. *Fitoterapia* 74, 231–236.
- Adams, R.P., 2007. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. Allured Publishing: Carol Stream, IL, USA, 804 pp.
- Adjanohoun, E.J., Aké Assi, L., 1985. Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Mali, 5e ed., Agence de coopération culturelle et technique, Paris.
- Adjanohoun, E.J., Ake Assi, L., Floret, J.J., Guinko, M.S., Koumare, Ahyi, A.M.R., Raynal, J., 1992. Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques du Mali » Rapport ACCT; 3ème Edition.
- Adjanohoun, E.J., Aké Assi, L., Floret, J.J., Guinko, S., Koumaré, M., Ahyi, A.M.R., Raynal, J., 1979. Médecine traditionnelle et pharmacopée Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Mali, 2e ed., Agence de coopération culturelle et technique, Paris.
- Adjanohoun, F., Boukef, K., Chadaré, M., Cusset, G., Dramane, K., Eymé, J., Gassita, J.N., Gbaguidi, N., Goudoté, E., Guinko, S., Hounnon, P., Issa, L., Keita, A., Kiniffo, H.V., Koné-Bamba, D., MusampaNseyya, A., Saadou, M., Sdogandji, T., de Souza, S., Tchabi, A., Dossa, C.Z., Zohoun, T., 1989. Médecine traditionnelle et Pharmacopée, Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques en République Populaire du Bénin, ACCT, Paris.

Références

- Aggarwal, B.B., Vijayalekshmi, R.V., Sung, B., 2009. Targeting inflammatory pathways for prevention and therapy of cancer: short-term friend, long-term foe. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* 15, 425–430. doi:10.1158/1078-0432.CCR-08-0149
- Ahonkhai, I., Ba, A., Edogun, O., Mu, U., 2009. Antimicrobial activities of the volatile oils of *Ocimum bacilicum* L. and *Ocimum gratissimum* L. (Lamiaceae) against some aerobic dental isolates. *Pak. J. Pharm. Sci.* 22, 405–409.
- Akin, M., Aktumsek, A., Nostro, A., 2012. Antibacterial activity and composition of the essential oils of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. and *Myrtus communis* L. growing in Northern Cyprus. *Afr. J. Biotechnol.* 9.
- Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Watson, J., 1995. *Biologie moléculaire de la cellule*, troisième édition, Flammarion. pp 864–910.
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P., 2002. *Molecular Biology of the Cell* [WWW Document]. URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21054/> (accessed 12.30.13).
- Ali, B.H., Blunden, G., Tanira, M.O., Nemmar, A., 2008. Some phytochemical, pharmacological and toxicological properties of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe): A review of recent research. *Food Chem. Toxicol.* 46, 409–420. doi:10.1016/j.fct.2007.09.085
- Alinkina, E.S., Misharina, T.A., Fatkullina, L.D., Burlakova, E.B., 2012. [Comparison of the antiradical activity of ionol, components of fresh ginger, and its extracts]. *Prikl. Biokhim. Mikrobiol.* 48, 564–569.
- Alitonou, G.A., Avlessi, F., Tchobo, F., Noudogbessi, J.-P., Tonouhewa, A., Yehouenou, B., Menut, C., Sohounhloue, D.K., 2012. Chemical composition and biological activities of essential oils from the leaves of *Cymbopogon giganteus* Chiov. and *Cymbopogon schoenanthus* (L.) Spreng (Poaceae) from Benin. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 6, 1819–1827. doi:10.4314/ijbcs.v6i4.37
- Alzogaray, R.A., Lucia, A., Zerba, E.N., Masuh, H.M., 2011. Insecticidal activity of essential oils from eleven *Eucalyptus* spp. and two hybrids: lethal and sublethal effects of their major components on *Blattella germanica*. *J. Econ. Entomol.* 104, 595–600.
- Ameisen, J.-C., 2005. [Anoïkis]. *Médecine Sci. MS* 21, 117. doi:10.1051/medsci/2005212117
- Anand, P., Kunnumakkara, A.B., Kunnumakara, A.B., Sundaram, C., Harikumar, K.B., Tharakan, S.T., Lai, O.S., Sung, B., Aggarwal, B.B., 2008. Cancer is a preventable disease that requires major lifestyle changes. *Pharm. Res.* 25, 2097–2116. doi:10.1007/s11095-008-9661-9

Références

- Avlessi, F., Alitonou, G., Sohounhloue, D.K., Menut, C., Bessiere, J.M., 2005. Aromatic Plants of Tropical West Africa. Part XIV. Chemical and Biological Investigation of *Lippia multiflora* Mold. Essential Oil from Benina. J. Essent. Oil Res. 17, 405–407. doi:10.1080/10412905.2005.9698944
- Awwad, K., Steinbrink, S.D., Frömel, T., Lill, N., Isaak, J., Häfner, A.-K., Roos, J., Hofmann, B., Heide, H., Geisslinger, G., Steinhilber, D., Freeman, B., Maier, T.J., Fleming, I., 2013. Electrophilic fatty acid species inhibit 5-lipoxygenase and attenuate sepsis-induced pulmonary inflammation. Antioxid. Redox Signal. doi:10.1089/ars.2013.5473
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M., 2008. Biological effects of essential oils--a review. Food Chem. Toxicol. Int. J. Publ. Br. Ind. Biol. Res. Assoc. 46, 446–475. doi:10.1016/j.fct.2007.09.106
- Bamayi, H., Kolo, L., Okogun, I.I., Ijah, U.J.J., 2004. The antimicrobial activities of methanol extracts of *Eucalyptus camaldulensis* and *Terminalia catappa* against some pathogenic microorganisms. Journal of Nigerian Society of Experimental Biology 16 (2) 106–111.
- Bassolé, I.H.N., Guelbeogo, W.M., Nébié, R., Costantini, C., Sagnon, N., Kabore, Z.I., Traoré, S.A., 2003. Ovicidal and larvicidal activity against *Aedes aegypti* and *Anopheles gambiae* complex mosquitoes of essential oils extracted from three spontaneous plants of Burkina Faso. Parassitologia 45, 23–26.
- Bassolé, I.H.N., Lamien-Meda, A., Bayala, B., Obame, L.C., Ilboudo, A.J., Franz, C., Novak, J., Nebié, R.C., Dicko, M.H., 2011. Chemical composition and antimicrobial activity of *Cymbopogon citratus* and *Cymbopogon giganteus* essential oils alone and in combination. Phytomedicine Int. J. Phytother. Phytopharm. 18, 1070–1074. doi:10.1016/j.phymed.2011.05.009
- Bassolé, I.H.N., Lamien-Meda, A., Bayala, B., Tirogo, S., Franz, C., Novak, J., Nebié, R.C., Dicko, M.H., 2010. Composition and antimicrobial activities of *Lippia multiflora* Moldenke, *Mentha x piperita* L. and *Ocimum basilicum* L. essential oils and their major monoterpene alcohols alone and in combination. Mol. Basel Switz. 15, 7825–7839. doi:10.3390/molecules15117825
- Basu, S., Tindall, D.J., 2010. Androgen Action in Prostate Cancer. Horm. Cancer 1, 223–228. doi:10.1007/s12672-010-0044-4
- Beaulieu, J.F., 1999. Integrins and human intestinal cell functions. Front. Biosci. J. Virtual Libr. 4, D310–321.

Références

- Becker, K., Schroecksnadel, S., Gostner, J., Zaknun, C., Schennach, H., Uberall, F., Fuchs, D., 2013. Comparison of in vitro tests for antioxidant and immunomodulatory capacities of compounds. *Phytomedicine Int. J. Phytother. Phytopharm.* doi:10.1016/j.phymed.2013.08.008
- Bennani, H., 2007. Quel impact de l'huile d'argan sur le cancer de la prostate? *Technol Lab* 6, 8–10.
- Berger, M.M., 2006. Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. *Nutr. Clin. Métabolisme* 20, 48–53. doi:10.1016/j.nupar.2005.12.005
- Bhattacharjee, S.K., 2005. *Handbook of Aromatic Plants*. Pointer Publishers, jaipur 302 003 (Raj) India, ISBN 81-7132-407-1.
- Bhowmick, R., Tin Maung, N.H., Hurley, B.P., Ghanem, E.B., Gronert, K., McCormick, B.A., Leong, J.M., 2013. Systemic disease during *Streptococcus pneumoniae* acute lung infection requires 12-lipoxygenase-dependent inflammation. *J. Immunol. Baltim. Md* 191, 5115–5123. doi:10.4049/jimmunol.1300522
- Bicas, J.L., Neri-Numa, I.A., Ruiz, A.L.T.G., De Carvalho, J.E., Pastore, G.M., 2011. Evaluation of the antioxidant and antiproliferative potential of bioflavors. *Food Chem. Toxicol. Int. J. Publ. Br. Ind. Biol. Res. Assoc.* 49, 1610–1615. doi:10.1016/j.fct.2011.04.012
- Bivik, C., Rosdahl, I., Ollinger, K., 2007. Hsp70 protects against UVB induced apoptosis by preventing release of cathepsins and cytochrome c in human melanocytes. *Carcinogenesis* 28, 537–544. doi:10.1093/carcin/bgl1152
- Bogninou-Agbidinokoun, G.S., Yedomonhan, H., Avlessi, F., Sohounhloué, D., Chalard, P., Chalchat, J.-C., Delort, L., Billard, H., Caldefie-Chézet, F., Figueredo, G., 2013. Volatile oil composition and antiproliferative activity of *Hyptis spicigera* Lam against human breast adenocarcinoma cells MCF-7. *Research Journal of Chemical Sciences* Vol. 3(1), 27-31.
- Boik, J., 2001. *Natural compounds in cancer therapy*. Oregon Medical Press Minnesota.
- Boily, Y., Vapuyvelde, L., 1986. Screening of Medicinal Plants of Rwanda for Antimicrobial Activity. *Journal of Ethnopharmacology*. 6: 1–13.
- Bossy-Wetzel, E., Newmeyer, D.D., Green, D.R., 1998. Mitochondrial cytochrome c release in apoptosis occurs upstream of DEVD-specific caspase activation and independently of mitochondrial transmembrane depolarization. *EMBO J.* 17, 37–49.

Références

- Bostwick, D.G., Burke, H.B., Djakiew, D., Euling, S., Ho, S., Landolph, J., Morrison, H., Sonawane, B., Shifflett, T., Waters, D.J., Timms, B., 2004. Human prostate cancer risk factors. *Cancer* 101, 2371–2490. doi:10.1002/cncr.20408
- Bou, D.D., Lago, J.H.G., Figueiredo, C.R., Matsuo, A.L., Guadagnin, R.C., Soares, M.G., Sartorelli, P., 2013. Chemical composition and cytotoxicity evaluation of essential oil from leaves of *Casearia sylvestris*, its main compound α -zingiberene and derivatives. *Molecules* 18, 9477–9487. doi:10.3390/molecules18089477
- Bouda, H., Tapondjou, L.A., Fontem, D.A., Gumedzoe, M.Y.D., 2001. Effect of essential oils from leaves of *Ageratum conyzoides*, *Lantana camara* and *Chromolaena odorata* on the mortality of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera, curculionidae). *J. Stored Prod. Res.* 37, 103–109.
- Boudreau, N.J., Jones, P.L., 1999. Extracellular matrix and integrin signalling: the shape of things to come. *Biochem. J.* 339 (Pt 3), 481–488.
- Bruneton J., 1993. *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales* 2ème Ed. 915 pages Tec. et Doc. Lavoisier, Paris [WWW Document]. URL <https://sites.google.com/site/pastoraldz/plantes-medicinales/bibliographie> (accessed 12.9.13).
- Burns, F.J., Tannock, I.F., 1970. On the existence of a go-phase in the cell cycle. *Cell Prolif.* 3, 321–334. doi:10.1111/j.1365-2184.1970.tb00340.x
- Burt, S., 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. *Int. J. Food Microbiol.* 94, 223–253. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022
- Califice, S., Waltregny, D., Castronovo, V., van den Brûle, F., 2004. [Prostate carcinoma cell lines and apoptosis: a review]. *Rev. Médicale Liège* 59, 704–710.
- Carlini, E.A., Contar J de, D.P., Silva-Filho, A.R., da Silveira-Filho, N.G., Frochtengarten, M.L., Bueno, O.F., 1986. Pharmacology of lemongrass (*Cymbopogon citratus* Stapf). I. Effects of teas prepared from the leaves on laboratory animals. *J. Ethnopharmacol.* 17, 37–64.
- Carrasco, F.R., Schmidt, G., Romero, A.L., Sartoretto, J.L., Caparroz-Assef, S.M., Bersani-Amado, C.A., Cuman, R.K.N., 2009. Immunomodulatory activity of *Zingiber officinale* Roscoe, *Salvia officinalis* L. and *Syzygium aromaticum* L. essential oils: evidence for humor- and cell-mediated responses. *J. Pharm. Pharmacol.* 61, 961–967. doi:10.1211/jpp/61.07.0017

Références

- Cavalcanti, E.S.B., Morais, S.M. de, Lima, M.A.A., Santana, E.W.P., 2004. Larvicidal activity of essential oils from Brazilian plants against *Aedes aegypti* L. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 99, 541–544. doi:/S0074-02762004000500015
- CBTRUS, 2008. statistical report: primary brain tumors in the United States, 1998-2002. Central Brain Tumor Registry of the United States, 2000-2004. (Accessed July 7, 2008, at <http://www.cbtrus.org/reports/2007-2008/2007report.pdf>).
- Cengiz, S., Cavas, L., Yurdakoc, K., Pohnert, G., 2011. The sesquiterpene caulerpenyne from *Caulerpa* spp. is a lipoxygenase inhibitor. *Mar. Biotechnol. N. Y.* 13, 321–326. doi:10.1007/s10126-010-9303-1
- Cerutti, P.A., Trump, B.F., 1991. Inflammation and oxidative stress in carcinogenesis. *Cancer Cells Cold Spring Harb. N* 1989 3, 1–7.
- Cha, S., 2006. Update on brain tumor imaging: from anatomy to physiology. *AJNR Am. J. Neuroradiol.* 27, 475–487.
- Chang, C.-C., Chen, W.-C., Ho, T.-F., Wu, H.-S., Wei, Y.-H., 2011. Development of natural anti-tumor drugs by microorganisms. *J. Biosci. Bioeng.* 111, 501–511. doi:10.1016/j.jbiosc.2010.12.026
- Chaouki, W., Leger, D.Y., Liagre, B., Beneytout, J.-L., Hmamouchi, M., 2009. Citral inhibits cell proliferation and induces apoptosis and cell cycle arrest in MCF-7 cells. *Fundam. Clin. Pharmacol.* 23, 549–556. doi:10.1111/j.1472-8206.2009.00738.x
- Charpentier, B., 2008. [New therapeutic targets for antibodies and recombinant proteins in organ transplantation]. *Bull. Académie Natl. Médecine* 192, 883–893; discussion 893–894.
- Cheng, S.-S., Huang, C.-G., Chen, Y.-J., Yu, J.-J., Chen, W.-J., Chang, S.-T., 2009. Chemical compositions and larvicidal activities of leaf essential oils from two eucalyptus species. *Bioresour. Technol.* 100, 452–456. doi:10.1016/j.biortech.2008.02.038
- Chi, A.S., Wen, P.Y., 2007. Inhibiting kinases in malignant gliomas. *Expert Opin. Ther. Targets* 11, 473–496. doi:10.1517/14728222.11.4.473
- Chiarugi, P., Giannoni, E., 2008. Anoikis: a necessary death program for anchorage-dependent cells. *Biochem. Pharmacol.* 76, 1352–1364. doi:10.1016/j.bcp.2008.07.023
- Chokechaijaroenporn, O., Bunyaphrathatsara, N., Kongchuensin, S., 1994. Mosquito repellent activities of ocimum volatile oils. *Phytomedicine Int. J. Phytother. Phytopharm.* 1, 135–139. doi:10.1016/S0944-7113(11)80031-0

Références

- Chowdhury, I., Tharakan, B., Bhat, G.K., 2006. Current concepts in apoptosis: the physiological suicide program revisited. *Cell. Mol. Biol. Lett.* 11, 506–525. doi:10.2478/s11658-006-0041-3
- Cimanga, K., Kambu, K., Tona, L., Apers, S., De Bruyne, T., Hermans, N., Totté, J., Pieters, L., Vlietinck, A.J., 2002. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. *J. Ethnopharmacol.* 79, 213–220.
- Clayton, W., 1968. Gramineae. In: *Flora of West Africa: Tropical Africa*, vol. 3, pp. 349–512.
- Connolly, J.D., Hill, R.A., 1991. *Dictionary of Terpenoids*. Vol. 1: Mono- and Sesquiterpenoids, Vol. 2: Di- and higher Terpenoids, Vol. 3: Indexes. Chapman & Hall London, New York, Tokyo, Melbourne, Madras.
- Conti, B., Canale, A., Cioni, P.L., Flamini, G., Rifichi, A., 2011. *Hyptis suaveolens* and *Hyptis spicigera* (Lamiaceae) essential oils: qualitative analysis, contact toxicity and repellent activity against *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Dryophthoridae). *J. Pest Sci.* 84, 219–228. doi:10.1007/s10340-010-0343-0
- Coussens, L.M., Werb, Z., 2002. Inflammation and cancer. *Nature* 420, 860–867. doi:10.1038/nature01322
- Cragg, G.M., Newman, D.J., Snader, K.M., 1997. *Journal of Natural Products* 60, 52.
- Da Cruz Francisco, J., Järvenpää, E.P., Huopalahti, R., Sivik, B., 2001. Comparison of eucalyptus camaldulensis Dehn. oils from Mozambique as obtained by hydrodistillation and supercritical carbon dioxide extraction. *J. Agric. Food Chem.* 49, 2339–2342.
- Dar, M.Y., Shah, W.A., Rather, M.A., Qurishi, Y., Hamid, A., Qurishi, M.A., 2011. Chemical composition, in vitro cytotoxic and antioxidant activities of the essential oil and major constituents of *Cymbopogon jawarancusa* (Kashmir). *Food Chem.* 129, 1606–1611. doi:10.1016/j.foodchem.2011.06.016
- Davies, K.J., 2000. Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacement systems. *IUBMB Life* 50, 279–289. doi:10.1080/713803728
- De Martino, L., D'Arena, G., Minervini, M.M., Deaglio, S., Fusco, B.M., Cascavilla, N., De Feo, V., 2009. *Verbena officinalis* essential oil and its component citral as apoptotic-inducing agent in chronic lymphocytic leukemia. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* 22, 1097–1104.

Références

- De Melo, N.I., Magalhaes, L.G., de Carvalho, C.E., Wakabayashi, K.A.L., de P Aguiar, G., Ramos, R.C., Mantovani, A.L.L., Turatti, I.C.C., Rodrigues, V., Groppo, M., Cunha, W.R., Veneziani, R.C.S., Crotti, A.E.M., 2011. Schistosomicidal activity of the essential oil of *Ageratum conyzoides* L. (Asteraceae) against adult *Schistosoma mansoni* worms. *Mol. Basel Switz.* 16, 762–773. doi:10.3390/molecules16010762
- De Oliveira, T.L.C., Soares, R. de A., Piccoli, R.H., 2013. A Weibull model to describe antimicrobial kinetics of oregano and lemongrass essential oils against *Salmonella Enteritidis* in ground beef during refrigerated storage. *Meat Sci.* 93, 645–651. doi:10.1016/j.meatsci.2012.11.004
- Defraigne, J.O., Pincemail, J., 2008. Stress oxydant et antioxydants : mythes et réalités. *RMLG Rev. Médicale Liège* 63, 10–19.
- Del Castillo, M.D., Ames, J.M., Gordon, M.H., 2002. Effect of roasting on the antioxidant activity of coffee brews. *J. Agric. Food Chem.* 50, 3698–3703.
- Delmas, C., Heliez, C., Cohen-Jonathan, E., End, D., Bonnet, J., Favre, G., Toulas, C., 2002. Farnesyltransferase inhibitor, R115777, reverses the resistance of human glioma cell lines to ionizing radiation. *Int. J. Cancer J. Int. Cancer* 100, 43–48. doi:10.1002/ijc.10439
- Díaz-Montero, C.M., Wygant, J.N., McIntyre, B.W., 2006. PI3-K/Akt-mediated anoikis resistance of human osteosarcoma cells requires Src activation. *Eur. J. Cancer Oxf. Engl.* 1990 42, 1491–1500. doi:10.1016/j.ejca.2006.03.007
- Djibo, A.K., Samaté, A.D., Nacro, M., 2004. Composition chimique de l'huile essentielle de *Ocimum americanum* Linn., syn. *O. canum* Sims du Burkina Faso. *Comptes Rendus Chim.* 7, 1033–1037. doi:10.1016/j.crci.2003.12.029
- Dobashi, Y., 2005. Cell cycle regulation and its aberrations in human lung carcinoma. *Pathol. Int.* 55, 95–105. doi:10.1111/j.1440-1827.2005.01799.x
- Duman, A.D., Telci, I., Dayisoğlu, K.S., Digrak, M., Demirtas, I., Alma, M.H., 2010. Evaluation of bioactivity of linalool-rich essential oils from *Ocimum basilicum* and *Coriandrum sativum* varieties. *Nat. Prod. Commun.* 5, 969–974.
- Duquénois, P., Anton, R., 1968. [Search for derivatives of anthracene in 2 African Cassia: *Cassia nigricans* Vahl et *Cassia podocarpa* Guill. et Perr]. *Ann. Pharm. Fr.* 26, 607–614.
- Dutta, B.K., Karmakar, S., Naglot, A., Aich, J.C., Begam, M., 2007. Anticandidial activity of some essential oils of a mega biodiversity hotspot in India. *Mycoses* 50, 121–124. doi:10.1111/j.1439-0507.2006.01332.x

Références

- Eccles, S.A., Welch, D.R., 2007. Metastasis: recent discoveries and novel treatment strategies. *Lancet* 369, 1742–1757. doi:10.1016/S0140-6736(07)60781-8
- Edris, A.E., Farrag, E.S., 2003. Antifungal activity of peppermint and sweet basil essential oils and their major aroma constituents on some plant pathogenic fungi from the vapor phase. *Nahr.* 47, 117–121. doi:10.1002/food.200390021
- Eisenberg, T., Carmona-Gutierrez, D., Büttner, S., Tavernarakis, N., Madeo, F., 2010. Necrosis in yeast. *Apoptosis Int. J. Program. Cell Death* 15, 257–268.
- El-Ghorab, A.H., Nauman, M., Anjum, F.M., Hussain, S., Nadeem, M., 2010. A comparative study on chemical composition and antioxidant activity of ginger (*Zingiber officinale*) and cumin (*Cuminum cyminum*). *J. Agric. Food Chem.* 58, 8231–8237. doi:10.1021/jf101202x
- El-Readi, M.Z., Eid, H.H., Ashour, M.L., Eid, S.Y., Labib, R.M., Sporer, F., Wink, M., 2013. Variations of the chemical composition and bioactivity of essential oils from leaves and stems of *Liquidambar styraciflua* (Altingiaceae). *J. Pharm. Pharmacol.* 65, 1653–1663. doi:10.1111/jphp.12142
- El-Seedi, H.R., Khalil, N.S., Azeem, M., Taher, E.A., Göransson, U., Pålsson, K., Borg-Karlson, A.-K., 2012. Chemical composition and repellency of essential oils from four medicinal plants against *Ixodes ricinus* nymphs (Acari: Ixodidae). *J. Med. Entomol.* 49, 1067–1075.
- Erlér, F., Ulug, I., Yalcinkaya, B., 2006. Repellent activity of five essential oils against *Culex pipiens*. *Fitoterapia* 77, 491–494. doi:10.1016/j.fitote.2006.05.028
- Erwig, L.-P., Henson, P.M., 2008. Clearance of apoptotic cells by phagocytes. *Cell Death Differ.* 15, 243–250. doi:10.1038/sj.cdd.4402184
- Fang, J., Seki, T., Maeda, H., 2009. Therapeutic strategies by modulating oxygen stress in cancer and inflammation. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 61, 290–302. doi:10.1016/j.addr.2009.02.005
- Ferraz, R.P.C., Cardoso, G.M.B., Da Silva, T.B., Fontes, J.E. do N., Prata, A.P. do N., Carvalho, A.A., Moraes, M.O., Pessoa, C., Costa, E.V., Bezerra, D.P., 2013. Antitumour properties of the leaf essential oil of *Xylopia frutescens* Aubl. (Annonaceae). *Food Chem* 141, 196–200. doi:10.1016/j.foodchem.2013.02.114
- Fink, S.L., Cookson, B.T., 2005. Apoptosis, pyroptosis, and necrosis: mechanistic description of dead and dying eukaryotic cells. *Infect. Immun.* 73, 1907–1916.
- Finkel, T., Holbrook, N.J., 2000. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 408, 239–247. doi:10.1038/35041687

Références

- Fiori, A.C.G., Schwan-Estrada, K.R.F., Stangarlin, J.R., Vida, J.B., Scapim, C.A., Cruz, M.E.S., Pascholati, S.F., 2000. Fungizide Eigenschaften von Blattextrakten und essentiellen Ölen einige Heilkräuter gegen *Didymella bryoniae*. J. Phytopathol. 148, 483–487. doi:10.1046/j.1439-0434.2000.00524.x
- Fisher, J.L., Schwartzbaum, J.A., Wrensch, M., Wiemels, J.L., 2007. Epidemiology of brain tumors. Neurol. Clin. 25, 867–890, vii. doi:10.1016/j.ncl.2007.07.002
- Fogang, H.P.D., Maggi, F., Tapondjou, L.A., Womeni, H.M., Papa, F., Quassinti, L., Bramucci, M., Vitali, L.A., Petrelli, D., Lupidi, G., Vittori, S., Barboni, L., 2014. In vitro biological activities of seed essential oils from the Cameroonian spices *Afrostryax lepidophyllus* MILDBR. and *Scorodophloeus zenkeri* HARMS rich in sulfur-containing compounds. Chem. Biodivers. 11, 161–169. doi:10.1002/cbdv.201300237.
- Foster, I., 2008. Cancer: A cell cycle defect. Radiography 14, 144–149.
- Francisco, V., Figueirinha, A., Neves, B.M., García-Rodríguez, C., Lopes, M.C., Cruz, M.T., Batista, M.T., 2011. *Cymbopogon citratus* as source of new and safe anti-inflammatory drugs: bio-guided assay using lipopolysaccharide-stimulated macrophages. J. Ethnopharmacol. 133, 818–827. doi:10.1016/j.jep.2010.11.018
- Freitas, F.P., Freitas, S.P., Lemos, G.C.S., Vieira, I.J.C., Gravina, G.A., Lemos, F.J.A., 2010. Comparative larvicidal activity of essential oils from three medicinal plants against *Aedes aegypti* L. Chem. Biodivers. 7, 2801–2807. doi:10.1002/cbdv.200900260
- Frenkel, K., 1992. Carcinogen-mediated oxidant formation and oxidative DNA damage. Pharmacol. Ther. 53, 127–166.
- Frisch, S.M., Screaton, R.A., 2001. Anoikis mechanisms. Curr. Opin. Cell Biol. 13, 555–562.
- Furnari, F.B., Fenton, T., Bachoo, R.M., Mukasa, A., Stommel, J.M., Stegh, A., Hahn, W.C., Ligon, K.L., Louis, D.N., Brennan, C., Chin, L., DePinho, R.A., Cavenee, W.K., 2007. Malignant astrocytic glioma: genetics, biology, and paths to treatment. Genes Dev. 21, 2683–2710. doi:10.1101/gad.1596707
- Gad-Shayne, C., 1999. Alternatives to in vivo studies in toxicology. In: Balantyne B., Marrs T., Syversen T., editors. General and applied toxicology. Vol. 1. USA: Grove's Dictionari's Inc.
- García, A.J., Vega, M.D., Boettiger, D., 1999. Modulation of cell proliferation and differentiation through substrate-dependent changes in fibronectin conformation. Mol. Biol. Cell 10, 785–798.

Références

- Garcia, D.G., Amorim, L.M.F., de Castro Faria, M.V., Freire, A.S., Santelli, R.E., Da Fonseca, C.O., Quirico-Santos, T., Burth, P., 2010. The anticancer drug perillyl alcohol is a Na/K-ATPase inhibitor. *Mol. Cell. Biochem.* 345, 29–34. doi:10.1007/s11010-010-0556-9
- Gbenou, J.D., Ahounou, J.F., Akakpo, H.B., Laleye, A., Yayi, E., Gbaguidi, F., Baba-Moussa, L., Darboux, R., Dansou, P., Moudachirou, M., Kotchoni, S.O., 2013. Phytochemical composition of *Cymbopogon citratus* and *Eucalyptus citriodora* essential oils and their anti-inflammatory and analgesic properties on Wistar rats. *Mol. Biol. Rep.* 40, 1127–1134. doi:10.1007/s11033-012-2155-1
- Gbolade, A.A., Onayade, O.A., Ayinde, B.A., 1999. Insecticidal Activity of *Ageratum conyzoides* L. Volatile Oil against *Callosobruchus maculatus* F. in Seed Treatment and Fumigation Laboratory Tests. *Int. J. Trop. Insect Sci.* 19, 237–240. doi:10.1017/S1742758400019536
- Ghasemi, V., Moharramipour, S., Tahmasbi, G., 2011. Biological activity of some plant essential oils against *Varroa destructor* (Acari: Varroidae), an ectoparasitic mite of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Exp. Appl. Acarol.* 55, 147–154. doi:10.1007/s10493-011-9457-1
- Ghayur, M.N., Gilani, A.H., 2005. Pharmacological Basis for the Medicinal Use of Ginger in Gastrointestinal Disorders. *Dig. Dis. Sci.* 50, 1889–1897. doi:10.1007/s10620-005-2957-2
- Gilmore, A.P., 2005. Anoikis. *Cell Death Differ.* 12 Suppl 2, 1473–1477. doi:10.1038/sj.cdd.4401723
- Globocan 2008, IARC, 2010, 2013. Cancer [WWW Document]. WHO. URL <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/fr/index.html> (accessed 9.7.13).
- Gnoula C., Mégalizzi V., De Nève N., Sauvage S., Ribaucour F., Guissou I.P., Duez P., Dubois J., Ingrassia L., Lefranc F., Kiss R. and Mijatovic T. (2008). Balanitin-6 and -7: Diosgenyl saponins isolated from *Balanites aegyptiaca* Del. display significant anti-tumor activity *in vitro* and *in vivo*. *International Journal of Oncology* 32: 5-15.
- Gonny, M., Bradesi, P., Casanova, J., 2004. Identification of the components of the essential oil from wild Corsican *Daucus carota* L. using ¹³C-NMR spectroscopy. *Flavour Fragr. J.* 19, 424–433. doi:10.1002/ffj.1330
- González, D., Espino, J., Bejarano, I., López, J.J., Rodríguez, A.B., Pariente, J.A., 2010. Caspase-3 and -9 are activated in human myeloid HL-60 cells by calcium signal. *Mol. Cell. Biochem.* 333, 151–157. doi:10.1007/s11010-009-0215-1

Références

- Gould, M.N., 1997. Cancer chemoprevention and therapy by monoterpenes. *Environ. Health Perspect.* 105, 977–979.
- Govindarajan, M., 2011. Larvicidal and repellent properties of some essential oils against *Culex tritaeniorhynchus* Giles and *Anopheles subpictus* Grassi (Diptera: Culicidae). *Asian Pac. J. Trop. Med.* 4, 106–111. doi:10.1016/S1995-7645(11)60047-3
- Govindarajan, M., Sivakumar, R., Rajeswary, M., Yogalakshmi, K., 2013. Chemical composition and larvicidal activity of essential oil from *Ocimum basilicum* (L.) against *Culex tritaeniorhynchus*, *Aedes albopictus* and *Anopheles subpictus* (Diptera: Culicidae). *Exp. Parasitol.* 134, 7–11. doi:10.1016/j.exppara.2013.01.018
- Govindarajan, R., Vijayakumar, M., Pushpangadan, P., 2005. Antioxidant approach to disease management and the role of “Rasayana” herbs of Ayurveda. *J. Ethnopharmacol.* 99, 165–178. doi:10.1016/j.jep.2005.02.035
- 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. *J. Ethnopharmacol.* 73, 347–377.
- Green, D.R., Reed, J.C., 1998. Mitochondria and apoptosis. *Science* 281, 1309–1312.
- Greenlee, R.T., Murray, T., Bolden, S., Wingo, P.A., 2000. Cancer statistics, 2000. *CA. Cancer J. Clin.* 50, 7–33.
- Guérin, S., Hill, C., 2010. [Cancer epidemiology in France in 2010, comparison with the USA]. *Bull. Cancer (Paris)* 97, 47–54. doi:10.1684/bdc.2010.1013
- Gupta, S., Srivastava, M., Ahmad, N., Sakamoto, K., Bostwick, D.G., Mukhtar, H., 2001. Lipoxxygenase-5 is overexpressed in prostate adenocarcinoma. *Cancer* 91, 737–743.
- Gupta, S.C., Sobti, S.N., 1990. *Indian Perfum.* 34 (4) 253.
- Habila, N., Agbaji, A.S., Ladan, Z., Bello, I.A., Haruna, E., Dakare, M.A., Atolagbe, T.O., 2010. Evaluation of In Vitro Activity of Essential Oils against *Trypanosoma brucei* brucei and *Trypanosoma evansi*. *J. Parasitol. Res.* 2010. doi:10.1155/2010/534601
- Hall, P.A., Levison, D.A., 1990. Review: assessment of cell proliferation in histological material. *J. Clin. Pathol.* 43, 184–192.
- Hardell, L., Carlberg, M., Söderqvist, F., Mild, K.H., Morgan, L.L., 2007. Long-term use of cellular phones and brain tumours: increased risk associated with use for > or =10 years. *Occup. Environ. Med.* 64, 626–632. doi:10.1136/oem.2006.029751
- Hartwell, L.H., Weinert, T.A., 1989. Checkpoints: controls that ensure the order of cell cycle events. *Science* 246, 629–634.

Références

- Heim, K.E., Tagliaferro, A.R., Bobilya, D.J., 2002. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *J. Nutr. Biochem.* 13, 572–584.
- Helal, G.A., Sarhan, M.M., Abu Shahla, A.N.K., Abou El-Khair, E.K., 2006. Antimicrobial activity of some essential oils against microorganisms deteriorating fruit juices. *Mycobiology* 34, 219–229. doi:10.4489/MYCO.2006.34.4.219
- Hernandez Ochoa, L.R., 2005. Substitution de solvants et matieres actives de synthese par un combine“solvant/actif” d’origine vegetale.
- Herzi, N., Bouajila, J., Camy, S., Cazaux, S., Romdhane, M., Condoret, J.S., 2013. Comparison between supercritical CO₂ extraction and hydrodistillation for two species of eucalyptus: yield, chemical composition, and antioxidant activity. *J. Food Sci.* 78, C667–672. doi:10.1111/1750-3841.12113
- Hohmann, M.S.N., Cardoso, R.D.R., Pinho-Ribeiro, F.A., Crespigio, J., Cunha, T.M., Alves-Filho, J.C., da Silva, R.V., Pinge-Filho, P., Ferreira, S.H., Cunha, F.Q., Casagrande, R., Verri, W.A., Jr, 2013. 5-lipoxygenase deficiency reduces acetaminophen-induced hepatotoxicity and lethality. *BioMed Res. Int.* 2013, 627046. doi:10.1155/2013/627046
- Horoszewicz, J.S., Leong, S.S., Chu, T.M., Wajzman, Z.L., Friedman, M., Papsidero, L., Kim, U., Chai, L.S., Kakati, S., Arya, S.K., Sandberg, A.A., 1980. The LNCaP cell line--a new model for studies on human prostatic carcinoma. *Prog. Clin. Biol. Res.* 37, 115–132.
- Horoszewicz, J.S., Leong, S.S., Kawinski, E., Karr, J.P., Rosenthal, H., Chu, T.M., Mirand, E.A., Murphy, G.P., 1983. LNCaP model of human prostatic carcinoma. *Cancer Res.* 43, 1809–1818.
- Hossain, M.A., Kabir, M.J., Salehuddin, S.M., Rahman, S.M.M., Das, A.K., Singha, S.K., Alam, M.K., Rahman, A., 2010. Antibacterial properties of essential oils and methanol extracts of sweet basil *Ocimum basilicum* occurring in Bangladesh. *Pharm. Biol.* 48, 504–511. doi:10.3109/13880200903190977
- Hussain, A.I., Anwar, F., Chatha, S.A.S., Jabbar, A., Mahboob, S., Nigam, P.S., 2010. *Rosmarinus officinalis* essential oil: antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities. *Braz. J. Microbiol. Publ. Braz. Soc. Microbiol.* 41, 1070–1078. doi:10.1590/S1517-838220100004000027
- Hussain, S.P., Hofseth, L.J., Harris, C.C., 2003. Radical causes of cancer. *Nat. Rev. Cancer* 3, 276–285. doi:10.1038/nrc1046

Références

- Iacob, G., Dinca, E.B., 2009. Current data and strategy in glioblastoma multiforme. *J. Med. Life* 2, 386–393.
- Inskip, P.D., Tarone, R.E., Hatch, E.E., Wilcosky, T.C., Shapiro, W.R., Selker, R.G., Fine, H.A., Black, P.M., Loeffler, J.S., Linet, M.S., 2001. Cellular-telephone use and brain tumors. *N. Engl. J. Med.* 344, 79–86. doi:10.1056/NEJM200101113440201
- Isaacs, J.T., 1994. Role of androgens in prostatic cancer. *Vitam. Horm.* 49, 433–502.
- Issazadeh-Navikas, S., 2013. Alerting the immune system via stromal cells is central to the prevention of tumor growth. *Oncoimmunology* 2. doi:10.4161/onci.27091.
- Iwu, M.M., 1995. *Handbook of African Medicinal Plants*. CRC Press, Boca Raton, P. 236.
- Izyumov, D.S., Avetisyan, A.V., Pletjushkina, O.Y., Sakharov, D.V., Wirtz, K.W., Chernyak, B.V., Skulachev, V.P., 2004. “Wages of fear”: transient threefold decrease in intracellular ATP level imposes apoptosis. *Biochim. Biophys. Acta* 1658, 141–147. doi:10.1016/j.bbabo.2004.05.007
- Jackson, A.L., Loeb, L.A., 2001. The contribution of endogenous sources of DNA damage to the multiple mutations in cancer. *Mutat. Res.* 477, 7–21.
- Jeena, K., Liju, V.B., Kuttan, R., 2011. A preliminary 13-week oral toxicity study of ginger oil in male and female Wistar rats. *Int. J. Toxicol.* 30, 662–670. doi:10.1177/1091581811419023
- Jeena, K., Liju, V.B., Kuttan, R., 2013. Antioxidant, anti-inflammatory and antinociceptive activities of essential oil from ginger. *Indian J. Physiol. Pharmacol.* 57, 51–62.
- Jemal, A., Siegel, R., Xu, J., Ward, E., 2010. Cancer Statistics, 2010. *CA. Cancer J. Clin.* 60, 277–300. doi:10.3322/caac.20073
- Jin, Y., Pan, X., Cao, L., Ma, B., Fu, Z., 2013. Embryonic exposure to cis-bifenthrin enantioselectively induces the transcription of genes related to oxidative stress, apoptosis and immunotoxicity in zebrafish (*Danio rerio*). *Fish Shellfish Immunol.* 34, 717–723. doi:10.1016/j.fsi.2012.11.046
- Jirovetz, L., Buchbauer, G., Eller, G., Ngassoum, M.B., Maponmetsem, P.M., 2007. Composition and Antimicrobial Activity of *Cymbopogon giganteus* (Hochst.) Chiov. Essential Flower, Leaf and Stem Oils from Cameroon. *J. Essent. Oil Res.* 19, 485–489. doi:10.1080/10412905.2007.9699959
- Jokhadze, M., Eristavi, L., Kutchukhidze, J., Chariot, A., Angenot, L., Tits, M., Jansen, O., Frédérick, M., 2007. In vitro cytotoxicity of some medicinal plants from Georgian Amaryllidaceae. *Phytother. Res. PTR* 21, 622–624. doi:10.1002/ptr.2130

Références

- Joniau, S., Goeman, L., Pennings, J., Van Poppel, H., 2005. Prostatic intraepithelial neoplasia (PIN): importance and clinical management. *Eur. Urol.* 48, 379–385. doi:10.1016/j.eururo.2005.03.015
- Kaighn, M.E., Narayan, K.S., Ohnuki, Y., Lechner, J.F., Jones, L.W., 1979. Establishment and characterization of a human prostatic carcinoma cell line (PC-3). *Invest. Urol.* 17, 16–23.
- Kathirvel, P., Ravi, S., 2012. Chemical composition of the essential oil from basil (*Ocimum basilicum* Linn.) and its in vitro cytotoxicity against HeLa and HEP-2 human cancer cell lines and NIH 3T3 mouse embryonic fibroblasts. *Nat. Prod. Res.* 26, 1112–1118. doi:10.1080/14786419.2010.545357
- Kawajiri, H., Hsi, L.C., Kamitani, H., Ikawa, H., Geller, M., Ward, T., Eling, T.E., Glasgow, W.C., 2002. Arachidonic and linoleic acid metabolism in mouse intestinal tissue: evidence for novel lipoxygenase activity. *Arch. Biochem. Biophys.* 398, 51–60. doi:10.1006/abbi.2001.2685
- Kawanishi, S., Hiraku, Y., Oikawa, S., 2001. Mechanism of guanine-specific DNA damage by oxidative stress and its role in carcinogenesis and aging. *Mutat. Res.* 488, 65–76.
- Kelly, S., 1996. *Eucalyptus*. Thomas Nelson Australia Vol. 11, pp. 22–30.
- Kennedy-Feitosa, E., Pinto, R.F.S., Pires, K.M.P., Monteiro, A.P.T., Machado, M.N., Santos, J.C., Ribeiro, M.L., Zin, W.A., Canetti, C.A., Romana-Souza, B., Porto, L.C., Valenca, S.S., 2014. The influence of 5-lipoxygenase on cigarette smoke-induced emphysema in mice. *Biochim. Biophys. Acta* 1840, 199–208. doi:10.1016/j.bbagen.2013.09.028
- Kerharo J., Adam J.G., 1974. *La pharmacopée Sénégalaise traditionnelle. Plantes médicinales et toxiques*. Editions Vigot Frères, Paris,.
- Kerr, J.F.R., 2002. History of the events leading to the formulation of the apoptosis concept. *Toxicology* 181–182, 471–474.
- Kiendrebeogo, M., Coulibaly, A.Y., Nebie, R.C.H., Zeba, B., Lamien, C.E., Lamien-Meda, A., Nacoulma, O.G., 2011. Antiacetylcholinesterase and antioxidant activity of essential oils from six medicinal plants from Burkina Faso. *Rev. Bras. Farmacogn.* 21, 63–69. doi:10.1590/S0102-695X2011005000008
- Kim, J.B., Yu, J.-H., Ko, E., Lee, K.-W., Song, A.K., Park, S.Y., Shin, I., Han, W., Noh, D.Y., 2010. The alkaloid Berberine inhibits the growth of Anoikis-resistant MCF-7 and MDA-MB-231 breast cancer cell lines by inducing cell cycle arrest.

Références

- Phytomedicine Int. J. Phytother. Phytopharm. 17, 436–440. doi:10.1016/j.phymed.2009.08.012
- Kimbaris, A.C., Siatis, N.G., Daferera, D.J., Tarantilis, P.A., Pappas, C.S., Polissiou, M.G., 2006. Comparison of distillation and ultrasound-assisted extraction methods for the isolation of sensitive aroma compounds from garlic (*Allium sativum*). *Ultrason. Sonochem.* 13, 54–60. doi:10.1016/j.ultsonch.2004.12.003
- Kouamé, R.O., Yolou, S., Boti, J.B., Kouadio, N.G., Coffi, K., Coffy, A., Casanova, J., 2008. Etude Chimique et Activite Antidiarrheique des Huiles Essentielles de Deux Plantes Aromatiques de la Pharmacopee Ivoirienne. *European Journal of Scientific Research* ISSN 1450-216X Vol.24 No.1, pp.94-103. *Geochim. Cosmochim. Acta.*
- Kouninki, H., Haubruge, E., Noudjou, F.E., Lognay, G., Malaisse, F., Ngassoum, M.B., Goudoum, A., Mapongmetsem, P.M., Ngamo, L.S.T., Hance, T., 2005. Potential use of essential oils from Cameroon applied as fumigant or contact insecticides against *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae). *Commun. Agric. Appl. Biol. Sci.* 70, 787–792.
- Kpoviessi, S., Bero, J., Agbani, P., Gbaguidi, F., Kpadonou-Kpoviessi, B., Sinsin, B., Accrombessi, G., Frédérick, M., Moudachirou, M., Quetin-Leclercq, J., 2013. Chemical composition, cytotoxicity and in vitro antitrypanosomal and antiplasmodial activity of the essential oils of four *Cymbopogon* species from Benin. *J. Ethnopharmacol.* doi:10.1016/j.jep.2013.11.027
- Kpoviessi, S., Bero, J., Agbani, P., Gbaguidi, F., Kpadonou-Kpoviessi, B., Sinsin, B., Accrombessi, G., Frédérick, M., Moudachirou, M., Quetin-Leclercq, J., 2014. Chemical composition, cytotoxicity and in vitro antitrypanosomal and antiplasmodial activity of the essential oils of four *Cymbopogon* species from Benin. *J. Ethnopharmacol.* 151, 652–659. doi:10.1016/j.jep.2013.11.027
- Kröncke, K.-D., 2003. Nitrosative stress and transcription. *Biol. Chem.* 384, 1365–1377. doi:10.1515/BC.2003.153
- Krysko, D.V., Vanden Berghe, T., D’Herde, K., Vandenabeele, P., 2008. Apoptosis and necrosis: detection, discrimination and phagocytosis. *Methods San Diego Calif* 44, 205–221. doi:10.1016/j.ymeth.2007.12.001
- Kumar, P., Mishra, S., Malik, A., Satya, S., 2013. Housefly (*Musca domestica* L.) control potential of *Cymbopogon citratus* Stapf. (Poales: Poaceae) essential oil and monoterpenes (citral and 1,8-cineole). *Parasitol. Res.* 112, 69–76. doi:10.1007/s00436-012-3105-5

Références

- Lahkola, A., Auvinen, A., Raitanen, J., Schoemaker, M.J., Christensen, H.C., Feychting, M., Johansen, C., Klaeboe, L., Lönn, S., Swerdlow, A.J., Tynes, T., Salminen, T., 2007. Mobile phone use and risk of glioma in 5 North European countries. *Int. J. Cancer* 120, 1769–1775. doi:10.1002/ijc.22503
- Lahlou, M., 2004. Essential oils and fragrance compounds: bioactivity and mechanisms of action. *Flavour Fragr. J.* 19, 159–165. doi:10.1002/ffj.1288
- Lahlou, M., Berrada, R., 2003. Composition and niticidal activity of essential oils of three chemotypes of *Rosmarinus officinalis* L. acclimatized in Morocco. *Flavour Fragr. J.* 18, 124–127. doi:10.1002/ffj.1160
- Lecona, E., Rojas, L.A., Bonasio, R., Johnston, A., Fernández-Capetillo, O., Reinberg, D., 2013. Polycomb Protein SCML2 Regulates the Cell Cycle by Binding and Modulating CDK/CYCLIN/p21 Complexes. *PLoS Biol* 11, e1001737. doi:10.1371/journal.pbio.1001737
- Lee, D.Y., Gutmann, D.H., 2007. Cancer stem cells and brain tumors: uprooting the bad seeds. *Expert Rev. Anticancer Ther.* 7, 1581–1590. doi:10.1586/14737140.7.11.1581
- Lee, N.J., Oh, J.H., Ban, J.O., Shim, J.H., Lee, H.P., Jung, J.K., Ahn, B.W., Yoon, D.Y., Han, S.B., Ham, Y.W., Hong, J.T., 2013. 4-O-methylhonokiol, a PPAR γ agonist, inhibits prostate tumour growth: p21-mediated suppression of NF- κ B activity. *Br. J. Pharmacol.* 168, 1133–1145. doi:10.1111/j.1476-5381.2012.02235.x
- Lewis, R.A., Austen, K.F., Soberman, R.J., 1990. Leukotrienes and other products of the 5-lipoxygenase pathway. Biochemistry and relation to pathobiology in human diseases. *N. Engl. J. Med.* 323, 645–655. doi:10.1056/NEJM199009063231006
- Lim, S., Kaldis, P., 2013. Cdks, cyclins and CKIs: roles beyond cell cycle regulation. *Dev. Camb. Engl.* 140, 3079–3093. doi:10.1242/dev.091744
- Lin, W.-W., Karin, M., 2007. A cytokine-mediated link between innate immunity, inflammation, and cancer. *J. Clin. Invest.* 117, 1175–1183. doi:10.1172/JCI31537
- Liotta, L.A., Kohn, E., 2004. Anoikis: cancer and the homeless cell. *Nature* 430, 973–974. doi:10.1038/430973a
- Liu, R.H., 2004. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. *J. Nutr.* 134, 3479S–3485S.
- Louis, D.N., Ohgaki, H., Wiestler, O.D., Cavenee, W.K., Burger, P.C., Jouvet, A., Scheithauer, B.W., Kleihues, P., 2007. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 114, 97–109. doi:10.1007/s00401-007-0243-4

Références

- Lucia, A., Licastro, S., Zerba, E., Gonzalez Audino, P., Masuh, H., 2009. Sensitivity of *Aedes aegypti* adults (Diptera: Culicidae) to the vapors of Eucalyptus essential oils. *Bioresour. Technol.* 100, 6083–6087. doi:10.1016/j.biortech.2009.02.075
- Lyckander, I.M., Malterud, K.E., 1992. Lipophilic flavonoids from *Orthosiphon spicatus* as inhibitors of 15-lipoxygenase. *Acta Pharm. Nord.* 4, 159–166.
- Maletínská, L., Blakely, E.A., Bjornstad, K.A., Deen, D.F., Knoff, L.J., Forte, T.M., 2000. Human Glioblastoma Cell Lines: Levels of Low-Density Lipoprotein Receptor and Low-Density Lipoprotein Receptor-related Protein. *Cancer Res.* 60, 2300–2303.
- Manosroi, J., Dhumtanom, P., Manosroi, A., 2006. Anti-proliferative activity of essential oil extracted from Thai medicinal plants on KB and P388 cell lines. *Cancer Lett.* 235, 114–120. doi:10.1016/j.canlet.2005.04.021
- Mantle, D., Eddeb, F., Pickering, A.T., 2000. Comparison of relative antioxidant activities of British medicinal plant species in vitro. *J. Ethnopharmacol.* 72, 47–51.
- Martin, S.S., Vuori, K., 2004. Regulation of Bcl-2 proteins during anoikis and amorphosis. *Biochim. Biophys. Acta* 1692, 145–157. doi:10.1016/j.bbamcr.2004.02.008
- Martinez-Velazquez, M., Castillo-Herrera, G.A., Rosario-Cruz, R., Flores-Fernandez, J.M., Lopez-Ramirez, J., Hernandez-Gutierrez, R., Lugo-Cervantes, E. del C., 2011. Acaricidal effect and chemical composition of essential oils extracted from *Cuminum cyminum*, *Pimenta dioica* and *Ocimum basilicum* against the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). *Parasitol. Res.* 108, 481–487. doi:10.1007/s00436-010-2069-6
- Martins, A.P., Salgueiro, L., Gonçalves, M.J., da Cunha, A.P., Vila, R., Cañigüeral, S., Mazzoni, V., Tomi, F., Casanova, J., 2001. Essential oil composition and antimicrobial activity of three Zingiberaceae from S.Tomé e Príncipe. *Planta Med.* 67, 580–584. doi:10.1055/s-2001-16494
- Matés, J.M., Sánchez-Jiménez, F., 1999. Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiologic processes. *Front. Biosci. J. Virtual Libr.* 4, D339–345.
- Matiz, G., Osorio, M.R., Camacho, F., Atencia, M., Herazo, J., 2012. [Effectiveness of antimicrobial formulations for acne based on orange (*Citrus sinensis*) and sweet basil (*Ocimum basilicum* L) essential oils]. *Bioméd. Rev. Inst. Nac. Salud* 32, 125–133. doi:10.1590/S0120-41572012000100014
- Mayaud, L., Carricajo, A., Zhiri, A., Aubert, G., 2008. Comparison of bacteriostatic and bactericidal activity of 13 essential oils against strains with varying sensitivity to

Références

- antibiotics. Lett. Appl. Microbiol. 47, 167–173. doi:10.1111/j.1472-765X.2008.02406.x
- McNeil, M., Facey, P., Porter, R., 2011. Essential oils from the Hyptis genus--a review (1909-2009). Nat. Prod. Commun. 6, 1775–1796.
- Menut, C., Bessière, J.M., Samaté, D., Djibo, A.K., Buchbauer, G., Schopper, B., 2000. Aromatic Plants of Tropical West Africa. XI. Chemical Composition, Antioxidant and Antiradical Properties of the Essential Oils of Three Cymbopogon Species from Burkina Faso. J. Essent. Oil Res. 12, 207–212. doi:10.1080/10412905.2000.9699499
- Mehlen, P., Puisieux, A. (2006). Metastasis: a question of life or death. Nat Rev Cancer 6(6): 449- 458.
- Mesa-Arango, A.C., Montiel-Ramos, J., Zapata, B., Durán, C., Betancur-Galvis, L., Stashenko, E., 2009. Citral and carvone chemotypes from the essential oils of Colombian Lippia alba (Mill.) N.E. Brown: composition, cytotoxicity and antifungal activity. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 104, 878–884.
- Michel, J.-B., 2003. Anoikis in the cardiovascular system: known and unknown extracellular mediators. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 23, 2146–2154. doi:10.1161/01.ATV.0000099882.52647.E4
- Miguel, M.G., 2010. Antioxidant activity of medicinal and aromatic plants. A review. Flavour Fragr. J. 25, 291–312. doi:10.1002/ffj.1961
- Mijatovic, T., Roland, I., Van Quaquebeke, E., Nilsson, B., Mathieu, A., Van Vynckt, F., Darro, F., Blanco, G., Facchini, V., Kiss, R. (2007a). The $\alpha 1$ subunit of the sodium pump could represent a novel target to combat non-small cell lung cancers. The Journal of Pathology 212(2): 170-179.
- Mijatovic, T., Van Quaquebeke, E., Delest, B., Debeir, Olivier, Darro, F., Kiss, R. (2007b). Cardiotonic steroids on the road to anti-cancer therapy. Biochimica et Biophysica Acta 1776; 32–57.
- Mimica-Dukic, N., Bozin, B., Sokovic, M., Simin, N., 2004. Antimicrobial and antioxidant activities of Melissa officinalis L. (Lamiaceae) essential oil. J. Agric. Food Chem. 52, 2485–2489. doi:10.1021/jf030698a
- Moon, H.-I., Cho, S.-B., Kim, S.-K., 2011. Composition and immunotoxicity activity of essential oils from leaves of Zingiber officinale Roscoe against Aedes aegypti L. Immunopharmacol. Immunotoxicol. 33, 201–204. doi:10.3109/08923973.2010.495393

Références

- Moreira, A.C.P., Lima, E. de O., Wanderley, P.A., Carmo, E.S., Souza, E.L. de, 2010. Chemical composition and antifungal activity of *Hyptis suaveolens* (L.) poit leaves essential oil against *Aspergillus* species. *Braz. J. Microbiol.* 41, 28–33. doi:10.1590/S1517-83822010000100006
- Moura, A.C.A., Silva, E.L.F., Fraga, M.C.A., Wanderley, A.G., Afiatpour, P., Maia, M.B.S., 2005. Antiinflammatory and chronic toxicity study of the leaves of *Ageratum conyzoides* L. in rats. *Phytomedicine Int. J. Phytother. Phytopharm.* 12, 138–142. doi:10.1016/j.phymed.2003.12.003
- Nacoulma OG, 1996. Medicinal Plants and Their Traditional Uses in Burkina Faso. Ph.D.Thesis. University of Ouagadougou 328.
- Napagoda, M., Gerstmeier, J., Wesely, S., Popella, S., Lorenz, S., Scheubert, K., Svatoš, A., Werz, O., 2013. Inhibition of 5-lipoxygenase as anti-inflammatory mode of action of *Plectranthus zeylanicus* Benth and chemical characterization of ingredients by a mass spectrometric approach. *J. Ethnopharmacol.* doi:10.1016/j.jep.2013.11.004
- Negahban, M., Moharramipour, S., 2007. Fumigant toxicity of *Eucalyptus intertexta*, *Eucalyptus sargentii* and *Eucalyptus camaldulensis* against stored-product beetles. *J. Appl. Entomol.* 131, 256–261. doi:10.1111/j.1439-0418.2007.01152.x
- Nelson, W.G., De Marzo, A.M., Deweese, T.L., Isaacs, W.B., 2004. The role of inflammation in the pathogenesis of prostate cancer. *The Journal of urology* 172, S6–S12.
- Nelson, C.M., Chen, C.S., 2002. Cell-cell signaling by direct contact increases cell proliferation via a PI3K-dependent signal. *FEBS Lett.* 514, 238–242.
- Newell, D.R., 2005. How to develop a successful cancer drug--molecules to medicines or targets to treatments? *Eur. J. Cancer Oxf. Engl.* 1990 41, 676–682. doi:10.1016/j.ejca.2004.12.024
- Ngo Bum, E., Bailaba, T., Hiana, E., Rakotonirina, A., Rakotonirina, S., 2004. Propriétés sedatives et anticonvulsivantes de *Hyptis spicigera* (Lamiacea). *Pharm. Méd. Trad. Afr. Vol.I3*, pp.I4I-I48. *Int. J. Trop. Insect Sci.*
- Noback, C.R., Strominger, N.L., Demarest, R.J., Ruggiero, D.A., 2005. *The Human Nervous System: Structure And Function*. Springer.
- Noguchi, N., 2002. Novel insights into the molecular mechanisms of the antiatherosclerotic properties of antioxidants: the alternatives to radical scavenging. *Free Radic. Biol. Med.* 33, 1480–1489.
- Nogueira de Melo, G.A., Grespan, R., Fonseca, J.P., Farinha, T.O., da Silva, E.L., Romero, A.L., Bersani-Amado, C.A., Cuman, R.K.N., 2011. Inhibitory effects of ginger

Références

- (*Zingiber officinale* Roscoe) essential oil on leukocyte migration in vivo and in vitro. *J. Nat. Med.* 65, 241–246. doi:10.1007/s11418-010-0479-5
- Nogueira, J.H.C., Goncalvez, E., Galletti, S.R., Facanali, R., Marques, M.O.M., Felicio, J.D., 2010. *Ageratum conyzoides* essential oil as aflatoxin suppressor of *Aspergillus flavus*. *Int. J. Food Microbiol.* 137, 55.
- Nonviho, G., Wotto, V.D., Noudogbessi, J.-P., Avlessi, F., Akogbeto, M., Sohounhloué, D.C., 2010. Insecticidal activities of essential oils extracted from three species of poaceae on *Anopheles gambiae* spp, major vector of malaria 4, 411–420.
- Norajit, K., Laohakunjit, N., Kerdchoechuen, O., 2007. Antibacterial effect of five *Zingiberaceae* essential oils. *Mol. Basel Switz.* 12, 2047–2060.
- Noudogbessi, J.P., Alitonou, G.A., Djènonatin, T., Avlessi, F., Figueredo, G., Chalard, P., Chalchat, J.C., Sohounhloué, D.C.K., 2013. Chemical Compositions and Physico-chemical Properties of Three Varieties Essential oils of *Cymbopogon giganteus* Growing to the Spontaneous State in Benin. *Orient J Chem* 29, 59–67.
- Ohgaki, H., Kleihues, P., 2007. Genetic pathways to primary and secondary glioblastoma. *Am. J. Pathol.* 170, 1445–1453. doi:10.2353/ajpath.2007.070011
- Ohno, T., Kita, M., Yamaoka, Y., Imamura, S., Yamamoto, T., Mitsufuji, S., Kodama, T., Kashima, K., Imanishi, J., 2003. Antimicrobial activity of essential oils against *Helicobacter pylori*. *Helicobacter* 8, 207–215.
- Ohshima, H., Bartsch, H., 1994. Chronic infections and inflammatory processes as cancer risk factors: possible role of nitric oxide in carcinogenesis. *Mutat. Res.* 305, 253–264.
- Okada, H., Mak, T.W., 2004. Pathways of apoptotic and non-apoptotic death in tumour cells. *Nat. Rev. Cancer* 4, 592–603. doi:10.1038/nrc1412
- OMS, 2013 Cancer <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/fr/>
- OMS, 2008. OMS | Cancer [WWW Document]. WHO. URL <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/fr/> (accessed 12.23.13).
- Palmer, H.J., Paulson, K.E., 1997. Reactive oxygen species and antioxidants in signal transduction and gene expression. *Nutr. Rev.* 55, 353–361.
- Pathak, N., Mitra, S., Khandelwal, S., 2013. Cadmium induces thymocyte apoptosis via caspase-dependent and caspase-independent pathways. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 27, 193–203. doi:10.1002/jbt.21468

Références

- Patil, R.P., Nimbalkar, M.S., Jadhav, U.U., Dawkar, V.V., Govindwar, S.P., 2010. Antiaflatoxic and antioxidant activity of an essential oil from *Ageratum conyzoides* L. J. Sci. Food Agric. 90, 608–614. doi:10.1002/jsfa.3857
- Pei, R.-S., Zhou, F., Ji, B.-P., Xu, J., 2009. Evaluation of combined antibacterial effects of eugenol, cinnamaldehyde, thymol, and carvacrol against *E. coli* with an improved method. J. Food Sci. 74, M379–383. doi:10.1111/j.1750-3841.2009.01287.x
- Pélessier, Y., Marion, C., Casadebaig, J., Milhau, M., Kone, D., Loukou, G., Nanga, Y., Bessière, J.-M., 1994. A Chemical, Bacteriological, Toxicological and Clinical Study of the Essential Oil of *Lippia multiflora* Mold. (Verbenaceae). J. Essent. Oil Res. 6, 623–630. doi:10.1080/10412905.1994.9699354
- Phasomkusolsil, S., Soonwera, M., 2011. Efficacy of herbal essential oils as insecticide against *Aedes aegypti* (Linn.), *Culex quinquefasciatus* (Say) and *Anopheles dirus* (Peyton and Harrison). Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health 42, 1083–1092.
- Pibiri, M.-C., 2005. Assainissement microbiologique de l'air et des systems de ventilation au moyen d'huile essentielles.
- Pichersky, E., Noel, J.P., Dudareva, N., 2006. Biosynthesis of plant volatiles: nature's diversity and ingenuity. Science 311, 808–811. doi:10.1126/science.1118510
- Pidgeon, G.P., Kandouz, M., Meram, A., Honn, K.V., 2002. Mechanisms controlling cell cycle arrest and induction of apoptosis after 12-lipoxygenase inhibition in prostate cancer cells. Cancer Res. 62, 2721–2727.
- Pinder, A.R., 1960. The Chemistry of Terpenes. Chapman & Hall London, New York.
- Portt, L., Norman, G., Clapp, C., Greenwood, M., Greenwood, M.T., 2011. Anti-apoptosis and cell survival: a review. Biochim. Biophys. Acta 1813, 238–259. doi:10.1016/j.bbamcr.2010.10.010
- Pushpanathan, T., Jebanesan, A., Govindarajan, M., 2006. Larvicidal, ovicidal and repellent activities of *Cymbopogon citratus* Stapf (Graminae) essential oil against the filarial mosquito *Culex quinquefasciatus* (Say) (Diptera : Culicidae). Trop. Biomed. 23, 208–212.
- Rak, J., Mitsuhashi, Y., Sheehan, C., Krestow, J.K., Florenes, V.A., Filmus, J., Kerbel, R.S., 1999. Collateral expression of proangiogenic and tumorigenic properties in intestinal epithelial cell variants selected for resistance to anoikis. Neoplasia N. Y. N 1, 23–30.
- Rao, B.R.R., Kotharia, S.K., Rajput, D.K., Patel, R.P., Darokar, M.P., 2011. Chemical and biological diversity in fourteen selections of four *Ocimum* species. Nat. Prod. Commun. 6, 1705–1710.

Références

- Rashid, S., Rather, M.A., Shah, W.A., Bhat, B.A., 2013. Chemical composition, antimicrobial, cytotoxic and antioxidant activities of the essential oil of *Artemisia indica* Willd. *Food Chem* 138, 693–700. doi:10.1016/j.foodchem.2012.10.102.
- Rasooli, I., Shayegh, S., Astaneh, S., 2009. The effect of *Mentha spicata* and *Eucalyptus camaldulensis* essential oils on dental biofilm. *Int. J. Dent. Hyg.* 7, 196–203. doi:10.1111/j.1601-5037.2009.00389.x
- Rastogi, T., Hildesheim, A., Sinha, R. (2004). Opportunities for cancer epidemiology in developing countries. *Nat Rev Cancer* 4(11): 909-917.
- Rattanachaikunsopon, P., Phumkhachorn, P., 2010. Antimicrobial activity of basil (*Ocimum basilicum*) oil against *Salmonella enteritidis* in vitro and in food. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 74, 1200–1204.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.* 26, 1231–1237.
- Reuter, S., Gupta, S.C., Chaturvedi, M.M., Aggarwal, B.B., 2010. Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? *Free Radic. Biol. Med.* 49, 1603–1616. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.006
- Rouzer, C.A., Samuelsson, B., 1985. On the nature of the 5-lipoxygenase reaction in human leukocytes: enzyme purification and requirement for multiple stimulatory factors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 82, 6040–6044.
- Ruberto, G., Baratta, M.T., 2000. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chem.* 69, 167–174. doi:10.1016/S0308-8146(99)00247-2
- Sahouo, G.B., Tonzibo, Z.F., Boti, B., Chopard, C., Mahy, J.P., N'guessan, Y.T., 2003. Anti-inflammatory and analgesic activities: Chemical constituents of essential oils of *Ocimum gratissimum*, *Eucalyptus citriodora* and *Cymbopogon giganteus* inhibited lipoxygenase L-1 and cyclooxygenase of PGHS. *Bull. Chem. Soc. Ethiop.* 17. doi:10.4314/bcse.v17i2.61681
- Sakr, W.A., Haas, G.P., Cassin, B.F., Pontes, J.E., Crissman, J.D., 1993. The frequency of carcinoma and intraepithelial neoplasia of the prostate in young male patients. *J. Urol.* 150, 379–385.
- Salvati, M., Frati, A., Russo, N., Brogna, C., Piccirilli, M., D'Andrea, G., Occhiogrosso, G., Pichierri, A., Caroli, E., 2005. Brain metastasis from prostate cancer. Report of 13 cases and critical analysis of the literature. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* CR 24, 203–207.

Références

- Samuelsson, B., Dahlén, S.E., Lindgren, J.A., Rouzer, C.A., Serhan, C.N., 1987. Leukotrienes and lipoxins: structures, biosynthesis, and biological effects. *Science* 237, 1171–1176.
- Sanon, A., Ilboudo, Z., Dabire, C.L.B., Nebie, R.C.H., Dicko, I.O., Monge, J.-P., 2006. Effects of *Hyptis spicigera* Lam. (Labiatae) on the behaviour and development of *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae), a pest of stored cowpeas. *Int. J. Pest Manag.* 52, 117–123. doi:10.1080/09670870600619890
- Santin, M.R., Santos, A.O. dos, Nakamura, C.V., Filho, B.P.D., Ferreira, I.C.P., Ueda-Nakamura, T., 2009. In vitro activity of the essential oil of *Cymbopogon citratus* and its major component (citral) on *Leishmania amazonensis*. *Parasitol. Res.* 105, 1489–1496. doi:10.1007/s00436-009-1578-7
- Santoro, G.F., Cardoso, M.G., Guimarães, L.G.L., Mendonça, L.Z., Soares, M.J., 2007. *Trypanosoma cruzi*: activity of essential oils from *Achillea millefolium* L., *Syzygium aromaticum* L. and *Ocimum basilicum* L. on epimastigotes and trypomastigotes. *Exp. Parasitol.* 116, 283–290. doi:10.1016/j.exppara.2007.01.018
- Santoyo, S., Caverio, S., Jaime, L., Ibañez, E., Señoráns, F.J., Reglero, G., 2005. Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction. *J. Food Prot.* 68, 790–795.
- Sastre, J., Pallardó, F.V., Viña, J., 2000. Mitochondrial oxidative stress plays a key role in aging and apoptosis. *IUBMB Life* 49, 427–435. doi:10.1080/152165400410281
- Sathornsumetee, S., Reardon, D.A., Desjardins, A., Quinn, J.A., Vredenburg, J.J., Rich, J.N., 2007a. Molecularly targeted therapy for malignant glioma. *Cancer* 110, 13–24. doi:10.1002/cncr.22741
- Sathornsumetee, S., Rich, J.N., Reardon, D.A., 2007b. Diagnosis and treatment of high-grade astrocytoma. *Neurol. Clin.* 25, 1111–1139, x. doi:10.1016/j.ncl.2007.07.004
- Schetter, A.J., Heegaard, N.H.H., Harris, C.C., 2010. Inflammation and cancer: interweaving microRNA, free radical, cytokine and p53 pathways. *Carcinogenesis* 31, 37–49. doi:10.1093/carcin/bgp272
- Ségal-Bendirdjian, E., Dudognon, C., Mathieu, J., Hillion, J., Besançon, F., 2005. [Cell death signalling: recent advances and therapeutic application]. *Bull. Cancer (Paris)* 92, 23–35.
- Seitz, S.J., Schleithoff, E.S., Koch, A., Schuster, A., Teufel, A., Staib, F., Stremmel, W., Melino, G., Krammer, P.H., Schilling, T., Müller, M., 2010. Chemotherapy-induced apoptosis in hepatocellular carcinoma involves the p53 family and is mediated via the

Références

- extrinsic and the intrinsic pathway. *Int. J. Cancer* 126, 2049–2066. doi:10.1002/ijc.24861
- Senatore, F., Urrunaga Soria, E., Urrunaga Soria, R., Della Porta, G., De Feo, V., 1998. Essential oils from two Peruvian *Satureja* species. *Flavour Fragr. J.* 13, 1–4. doi:10.1002/(SICI)1099-1026(199801/02)13:1<1::AID-FFJ672>3.0.CO;2-4
- Seve, M., Chimienti, F., Favier, A., 2002. [Role of intracellular zinc in programmed cell death]. *Pathol. Biol. (Paris)* 50, 212–221.
- Sfanos, K.S., Wilson, B.A., De Marzo, A.M., Isaacs, W.B., 2009. Acute inflammatory proteins constitute the organic matrix of prostatic corpora amylacea and calculi in men with prostate cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106, 3443–3448.
- Sfeir, J., Lefrançois, C., Baudoux, D., Derbré, S., Licznar, P., 2013. In Vitro Antibacterial Activity of Essential Oils against *Streptococcus pyogenes*. *Evid.-Based Complement. Altern. Med. ECAM* 2013, 269161. doi:10.1155/2013/269161
- Shacter, E., Beecham, E.J., Covey, J.M., Kohn, K.W., Potter, M., 1988. Activated neutrophils induce prolonged DNA damage in neighboring cells. *Carcinogenesis* 9, 2297–2304.
- Shaulian, E., Karin, M., 2002. AP-1 as a regulator of cell life and death. *Nat. Cell Biol.* 4, E131–136. doi:10.1038/ncb0502-e131
- Siedow, J.N., 1991. Plant Lipoxygenase: Structure and Function. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 42, 145–188. doi:10.1146/annurev.pp.42.060191.001045
- Sienkiewicz, M., Łysakowska, M., Pastuszka, M., Bienias, W., Kowalczyk, E., 2013. The potential of use basil and rosemary essential oils as effective antibacterial agents. *Mol. Basel Switz.* 18, 9334–9351. doi:10.3390/molecules18089334
- Simon, J.E., Morales, M.R., Phippen, W.B., Vieira, R.F., Hao, Z., 1999. A source of aroma compounds and a popular culinary and ornamental herb. In J. Janick (Ed.), *Perspectives on new crops and new uses* (pp. 499–505). Alexandria, VA: ASHS Press.
- Simpson, C.D., Anyiwe, K., Schimmer, A.D., 2008. Anoikis resistance and tumor metastasis. *Cancer Lett.* 272, 177–185. doi:10.1016/j.canlet.2008.05.029
- Singh, G., Kapoor, I.P.S., Singh, P., de Heluani, C.S., de Lampasona, M.P., Catalan, C.A.N., 2008. Chemistry, antioxidant and antimicrobial investigations on essential oil and oleoresins of *Zingiber officinale*. *Food Chem. Toxicol. Int. J. Publ. Br. Ind. Biol. Res. Assoc.* 46, 3295–3302. doi:10.1016/j.fct.2008.07.017

Références

- Sinthusiri, J., Soonwera, M., 2013. Efficacy of herbal essential oils as insecticides against the housefly, *Musca domestica* L. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health* 44, 188–196.
- Siriporn, P., Mayura, S., 2012. The effects of herbal essential oils on the oviposition-deterrent and ovicidal activities of *Aedes aegypti* (Linn.), *Anopheles dirus* (Peyton and Harrison) and *Culex quinquefasciatus* (Say). *Trop. Biomed.* 29, 138–150.
- Soares, D.G., Andreazza, A.C., Salvador, M., 2003. Sequestering ability of butylated hydroxytoluene, propyl gallate, resveratrol, and vitamins C and E against ABTS, DPPH, and hydroxyl free radicals in chemical and biological systems. *J. Agric. Food Chem.* 51, 1077–1080. doi:10.1021/jf020864z
- Sobti, S.N., Pushpangadan, P., Atal, C.K., 1976. *Indian Perfum.* XX (I) 54.
- Soković, M., Glamočlija, J., Marin, P.D., Brkić, D., van Griensven, L.J.L.D., 2010. Antibacterial effects of the essential oils of commonly consumed medicinal herbs using an in vitro model. *Mol. Basel Switz.* 15, 7532–7546. doi:10.3390/molecules15117532
- Solhaug, A., Refsnes, M., Låg, M., Schwarze, P.E., Husøy, T., Holme, J.A., 2004. Polycyclic aromatic hydrocarbons induce both apoptotic and anti-apoptotic signals in Hepa1c1c7 cells. *Carcinogenesis* 25, 809–819. doi:10.1093/carcin/bgh069
- Songserm, T., Pongrakhananon, V., Chanvorachote, P., 2012. Sub-toxic cisplatin mediates anoikis resistance through hydrogen peroxide-induced caveolin-1 up-regulation in non-small cell lung cancer cells. *Anticancer Res.* 32, 1659–1669.
- Stefanazzi, N., Stadler, T., Ferrero, A., 2011. Composition and toxic, repellent and feeding deterrent activity of essential oils against the stored-grain pests *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). *Pest Manag. Sci.* 67, 639–646. doi:10.1002/ps.2102
- Stefanidou, M., Maravelias, C., Dona, A., Spiliopoulou, C., 2006. Zinc: a multipurpose trace element. *Arch. Toxicol.* 80, 1–9. doi:10.1007/s00204-005-0009-5
- Stein, S., Mirokhin, D., Tchekhovskoi, D., Mallard, G., 2002. The NIST Mass Spectral Search Program for the NIST/EPA/NIH Mass Spectra Library; Standard Reference Data Program of the National Institute of Standards and Technology: Gaithersburg, MD, USA.
- Storz, P., 2005. Reactive oxygen species in tumor progression. *Front. Biosci. J. Virtual Libr.* 10, 1881–1896.

Références

- Stupack, D.G., Cheresch, D.A., 2002. Get a ligand, get a life: integrins, signaling and cell survival. *J. Cell Sci.* 115, 3729–3738.
- Stupp, R., Mason, W.P., van den Bent, M.J., Weller, M., Fisher, B., Taphoorn, M.J.B., Belanger, K., Brandes, A.A., Marosi, C., Bogdahn, U., Curschmann, J., Janzer, R.C., Ludwin, S.K., Gorlia, T., Allgeier, A., Lacombe, D., Cairncross, J.G., Eisenhauer, E., Mirimanoff, R.O., 2005. Radiotherapy plus Concomitant and Adjuvant Temozolomide for Glioblastoma. *N. Engl. J. Med.* 352, 987–996. doi:10.1056/NEJMoa043330
- Surh, Y.-J., Kundu, J.K., Na, H.-K., Lee, J.-S., 2005. Redox-sensitive transcription factors as prime targets for chemoprevention with anti-inflammatory and antioxidative phytochemicals. *J. Nutr.* 135, 2993S–3001S.
- Swan, E.A., Jasser, S.A., Holsinger, F.C., Doan, D., Bucana, C., Myers, J.N., 2003. Acquisition of anoikis resistance is a critical step in the progression of oral tongue cancer. *Oral Oncol.* 39, 648–655.
- Tadtong, S., Watthanachaiyingcharoen, R., Kamkaen, N., 2014. Antimicrobial constituents and synergism effect of the essential oils from *Cymbopogon citratus* and *Alpinia galanga*. *Nat. Prod. Commun.* 9, 277–280.
- Takabe, W., Niki, E., Uchida, K., Yamada, S., Satoh, K., Noguchi, N., 2001. Oxidative stress promotes the development of transformation: involvement of a potent mutagenic lipid peroxidation product, acrolein. *Carcinogenesis* 22, 935–941.
- Takahashi, H., Aoyagi, K., Nakanishi, Y., Sasaki, H., Yoshida, T., Honda, H., 2006. Classification of intramural metastases and lymph node metastases of esophageal cancer from gene expression based on boosting and projective adaptive resonance theory. *J. Biosci. Bioeng.* 102, 46–52. doi:10.1263/jbb.102.46
- Takahashi, M., Inouye, S., Abe, S., 2011. Anti-Candida and radical scavenging activities of essential oils and oleoresins of *Zingiber officinale* Roscoe and essential oils of other plants belonging to the family Zingiberaceae. *Drug Discov. Ther.* 5, 238–245.
- Takayama, C., de-Faria, F.M., de Almeida, A.C.A., Valim-Araújo, D. de A. e O., Rehen, C.S., Dunder, R.J., Socca, E.A.R., Manzo, L.P., Rozza, A.L., Salvador, M.J., Pellizzon, C.H., Hiruma-Lima, C.A., Luiz-Ferreira, A., Souza-Brito, A.R.M., 2011. Gastroprotective and ulcer healing effects of essential oil from *Hyptis spicigera* Lam. (Lamiaceae). *J. Ethnopharmacol.* 135, 147–155. doi:10.1016/j.jep.2011.03.002
- Tantivejkul, K., Kalikin, L.M., Pienta, K.J., 2004. Dynamic process of prostate cancer metastasis to bone. *J. Cell. Biochem.* 91, 706–717. doi:10.1002/jcb.10664

Références

- Tawatsin, A., Wratten, S.D., Scott, R.R., Thavara, U., Techadamrongsin, Y., 2001. Repellency of volatile oils from plants against three mosquito vectors. *J. Vector Ecol. J. Soc. Vector Ecol.* 26, 76–82.
- Tchoumboungang, F., Zollo, P.H., Dagne, E., Mekonnen, Y., 2005. In vivo antimalarial activity of essential oils from *Cymbopogon citratus* and *Ocimum gratissimum* on mice infected with *Plasmodium berghei*. *Planta Med.* 71, 20–23. doi:10.1055/s-2005-837745
- Terzić, J., Grivennikov, S., Karin, E., Karin, M., 2010. Inflammation and Colon Cancer. *Gastroenterology* 138, 2101–2114.e5. doi:10.1053/j.gastro.2010.01.058
- Thaweboon, S., Thaweboon, B., 2009. In vitro antimicrobial activity of *Ocimum americanum* L. essential oil against oral microorganisms. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health* 40, 1025–1033.
- Thongson, C., Davidson, P.M., Mahakarnchanakul, W., Vibulsresth, P., 2005. Antimicrobial effect of Thai spices against *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium* DT104. *J. Food Prot.* 68, 2054–2058.
- Tia, E.V., Adima, A.A., Niamké, S.L., Jean, G.A., Martin, T., Lozano, P., Menut, C., 2011. Chemical composition and insecticidal activity of essential oils of two aromatic plants from Ivory Coast against *Bemisia tabaci* G. (Hemiptera: Aleyrodidae). *Nat. Prod. Commun.* 6, 1183–1188.
- Tomura, M., Sakaue-Sawano, A., Mori, Y., Takase-Utsugi, M., Hata, A., Ohtawa, K., Kanagawa, O., Miyawaki, A., 2013. Contrasting Quiescent G0 Phase with Mitotic Cell Cycling in the Mouse Immune System. *PLoS ONE* 8. doi:10.1371/journal.pone.0073801
- Trevisan, M.T.S., Vasconcelos Silva, M.G., Pfundstein, B., Spiegelhalder, B., Owen, R.W., 2006. Characterization of the volatile pattern and antioxidant capacity of essential oils from different species of the genus *Ocimum*. *J. Agric. Food Chem.* 54, 4378–4382. doi:10.1021/jf060181+
- Ulukaya, E., Acilan, C., Yilmaz, Y., 2011. Apoptosis: why and how does it occur in biology? *Cell Biochem. Funct.* 29, 468–480. doi:10.1002/cbf.1774
- Vachon, P.H., 2006. Survie cellulaire : differences et différenciation. *médecine/sciences* 22, 423–429. doi:10.1051/medsci/2006224423
- Valentin, A., Péliissier, Y., Benoit, F., Marion, C., Kone, D., Mallie, M., Bastide, J.M., Bessière, J.M., 1995. Composition and antimalarial activity in vitro of volatile components of *Lippia multiflora*. *Phytochemistry* 40, 1439–1442.

Références

- VanQuaquebeke, E., Simon, G., Andre, A., Dewelle, J., Yazidi, M.E., Bruyneel, F., Tuti, J., Nacoulma, O., Guissou, P., Decaestecker, C., Braekman, J.-C., Kiss, R., Darro, F. (2005). Identification of a Novel Cardenolide (2'-Oxovoruscharin) from *Calotropis procera* and the Hemisynthesis of Novel Derivatives Displaying Potent *in Vitro* Antitumor Activities and High *in Vivo* Tolerance: Structure-Activity Relationship Analyses." J. Med. Chem. 48(3): 849-856.
- Velazquez, E., Tournier, H.A., Mordujovich de Buschiazzi, P., Saavedra, G., Schinella, G.R., 2003. Antioxidant activity of paraguayan plant extracts. Fitoterapia, 74, 91–97.
- Velázquez, E., Tournier, H.A., Mordujovich de Buschiazzi, P., Saavedra, G., Schinella, G.R., 2003. Antioxidant activity of Paraguayan plant extracts. Fitoterapia 74, 91–97.
- Virgili, F., Marino, M., 2008. Regulation of cellular signals from nutritional molecules: a specific role for phytochemicals, beyond antioxidant activity. Free Radic. Biol. Med. 45, 1205–1216. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2008.08.001
- Visconti, R., Grieco, D., 2009. New insights on oxidative stress in cancer. Curr. Opin. Drug Discov. Devel. 12, 240–245.
- Viyoch, J., Pisutthanan, N., Faikreua, A., Nupangta, K., Wangtorpol, K., Ngokkuen, J., 2006. Evaluation of *in vitro* antimicrobial activity of Thai basil oils and their micro-emulsion formulas against *Propionibacterium acnes*. Int. J. Cosmet. Sci. 28, 125–133. doi:10.1111/j.1467-2494.2006.00308.x
- Walia, M., Mann, T.S., Kumar, D., Agnihotri, V.K., Singh, B., 2012. Chemical composition and *in vitro* cytotoxic activity of essential oil of leaves of *Malus domestica* growing in Western Himalaya (India). Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine 2012.
- Walker, N.I., Harmon, B.V., Gobé, G.C., Kerr, J.F., 1988. Patterns of cell death. Methods Achiev. Exp. Pathol. 13, 18–54.
- Walsh, J.G., Cullen, S.P., Sheridan, C., Lüthi, A.U., Gerner, C., Martin, S.J., 2008. Executioner caspase-3 and caspase-7 are functionally distinct proteases. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 105, 12815–12819. doi:10.1073/pnas.0707715105
- Wang, C.-C., Liao, Y.-P., Mischel, P.S., Iwamoto, K.S., Cacalano, N.A., McBride, W.H., 2006. HDJ-2 as a target for radiosensitization of glioblastoma multiforme cells by the farnesyltransferase inhibitor R115777 and the role of the p53/p21 pathway. Cancer Res. 66, 6756–6762. doi:10.1158/0008-5472.CAN-06-0185

Références

- Warikoo, R., Wahab, N., Kumar, S., 2011. Oviposition-altering and ovicidal potentials of five essential oils against female adults of the dengue vector, *Aedes aegypti* L. *Parasitol. Res.* 109, 1125–1131. doi:10.1007/s00436-011-2355-y
- Waxman, S.G., 1999. *Correlative neuroanatomy*. Appleton & Lange.
- Weitzman, S.A., Gordon, L.I., 1990. Inflammation and cancer: role of phagocyte-generated oxidants in carcinogenesis. *Blood* 76, 655–663.
- Wekesa, I., Onek, L.A., Deng, A.L., Hasanali, A., Othira, J.O., 2011. Toxicity and repellent potency of *Hyptis spicigera* extracts on *Sitophilus zeamais* motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) *Journal of Stored Products and Postharvest Research* Vol. 2(6), pp. 113-119.
- Wen, P.Y., Kesari, S., 2008. Malignant Gliomas in Adults. *N. Engl. J. Med.* 359, 492–507. doi:10.1056/NEJMra0708126
- WHO, 2013. WHO | Cancer Fact sheet N°297 [WWW Document]. WHO. URL <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/index.html> (accessed 8.13.13).
- Wu, H.-C., Wu, J.-L., Chu, H.-L., Su, Y.-C., Hong, J.-R., 2010. RGNNV induces mitochondria-mediated cell death via newly synthesized protein dependent pathway in fish cells. *Fish Shellfish Immunol.* 29, 451–463.
- Xu, X., Dailey, A.B., Talbott, E.O., Ilacqua, V.A., Kearney, G., Asal, N.R., 2010. Associations of serum concentrations of organochlorine pesticides with breast cancer and prostate cancer in U.S. adults. *Environ. Health Perspect.* 118, 60–66. doi:10.1289/ehp.0900919
- Yamada, A.N., Grespan, R., Yamada, Á.T., Silva, E.L., Silva-Filho, S.E., Damião, M.J., de Oliveira Dalalio, M.M., Bersani-Amado, C.A., Cuman, R.K.N., 2013. Anti-inflammatory activity of *Ocimum americanum* L. essential oil in experimental model of zymosan-induced arthritis. *Am. J. Chin. Med.* 41, 913–926. doi:10.1142/S0192415X13500614
- Yamamoto-Ribeiro, M.M.G., Grespan, R., Kohiyama, C.Y., Ferreira, F.D., Mossini, S.A.G., Silva, E.L., Abreu Filho, B.A. de, Mikcha, J.M.G., Machinski Junior, M., 2013. Effect of *Zingiber officinale* essential oil on *Fusarium verticillioides* and fumonisin production. *Food Chem.* 141, 3147–3152. doi:10.1016/j.foodchem.2013.05.144
- Yousefzadi, M., Riahi-Madvar, A., Hadian, J., Rezaee, F., Rafiee, R., Biniiaz, M., 2014. Toxicity of essential oil of *Satureja khuzistanica*: in vitro cytotoxicity and anti-microbial activity. *J Immunotoxicol* 11, 50–55. doi:10.3109/1547691X.2013.789939.

Références

- Yu, L., Haley, S., Perret, J., Harris, M., Wilson, J., Qian, M., 2002. Free Radical Scavenging Properties of Wheat Extracts. *J. Agric. Food Chem.* 50, 1619–1624. doi:10.1021/jf010964p
- Zeng, Y., Opeskin, K., Horvath, L.G., Sutherland, R.L., Williams, E.D., 2005. Lymphatic vessel density and lymph node metastasis in prostate cancer. *The Prostate* 65, 222–230. doi:10.1002/pros.20288.
- Zhang, J., Zhang, H., Ni, W., 2009. Oxidative stress and apoptosis of *Carassius auratus* lymphocytes induced by nonplanar (PCB153) and coplanar (PCB169) polychlorinated biphenyl congeners in vitro. *J. Environ. Sci. China* 21, 1284–1289.
- Zhang, L., Li, L., Zhang, G., 2011. Gene discovery, comparative analysis and expression profile reveal the complexity of the *Crassostrea gigas* apoptosis system. *Dev. Comp. Immunol.* 35, 603–610. doi:10.1016/j.dci.2011.01.005
- Zhang, S., Zhao, H., Darzynkiewicz, Z., Zhou, P., Zhang, Z., Lee, E.Y.C., Lee, M.Y.W.T., 2013. A novel function of CRL4(Cdt2): regulation of the subunit structure of DNA polymerase δ in response to DNA damage and during the S phase. *J. Biol. Chem.* 288, 29550–29561. doi:10.1074/jbc.M113.490466
- Zhang, W., McAuslane, H.J., Schuster, D.J., 2004. Repellency of ginger oil to *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) on tomato. *J. Econ. Entomol.* 97, 1310–1318.
- Zheljazkov, V.D., Callahan, A., Cantrell, C.L., 2008. Yield and oil composition of 38 basil (*Ocimum basilicum* L.) accessions grown in Mississippi. *J. Agric. Food Chem.* 56, 241–245. doi:10.1021/jf072447y

ANNEXES

ANNEXES

- Mettre 15, 6g de milieu DMEM poudre dans le Becher, rincer la capsule avec de l'eau MQ
- Ajouter 3,7 g de Na HCO₃ (Bicarbonate de Sodium)
- Ajouter 10ml de Soidum Pyruvate (100X)
- Ajouter 10 µl de HEGF, 500 µl d'hydrocortisone, 2860 µl d'Insuline, 500 µl de Pyrimycine et 500 µl de gentamycine
- QSP 350 ml d'H₂O MQ
- Ajuster le pH à 7,4 en ajoutant du NaOH 5M à la P1000 (quelques gouttes) sous agitation. Le pH à 7,4 est très important pour les cellules LNCaP
- Ajuster le volume à 390ml avec de l'eau MQ
- Filtrer le milieu sous la hotte et transférer dans une bouteille de 500 ml stérile
- Ajouter 10ml de sérum
- Ajouter 10ml de P/s.

Figure A. Préparation du milieu 2X dans un Becher

- Chauffera 2*50ml de milieu dans un tube F50 à 37° C (deux tubes F50)
- Peser à la balance de précision 1,5g d'Agar et le mettre dans un Herlen.
- Additionner 100ml d'H₂O MQ et faire bouillir au micro onde de manière à dissoudre l'agar et à stériliser la solution (laisser 30S minimum après ébullition à puissance maxi et juste après l'ouverture de la porte du micro onde couvrir avec du papier alu pour conserver stérile)
- Mettre l'Herlen à 37°c au minimum une demi heure (éviter de griller le milieu)
- Mélanger les 100ml de milieu et les 100ml d'agar dans l'Herlen et répartir sans faire de bulle, 1,5ml de solution dans chaque puits des plaques 6 puits datées et nommés (Utiliser une pipette 10ml).
- Laisser solidifier et mettre à 4° C, conservation à 4° c

Figure B. Préparation de « Base Agar » pour 20 plaques 6 puits :

- Par duplicate il faut prévoir 2,25ml d'Agar à 0,9% (40°c) plus 2,25ml de milieu 2 X à 40°c soit 4,5ml. Pour manipes, on préparer 70ml d'agar à 0,9% final dans de l'eau MQ (peser 0,63 g dans 70ml d'H₂O) que l'on mélangera à 70ml de milieu 2 x. Bien homogénéiser l'agar avant de passer au micro onde sinon l'agar cuit et ne se dissout pas).
- Garder les 140ml de milieu 1 X, agar 0,45% à 37 ° c le temps de préparer les cellules
- Pour une manip en duplicate, préparer dans un EPPENDOREF de 1,5 ml, 1ml de cellule à 150 000 Cellule/ ml) 0,15-10C
- Mettre 0,2ml de cette dilution dans un F15 soit 30 000 cellules
- Ajouter 4,5ml (2,25-2,25) de milieu 1X, Agar 0,45% aux 0,2 ml de cellules
- Faire en premier la condition sans Traitement
- Distribuer 1,5ml de ce mixte par puits
- Faire la condition + Traitement (idem) : Traiter le volume nécessaire de milieu 1X, AGAR 0,45% avec la molécule ou l'huile essentielle; mettre 0,2 ml de la dilution de cellule dans un F15 : ajouter 4,5 ml milieu IX, Agar 0,45% contenant la molécule ou huile essentielle; distribuer 1,5ml de ce mixte par puits
- Mettre les plaques à 37° C, 15 jours

Figure C. Préparation du « Top agar plus cellules »

Annexes

<u>D-PBS 1X (Gibco)</u>		<u>Tampon de lyse NaCl :</u>	
NaCl	138 mM pH 7,4	NaCl	420 mM
Na ₂ HPO ₄ ·7H ₂ O	8,06 mM	Hepes	20 mM pH 8
KCl	1,47 mM	MgCl ₂	1,5 mM
CaCl ₂	2,67 mM	EDTA	0,2 mM
MgCl ₂ ·6H ₂ O	0,901 mM	Glycérol	25%
D-glucose	5,56 mM	NP40	0,10%
Sodium pyruvate	0,327 mM		

Figure D. Tampons de préparation des extraits protéiques

<u>Tampon de charge</u>		<u>Régilait® écrémé 10%-TBST</u>	
Tris-HCL	62,5 mM pH 6,8	Tris-HCL	500 mM pH 8,4
Glycérol	10%	NaCl	2 mM
Sodium dodecyl sulfate	2%	Tween20	0,10%
2β-mercaptoéthanol	0,7 M		
Bleu de Bromophénol	0,05%		
<u>Tampon de concentration 4X</u>		<u>Tampon de migration</u>	
Tris-HCL	60 g/L	Tris-HCL	124 mM
SDS	40 g/L	Glycine	960 mM
pH=6,8		Sodium dodécyl sulfate	0,005%
		pH=8,3	
<u>Tampon de séparation 4X</u>		<u>Tampon de transfert</u>	
Tris-HCL	180 g/L	Tris-HCL	25 mM
SDS	4 g/L	Glycine	192 mM
pH=8,8		Méthanol	20%
		pH=8,3	
<u>Gel de concentration</u>			
Tampon de concentration	1X		
Acrylogel 3 (29/1)	4,5%		
Persulfate d'aluminium	0,05%		
TEMED	0,05%		
<u>Gel de séparation</u>			
Tampon de concentration	1X		
Acrylogel 3 (29/1)	12,5%		
Persulfate d'aluminium	0,05%		
TEMED	0,05%		

Figure E. Tampons utilisés pour le *Western Blot*

Anticorps	Dilution	Anti-IgG secondaire	Fournisseur et référence
HA.11	1/1000	Lapin	PRB-101C Covance
β-Actine	1/5000	Lapin	A2066

Tableau A : Anticorps utilisés

ARTICLES SCIENTIFIQUES



Chemical Composition, Antioxidant, Anti-Inflammatory and Anti-Proliferative Activities of Essential Oils of Plants from Burkina Faso

Bagora Bayala^{1,2,3,4,5}, Imaël Henri Nestor Bassole⁶, Charlemagne Gnoula^{1,7}, Roger Nebie⁸, Albert Yonli¹, Laurent Morel^{2,3,4,5}, Gilles Figueredo⁹, Jean-Baptiste Nikiema^{1,10}, Jean-Marc A. Lobaccaro^{2,3,4,5*}, Jacques Simpoire^{1,10*}

1 Centre de Recherche Biomoléculaire Pietro Annigoni (CERBA), Laboratoire de Biologie et Génétique (LABIOGENE), Centre Médical Saint Camille, Ouagadougou, Université de Ouagadougou, Ouagadougou, Burkina Faso, **2** Clermont Université, Université Blaise Pascal, Génétique Reproduction et Développement (GReD), Clermont-Ferrand, France, **3** Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), Unité Mixte de Recherche (UMR) 6293, GReD, Aubière, France, **4** Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), UMR 1103, GReD, Aubière, France, **5** Centre de Recherche en Nutrition Humaine d'Auvergne, Clermont-Ferrand, France, **6** Laboratoire de Biochimie Alimentaire, Enzymologie, Biotechnologies industrielles et Bioinformatique (BAEIB), Unité de Formation et de Recherche en Sciences de la Vie et de la Terre (UFR-SVT), Université de Ouagadougou, Ouagadougou, Burkina Faso, **7** Laboratoire de Pharmacologie, de Toxicologie et de Chimie Thérapeutique, Unité de Formation et de Recherche en Sciences de la Santé (UFR-SDS), Université de Ouagadougou, Ouagadougou, Burkina Faso, **8** Institut de Recherche en Sciences Appliquées et Techniques, Département des Substances Naturelles, Ouagadougou, Burkina Faso, **9** LEXVA Analytique, Biopole Clermont-Limagne, Saint-Beauzire, France, **10** Centre Médical Saint Camille de Ouagadougou, Ouagadougou, Burkina Faso

Abstract

This research highlights the chemical composition, antioxidant, anti-inflammatory and anti-proliferative activities of essential oils from leaves of *Ocimum basilicum*, *Ocimum americanum*, *Hyptis spicigera*, *Lippia multiflora*, *Ageratum conyzoides*, *Eucalyptus camaldulensis* and *Zingiber officinale*. Essential oils were analyzed by gas chromatography–mass spectrometry and gas chromatography–flame ionization detector. Major constituents were α -terpineol (59.78%) and β -caryophyllene (10.54%) for *Ocimum basilicum*; 1, 8-cineol (31.22%), camphor (12.730%), α -pinene (6.87%) and trans α -bergamotene (5.32%) for *Ocimum americanum*; β -caryophyllene (21%), α -pinene (20.11%), sabinene (10.26%), β -pinene (9.22%) and α -phellandrene (7.03%) for *Hyptis spicigera*; p-cymene (25.27%), β -caryophyllene (12.70%), thymol (11.88), γ -terpinene (9.17%) and thymyle acetate (7.64%) for *Lippia multiflora*; precocene (82.10%) for *Ageratum conyzoides*; eucalyptol (59.55%), α -pinene (9.17%) and limonene (8.76%) for *Eucalyptus camaldulensis*; arcurcumene (16.67%), camphene (12.70%), zingiberene (8.40%), β -bisabolene (7.83%) and β -sesquiphellandrene (5.34%) for *Zingiber officinale*. Antioxidant activities were examined using 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) and 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) methods. *O. basilicum* and *L. multiflora* exhibited the highest antioxidant activity in DPPH and ABTS tests, respectively. Anti-inflammatory properties were evaluated by measuring the inhibition of lipooxygenase activity and essential oil of *Z. officinale* was the most active. Anti-proliferative effect was assayed by the measurement of MTT on LNCaP and PC-3 prostate cancer cell lines, and SF-763 and SF-767 glioblastoma cell lines. Essential oils from *A. conyzoides* and *L. multiflora* were the most active on LNCaP and PC-3 cell lines, respectively. The SF-767 glioblastoma cell line was the most sensitive to *O. basilicum* and *L. multiflora* EOs while essential oil of *A. conyzoides* showed the highest activity on SF-763 cells. Altogether these results justify the use of these plants in traditional medicine in Burkina Faso and open a new field of investigation in the characterization of the molecules involved in anti-proliferative processes.

Citation: Bayala B, Bassole IHN, Gnoula C, Nebie R, Yonli A, et al. (2014) Chemical Composition, Antioxidant, Anti-Inflammatory and Anti-Proliferative Activities of Essential Oils of Plants from Burkina Faso. PLoS ONE 9(3): e92122. doi:10.1371/journal.pone.0092122

Editor: Jean-Marc Vanacker, Institut de Génomique Fonctionnelle de Lyon, France

Received: December 12, 2013; **Accepted:** February 17, 2014; **Published:** March 24, 2014

Copyright: © 2014 Bayala et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Funding: This study was supported by Conférence Episcopale Italienne (CEI), Union Economique Monétaire Ouest Africaine (UEMOA) and Campus France for BB, CG, IHN, AY, J-BN, JS; Fondation BNP-Paris, Région Auvergne, Fond Européen de Développement Régional (FEDER), Association de Recherche sur les Tumeurs Prostatiques (ARTP), Fondation ARC, Ligue contre le Cancer for JM. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing Interests: J-MA. Lobaccaro serves as academic editor for PLoS ONE. This does not alter the authors' adherence to PLOS ONE Editorial policies and criteria. G. Figueredo is LEXVA-Analytique founder. This does not alter authors' adherence to all the PLOS ONE policies on sharing data and materials.

* E-mail: j-marc.lobaccaro@univ-bpclermont.fr (J-MAL); jacques.simpore@yahoo.fr (JS)

Introduction

Representing 7.6 million deaths worldwide, or approximately 13% of deaths, cancer is the second cause of mortality [1]. Cancer is nowadays case of major death in the world particularly in the low income countries and middle-incomes. Those numbers of cancer mortality could increase by 50% to reach 15 million by

2030 worldwide [1]. In Africa, in 2008, 682,000 people have been affected by cancer. The mortality was 572,402 during the same period. Epidemiological studies provide 1.2 million new cases of cancer in Africa by 2030 with more than 970,000 dead if adequate preventive measures are not taken quickly. The most common types of cancer in Africa are women cervical cancer of the uterus, breast and primary liver cancers, and men prostate cancer and

Kaposi's sarcoma; even though epidemiological data regarding cancer in Sub-Saharan Africa are scarce. In Burkina Faso, the few statistics show that the annual incidence of cancer from January 1986 to December 2006 in the three laboratories of anatomy and pathological cytology of Ouagadougou was 200 cases per year [2]. This extremely low rate was mainly explained by the very low participation of the population in screening of cancers. The most frequent cancers for men are skin cancer (11.37%), followed by non-Hodgkin lymphoma (9.80%) and prostate cancer (9.69%) while breast (23.81%) and uterine neck cancers (22.99%) are the most frequent for women [2].

Plants are a potential source of drug discovery and development of cancer chemoprevention [3,4]. They could thus provide a hope for finding anticancer molecules available and efficient for the treatment of persons with cancer. In fact, many cytotoxic molecules, which are of plant origin, are widely used in chemotherapy [5]. Burkina Faso is a country with many unknown plant whose compounds could be used in medicine [6]. Essential oils (EOs) are volatile, complex compounds characterized by a strong odor and are formed by aromatic plants as secondary metabolites. They have been widely used for bactericidal, virucidal, fungicidal, antiparasitical, insecticidal, anticancer, antioxidant, antidiabetic, cardiovascular, and cosmetic and food applications [7,8]. Among the various plants with putative pharmacological properties, *Ocimum basilicum* Linnæus, *Ocimum americanum* Linnæus, *Hyptis spicigera* Lamarck, *Lippia multiflora* Moldenk, *Ageratum conyzoides* Linnæus, *Eucalyptus camaldulensis* Dehnhardt and *Zingiber officinale* Roscoe are common in Burkina Faso. Leaves and leaf stems of these plants are widely used in traditional medicine in Burkina Faso among others to treat angina, swellings, wounds, scorpion and snake bites, malaria, hemorrhoids, rheumatism, fevers, nervous dyspepsia, rheumatism, uterus diseases, jaundice [9] and are also used as antioxidant, anti-inflammatory and fungicide [9]. The plants used in the treatment of certain inflammatory and oxidative diseases may have anticancer effects. Indeed, there is a relationship between the production of reactive oxygen species (ROS) to the origin of oxidation and inflammation that can lead to cancer [10]. In fact, initial experiments on the role of ROS in tumor initiation have assumed that oxidative stress acts as a DNA-damaging agent, effectively increasing the mutation rate within cells and thus promoting oncogenic transformation [10]. However, recent studies have revealed that in addition to inducing genomic instability, ROS can specifically activate signaling pathways and thus contribute to tumor development through the regulation of cellular proliferation, angiogenesis, and metastasis [11]. Chronic inflammation has been linked to various steps involved in carcinogenesis, including cellular transformation, promotion, survival, proliferation, invasion, angiogenesis, and metastasis [12,13]. Several human chronic disease states including cancer have been associated with oxidative stress produced through either an increased free radical generation and/or a decreased antioxidant level in the target cells and tissues [14,15].

From previous studies carried on biological activities on EOs, *O. americanum* has insecticidal [16], antimicrobial [17], [18] and antibacterial [19] activities. Likewise EO of *O. basilicum* has larvicidal [20], antimicrobial [21], antileishmanial [22], antifungal [23], anticancer [24] activities. EO extracted from *H. spicigera* has shown insecticidal [16,25], antimicrobial, anticancer and insecticidal [26], gastroprotective and ulcer healing effects [27]. EO from *L. multiflora* is analgesic, antipyretic anti-inflammatory [28], and antimicrobial [21]. EO extracted from *A. conyzoides* L. is antifungal, suppressor of the potent mycotoxin aflatoxin B1 [29], insecticidal [30] and anti-inflammatory [31]. *E. camaldulensis* has larvicidal

[32], insecticidal [33], and acaricidal [34] activities. *Z. officinale* has been shown to be antifungal [35], antiradical [36] and larvicidal [37]; besides its EO also presents inhibitory effects on leukocyte migration [38], antioxidant activity [39], antibacterial and anticancer activity [40]. At last, EO of *E. camaldulensis* has larvicidal [32], insecticidal [33] and acaricidal activities [34].

The aim of the present study was to investigate chemical compositions and chemotypes, antioxidant, anti-inflammatory and antiproliferative activities of EOs from these seven plants of Burkina Faso *in vitro* as well as on cell cultures.

Materials and Methods

Plant material

O. basilicum, *O. americanum*, *H. spicigera*, *L. multiflora*, *A. conyzoides*, *E. camaldulensis* and *Z. officinale* were collected during June 2010 in Gampéla, 25 km East from Ouagadougou (Latitude N 12 27.075, Longitude W 1 20.161; GPS location: 12.451244,-1.336023). Plants, which are not endangered or protected, were identified by Dr. Jeanne Millogo-Rasolodimby (Plant Biology and Ecology Laboratory, Ouagadougou University) and a voucher specimen was deposited under numbers 15941, 15939, 15942, 15938, 13162, 15943 and 15944 for *O. basilicum*, *O. americanum*, *H. spicigera*, *L. multiflora*, *A. conyzoides*, *E. camaldulensis* and *Z. officinale* respectively in the herbarium of the Plant Biology and Ecology Laboratory. No specific permission was required for this plant collection.

Essential oils (EOs)

Fractions of each dried plant material (200 g) were submitted to hydrodistillation using an alembic/Clevenger-type apparatus for 3 h as previously described [41]. Anhydrous sodium sulfate was used to remove water after extraction. EOs were stored in airtight containers in a refrigerator at 4°C until GC-FID and GC/MS analyses and biological tests. EOs were diluted in hexane (1/30, v/v) for GC/FID analysis.

Gas chromatography–flame ionization detector (GC/FID) analysis

Gas chromatography was performed on an Agilent gas chromatograph Model 6890 (Agilent, Palo Alto, Ca), equipped with a DB5 MS column (30 m×0.25 mm, 0.25 µm film thickness). Hydrogen was used as carrier gas (flow 1.0 ml/min). Oven temperature program was from 50°C (5 min) to 300°C at 5°C/min, 5 min post run at 300°C. Sample (1 µL) was injected in split mode (1:60); injector and detector temperatures were 280 and 300°C, respectively.

Gas chromatography–mass spectrometry (GC/MS) analysis

EOs were analyzed on an Agilent gas chromatograph Model 7890, coupled to a Agilent MS model 5975, equipped with a DB5 MS column (20 m×0.20 mm, 0.20 µm film thickness), programming from 50°C (5 min) to 300°C at 8°C/min, 5 min hold. Helium was used as carrier gas (average flow 1.0 ml/min). Oven temperature program was from 50°C (3.2 min) to 300°C at 8°C/min, 5 min post run at 300°C. Sample (1 µL) was injected in split mode (1:150); injector and detector temperature were at 250°C and 280°C respectively. The MS working in electron impact mode at 70 eV; electron multiplier, 1500 V; ion source temperature, 230°C; mass spectra data were acquired in the scan mode in *m/z* range 33–450.

Identification of components

Oil constituents were identified by comparison of their retention indices with those of the literature, determined in relation to a homologous series of n-alkanes (C8–C32) under the same operating conditions. Further identification was made by comparison of their mass spectra with those stored in NIST library [42] or with mass spectra from literature [43]. Component relative percentages were calculated based on GC peak areas without using correction factors. The major identified compounds are indicated on Figure 1.

DPPH radical scavenging assay

DPPH (Sigma-Aldrich, L'Île d'Abeau, France) radical scavenging activity was measured as described by Velasquez [20]. Briefly, 0.5 mL of EO (8 mg/mL in methanol) was added to 1 mL of DPPH solution (20 mg/mL in methanol) freshly prepared. After shaking, the mixture was incubated for 15 min in darkness at room temperature and then absorbance was measured at 517 nm against a blank (mixture without EO). Quercetin (Sigma-Aldrich) was used as positive control. Inhibition percentage of free DPPH radicals (I %) was calculated following the formula: $I (\%) = (1 - A_{\text{Sample}}/A_{\text{Blank}}) \times 100$, A_{blank} and A_{sample} being the absorbance of the blank and sample reactions respectively.

ABTS⁺ radical cation decolorisation assay

The spectrophotometric analysis of ABTS⁺ scavenging activity was determined according to the method Re et al. [44]. Preparation of ABTS⁺ solution was done by dissolving 10 mg of ABTS in 2.6 ml of distilled water. Then, 1.7212 mg of potassium persulfate was added and the mixture is kept in the dark at room temperature for a maximum of 12 hours. The mixture was then diluted with ethanol in order to obtain an absorbance of 0.70 ± 0.02 to 734 nm. In 96-well plates, 50 μ L of test sample solution of essential oil (8 mg/mL) were added to 200 μ L of ABTS⁺ solution freshly prepared. The same process was performed for quercetin (1 mg/mL) used as a positive control. Wholes are

protected from light for 15 min and the concentration is read at 734 nm in a spectrophotometer against a standard curve with 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox, Sigma-Aldrich). Concentration compounds having a reducing effect on the radical cation ABTS⁺ (antioxidant) is expressed in micromoles Trolox equivalent per gram of EO ($\mu\text{mol ET/g}$) using the following formula: $C = (c \times D)/C_i$. C, concentration of antioxidant compounds in $\mu\text{MET/g}$; c, concentration of sample read; D, dilution factor; C_i , concentration of stock solution.

Anti-inflammatory capacity

Lipoxygenase (EC 1.13.11.12) type I-B inhibiting activity was assayed spectrophotometrically as described by [45] with minor modifications. Briefly 100 μ L of the enzyme solution (at the final concentration of 200 U/mL) was prepared in boric acid buffer (0.2 M; pH 9.0), mixed with 25 μ L of extract solution (8 mg/mL in boric acid buffer) and then incubated at room temperature for 3 min. Reaction was subsequently initiated by the addition of substrate solution (linoleic acid, 250 μ M), and the velocity was recorded for 90 seconds at 234 nm. Boric acid buffer was used as negative control (activity of enzyme without extract solution). The percentage of lipoxygenase inhibition was calculated according to the following equation: $\text{Inhibition } (\%) = (V_{\text{control}} - V_{\text{sample}}) \times 100 / V_{\text{control}}$. V_{control} is the activity of enzyme in absence of extract solution, and V_{sample} is the activity of the enzyme in the presence of the analyzed EOs.

Cell culture

Two human prostate cancer cell lines were used: LNCaP, an androgen responsive cell line with a low metastatic potential derived from a lymph node metastasis [46], and PC-3, an androgen insensitive cell line with a high metastatic potential derived from bone metastasis [47]. Two human glioblastoma cell lines with disparate radiation sensitivity were used, SF-763 and SF-767. Cells were grown at 37°C in a humidified chamber with 5% CO₂ as monolayer adherent cultures in 75 cm² tissue culture

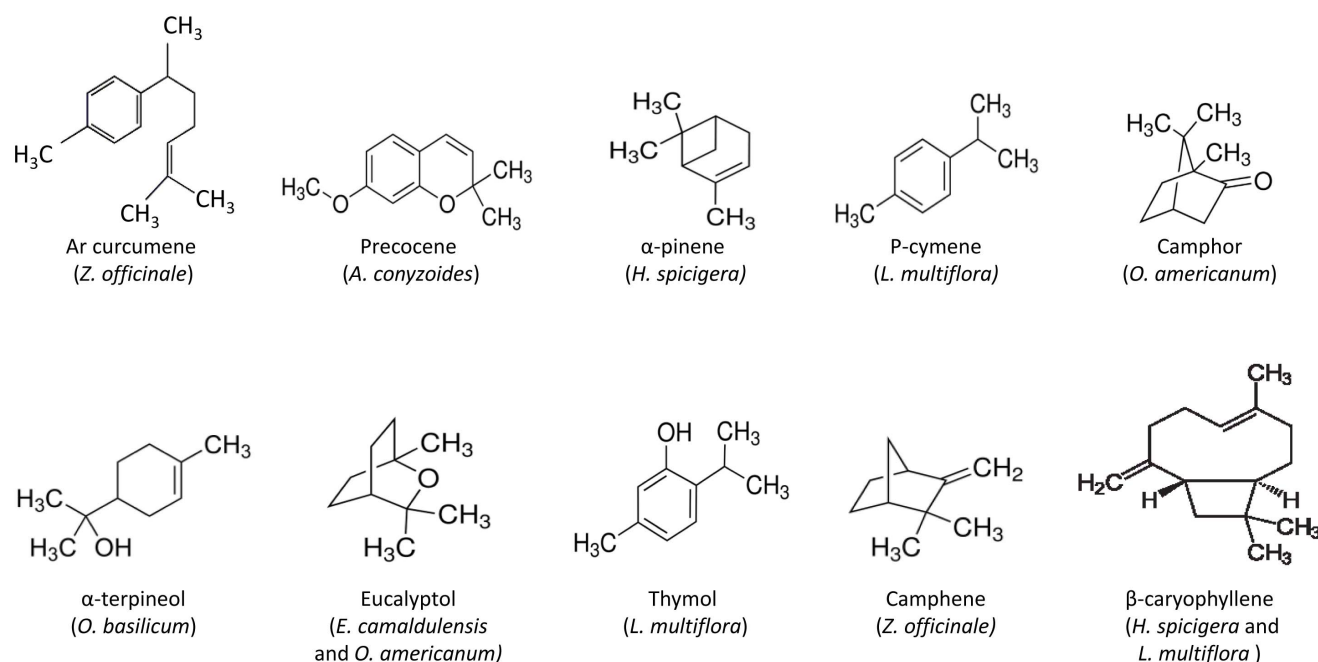


Figure 1. Chemical structures of the major compounds found in the analyzed essential oils.

doi:10.1371/journal.pone.0092122.g001

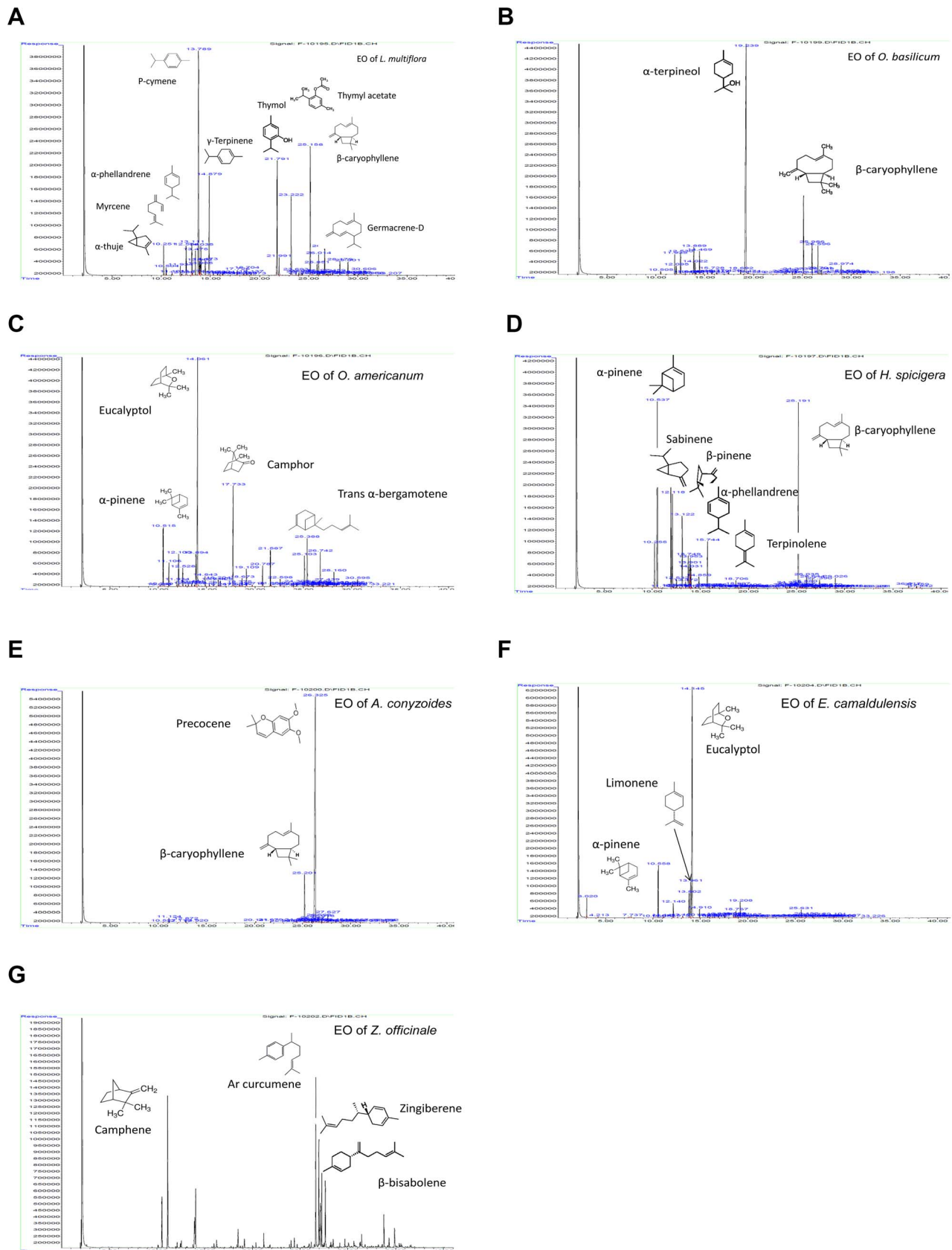


Figure 2. Chromatograms of the various EOs with their major identified compounds. A) *O. basilicum*; B) *O. americanum*; C) *H. spicigera*; D) *L. multiflora*; E) *A. conyzoides*; F) *A. calmdulensis*; G) *Z. officinale*.
doi:10.1371/journal.pone.0092122.g002

Table 1. Chemical composition (in %) of essential oils of the seven aromatic plants tested.

Compounds	rt	<i>A. conyzoides</i>	<i>E. camaldulensis</i>	<i>L. multiflora</i>	<i>H. spicigera</i>	<i>O. americanum</i>	<i>O. basilicum</i>	<i>Z. officinale</i>
α -thujene	10.249	—	—	2.63	4.37	0.13	—	—
α -pinene	10.505	0.10	9.17	0.68	20.11	6.87	0.39	4.14
Camphene	11.106	0.80	0.19	0.23	0.09	2.77	—	12.69
Sabinene	11.935	0.07	—	0.86	10.26	0.65	2.58	—
β -pinene	12.095	—	2.49	0.14	9.22	3.71	1.08	0.46
Myrcene	12.530	—	0.15	2.67	0.81	2.04	2.71	0.60
α -phellandrene	13.100	—	0.32	2.97	7.03	0.39	—	—
α -terpinene	13.46	0.45	—	2.18	0.61	0.40	0.11	—
p-cymene	13.740	—	4.73	25.27	3.05	0.21	0.14	0.28
Limonene	13.889	0.10	8.76	1.21	2.33	4.66	3.69	2.08
β -phellandrene	13.953	—	—	—	2.69	—	—	2.46
Eucalyptol	14.022	—	59.55	3.37	1.81	31.22	1.46	4.79
(E)- β -ocimene	14.469	—	—	1.23	0.13	—	2.86	—
γ -Terpinene	14.854	—	1.39	9.17	1.09	1.13	0.16	—
Terpinolene	15.728	—	0.21	0.17	4.43	0.65	0.60	—
Camphor	17.733	—	—	0.46	—	12.73	—	—
Borneol	18.432	—	0.46	—	—	0.13	—	1.55
Terpinene-4-ol	18.692	—	1.14	0.55	0.75	0.92	0.63	—
α -terpineol	19.239	—	2.65	0.25	—	2.08	59.78	0.78
Piperitone	20.787	—	0.09	—	0.08	2.44	—	—
Geranial	21.181	—	—	—	—	—	—	1.21
bornyl Acetate	21.587	0.23	—	—	0.05	3.96	—	—
Thymol	21.791	—	—	11.88	—	—	—	—
Carvacrol	21.991	—	—	1.67	—	—	—	—
Thymyle Acetate	23.222	—	—	7.64	—	—	—	—
β -caryophyllene	25.116	8.49	—	12.70	21.00	3.55	10.54	—
Trans α -bergamotene	25.388	0.12	—	—	—	5.32	—	—
Aromadendrene	25.630	—	1.40	—	—	—	—	—
α -humulene	25.986	0.64	—	1.89	1.14	0.25	3.90	—
Precocene	26.324	82.09	—	—	—	—	—	—
Germacrene-D	26.596	1.30	—	2.50	1.00	0.24	3.72	—
Ar curcumene	26.643	—	—	—	—	—	—	16.67
(Z, E)- α -farnesene	26.742	—	—	—	—	3.67	—	—
Zingiberene	26.957	—	—	—	—	—	—	8.40
γ -bulgarene	27.113	—	—	—	—	—	—	3.79
(E,E)- α -farnesene	27.143	—	—	—	—	—	—	2.58
β -bisabolène	27.263	—	—	—	—	—	—	7.83
β -sesquiphellandrene	27.627	1.42	—	—	—	—	—	5.33
Elemol	28.16	—	—	1.25	—	1.60	—	0.44
Caryophyllene oxide	28.974	0.15	—	1.40	0.98	0.08	1.29	—
TOTAL		98.79	97.43	99.23	96.72	98.90	99.45	83.30
Monoterpene hydrocarbon		1.52	86.96	52.78	68.03	54.83	15.78	27.5
Sesquiterpene hydrocarbon		11.97	1.4	17.09	23.14	13.03	18.16	44.6
Oxygenated terpenes		82.47	4.34	25.10	1.86	23.94	61.7	3.98

rt, retention time (min).

doi:10.1371/journal.pone.0092122.t001

flasks, in a medium supplemented with 10% fetal calf serum (FCS, Biowest, Nuaille, France), 1% penicillin and 1% streptomycin (Invitrogen, Oslo, Norway). LNCaP and PC-3 Cells were maintained in RPMI-1640 (Invitrogen). SF-767 and SF-763 cells were maintained in DMEM (Invitrogen).

Cytotoxicity assay

Stock solution of 10 µl/ml of EOs was prepared in 1% DMSO (Sigma-Aldrich) in complete medium. Global cell growth was assessed using the colorimetric MTT (3[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-diphenyltetrazolium bromide) assay (Sigma-Aldrich). Cells were incubated for 24 hours in 96-well plates (50,000 cells/ml) before incubation with EOs. Cell proliferation test is based on the ability of living cells to reduce MTT (yellow) into its metabolite blue formazan (violet). After 72 h incubation with or without EO, the number of living cells is directly proportional to the intensity of the violet color measured quantitatively by spectrophotometry using a microplate reader type Bio-Rad 11885 at 490 nm. Each experimental condition was analyzed in quadruplicate, with three experiments for each EO. Growth inhibition was calculated as follow: % growth inhibition = $100 - \frac{(\text{OD}_{\text{test sample}} - \text{OD}_{\text{blank}})}{(\text{OD}_{\text{control}} - \text{OD}_{\text{blank}})} \times 100$.

Statistical analysis

All *in vitro* experiments were done in quadruplicate and each data point represents the average of at least three independent experiments. All data are reported as the mean \pm SD. Data were analyzed by 1-way analysis of variance followed by the Tukey multiple-comparison test. Analyses were done by using XLSTAT7.1 software. A P value less than 0.05 was used as the criterion for statistical significance.

Results and Discussion

Composition analysis of the various essential oils

Steam distillation, followed by GC/MS and GC/FID analyses allowed determining the composition of EOs of the seven plants from Burkina Faso. Chromatograms with the identified peaks as well as the chemical structures of the major compounds are shown

in Figure 2. Percentage composition of the oil components are listed in Table 1. Briefly, EOs mainly contain a complex mixture of monoterpene hydrocarbons, sesquiterpene hydrocarbons and oxygen containing mono- and sesquiterpenes (Figure 1). Monoterpenes hydrocarbons were dominant in the EOs of *E. camaldulensis*, *L. multiflora*, *H. spicigera* and *O. americanum*. Sesquiterpene hydrocarbons were the most abundant in the EO of *Z. officinale*. Oxygenated terpenes were the most dominant constituents of the EOs of *A. conyzoides* and *O. basilicum*. The EO of *L. multiflora* and *O. americanum* also contained relative percentage of oxygenated terpenes, 25.10% and 23.94%, respectively.

A total of 29 compounds were identified in the EO of *O. basilicum* (Figure 2A). Two major compounds were identified: α -terpineol (59.78%) and β -caryophyllene (10.54%). The minor compounds were α -humulene (3.90%), Germacrene-D (3.72%), Limonene (3.69%), (E)- β -ocimene (2.86%), Myrcene (2.71%), Eucalyptol (1.46%), Caryophyllene oxide (1.29%) and β -pinene (1.08%). On the basis of the oil composition, seven chemotypes of *O. basilicum* essential oil have been described: (1) high-linalool, (2) linalool/eugenol, (3) methyl chavicol without linalool, (4) methyl chavicol/linalool, (5) methyl eugenol/linalool, (6) methyl cinnamate/linalool and (7) bergamotene chemotypes [48]. The terpineol α/β caryophyllene chemotype of the EO in leaves of *O. basilicum* of our analysis (Table 1) has not been reported yet. This is not surprising as the composition of EO depends on genetics, age, season and/or environment of the plant [49].

In the EO of *O. americanum*, 44 compounds were identified (Figure 2B); 1, 8-cineol (31.22%), Camphor (12.730%), α -pinene (6.87%) and trans α -bergamotene (5.32%) were the most abundant compounds. Minor components were Limonene (4.66%), bornyl Acetate (3.96%), β -pinene (3.71%), farnesene (3.67%), β -caryophyllene (3.55%), Camphene (2.77%), Myrcene (2.04%), α -terpineol (2.08%), Piperitone (2.44%), (Z, E)- α -Elemol (1.60%), Terpinene (1.13%). This composition was different from that reported for Indian *O. americanum* [50]. Conversely, our data corroborate the data published by Djibo et al. [51].

EO of *H. spicigera* pointed out 39 compounds (Figure 2C); major compounds appear such as β -caryophyllene (21%), α -pinene (20.11%), Sabinene (10.26%), β -pinene (9.22%), α -phellandrene (7.03%); minors are Terpinolene (4.43%), α -thujene (4.37%), P-cymene (3.05%), β -phellandrene (2.69%), Limonene (2.33%), Eucalyptol (1.81%), α -humulene (1.14%), γ -Terpinene (1.09%) and Germacrene-D (1.00%). Similar composition has been reported by McNeil et al. [26].

EO of *L. multiflora* contains 42 compounds (Figure 2D); among them, the major molecules were p-cymene (25.27%), β -caryophyllene (12.70%), thymol (11.88), γ -terpinene (9.17%), thymyle acetate (7.64%). The minor components were Eucalyptol (3.37%), α -phellandrene (2.97%), α -thujene (2.63%), Myrcene (2.67%), Germacrene-D (2.50%), α -terpinene (2.18%), α -humulene (1.89%), Carvacrol (1.67%), Caryophyllene oxide (1.40%), (E)- β -ocimene (1.23%), Elemol (1.25%) and Limonene (1.21%). This composition was different from that previously reported [21].

Twenty three compounds were identified in the EO of *A. conyzoides* (Figure 2E). Precocene (82.10%) was the most dominant followed by caryophyllene (8.50%). Minor components were β -sesquiphellandrene (1.42%) and Germacrene-D (1.30%). This composition is comparable to that reported by De Melo et al. [52] and Nogueira et al. [29]. Abdelkader and Lockwood [53] described precocene I, germacrene D, β -caryophyllene and precocene II as the main constituents.

In the EO of *E. camaldulensis* (Figure 2F), 39 compounds were identified, among which Eucalyptol (59.55%), α -pinene (9.17%) and limonene (8.76%) were the most dominant. The minor

Table 2. Anti-radical activity of essential oils by DPPH and ABTS methods.

	DPPH	ABTS test
Essential Oils	% Inhibition	µMET/g
<i>O. basilicum</i>	55.67 \pm 3.38 ^A	0.69 \pm 0.03 ^B
<i>O. americanum</i>	15.90 \pm 5.73 ^C	0.48 \pm 0.01 ^C
<i>H. spicigera</i>	41.70 \pm 3.10 ^{A,B}	0.52 \pm 0.02 ^C
<i>L. multiflora</i>	42.23 \pm 2.73 ^{A,B}	1.02 \pm 0.02 ^A
<i>A. conyzoides</i>	32.37 \pm 4.25 ^{B,C}	0.53 \pm 0.02 ^C
<i>E. camaldulensis</i>	43.40 \pm 4.13 ^{A,B}	not determined
<i>Z. officinale</i>	36.10 \pm 3.51 ^{A,B,C}	0.34 \pm 0.03 ^D
Quercetin	73.13 \pm 5.25	8.96 \pm 0.07

DPPH, (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl); ABTS (2,2'-azino-bis[3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid]); Values are expressed as mean values \pm standard deviation (n=3 experiments in quadruplicate); DPPH activities is expressed as inhibitory percentage at and ABTS activities are given in mmol TE/g (10⁻³ mol Throlox equivalent/g of extract); Concentrations of the extracts Throlox of 100 µg/mL for DPPH and 1 mg/mL for ABTS used as standard; A, B, C, D: means followed by the same letter are not significantly different (p>0.05). doi:10.1371/journal.pone.0092122.t002

Table 3. Inhibition percentage of lipoxygenase by essential oils.

Essential oils	* <i>O. basilicum</i>	* <i>O. americanum</i>	* <i>H. spicigera</i>	* <i>L. multiflora</i>	* <i>A. conyzoides</i>	* <i>E. camaldulensis</i>	** <i>Z. officinale</i>	**Quercetin (control)
Inhibition (%)	98.2±6.1 ^C	31.6±16.2 ^D	75.1±10.6 ^C	96.9±4.0 ^C	48.3±19.1 ^D	96.4±3.3 ^C	50.9±0.2 ^B	52.3±0.7 ^A

Values are expressed as mean values ± standard deviation (n = 3 experiments); %, percentage;

*, 8 mg/ml in the reaction medium;

**, 0.4 mg/ml;

***, 100 µg/ml in the reaction medium;

A, B, C, D: means followed by the same letter are not significantly different (p > 0.05).

doi:10.1371/journal.pone.0092122.t003

components were P-cymene (4.73%), α -terpineol (2.65%), β -pinene (2.49%), Aromadendrene (1.40%), γ -Terpinene (1.39%) and Terpinene-4-ol (1.14%). A similar composition has been reported by Da Cruz et al. [54] but differs from the chemotype isolated by Herzi et al. [55].

Essential oil of *Z. officinale* contained 35 compounds (Figure 2G). The major compounds are arcurcumene (16.67%), camphene (12.70%), zingiberene (8.40%), β -bisabolene (7.83%), β -sesquiphellandrene (5.34%). These results were comparable to those reported by Nogueira de Melo et al. [38] which found arcurcumene (59%), β -myrcene (14%), 1,8-cineole (8%), citral (7.5%), and zingiberene (7.5%) as main compounds. Eucalyptol (4.79%), α -pinene (4.14%), β -phellandrene (2.46%), Limonene

(2.08%), Borneol (1.55%) and Geranial (1.21%) were the minor components of this EO.

Antioxidant activity of the essential oils

An antioxidant can be defined as any substance capable of competing with other oxidizable substrates at relatively low concentrations and delay or prevent the oxidation of these substrates. The DPPH radical-scavenging activities of the seven EOs and of references are shown in Table 2. EO of *O. basilicum* showed the best ability to scavenge DPPH⁺ radical created *in vitro* with a percentage of inhibition of 55.67% for a concentration of 8 mg/mL while *L. multiflora* exhibited the highest capability to reduce ABTS⁺ (1.02 µmolET/g) followed by *O. basilicum*. Besides, *E. camaldulensis*, *L. multiflora* and *H. spicigera* respectively also

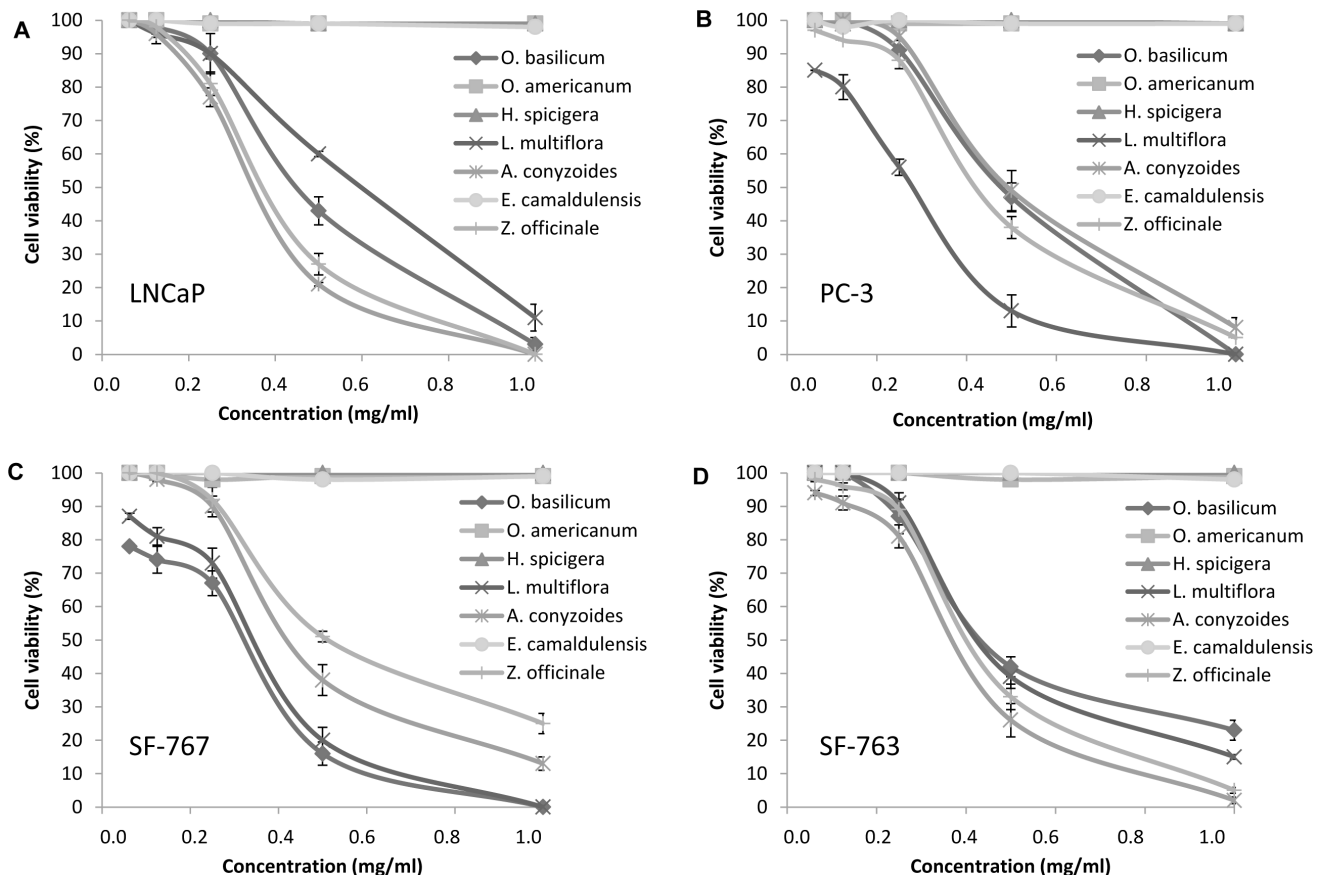


Figure 3. Dose-dependent anti-proliferative activity of EOs after 72 hours of exposure. A LNCaP cells; B) PC-3 cells; C) SF-767 cells; D) SF-763 cells. Experiments were performed 3 times in octuplets.

doi:10.1371/journal.pone.0092122.g003

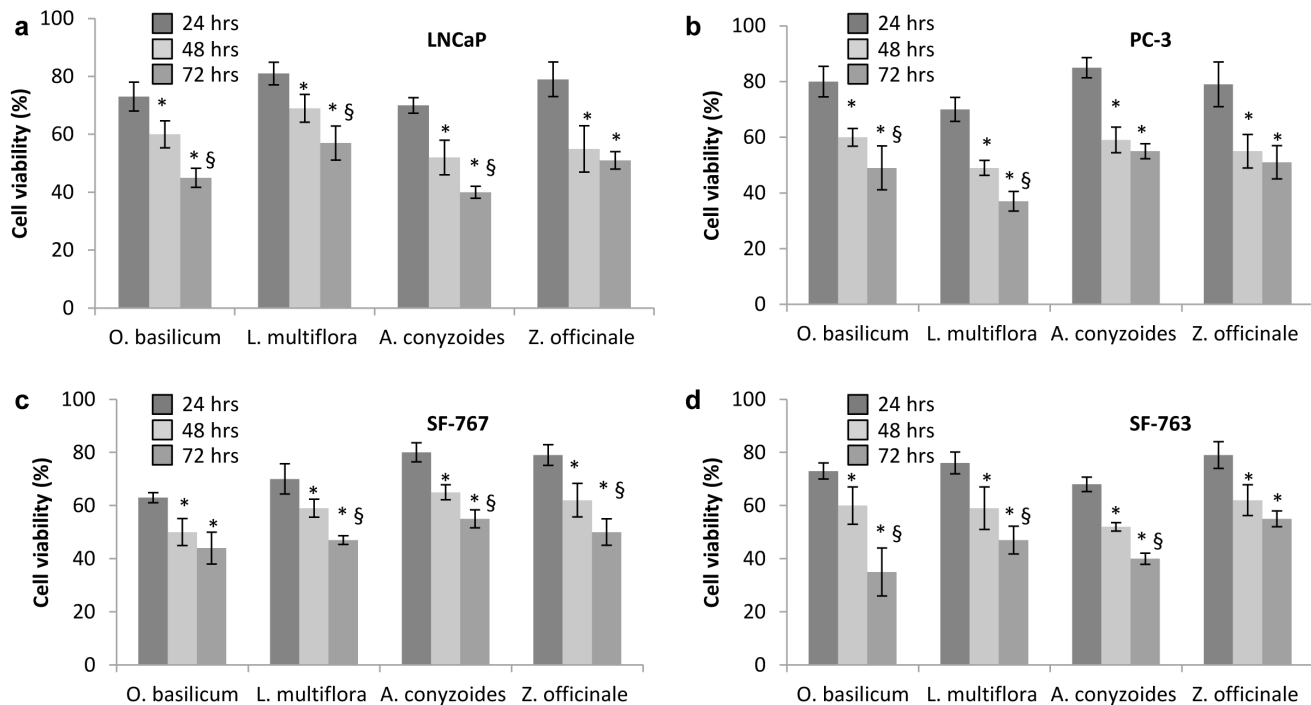


Figure 4. Time-dependent anti-proliferative activity of EOs after 24, 48 and 72 hours of exposure. Cells were incubated at IC₅₀ of each EO. a, LNCaP cells; b, PC-3 cells; c, SF-767 cells; d, SF-763 cells. *, p<0.05 compared to 24 hrs of treatment; §, p<0.05 compared to 48 hrs of treatment. Experiments were performed 3 times in octuplets. doi:10.1371/journal.pone.0092122.g004

presented interesting antioxidant activities. For some EOs, results differed between DPPH and ABTS methods. These variations may be explained by the mechanisms involved in the radical antioxidant reactions. Indeed, antioxidant activity of the tested compounds depended on the stressing agent used and the mechanism of action of the antioxidant [56]. Other factors, such as stereo-selectivity of the radicals or the solubility of EOs in different testing systems, may also affect the capacity of individual EO to react and quench different radicals [57]. In this sense, Del Castillo et al. [58] analyzed coffee brews from several roasting processes and reported higher responses by the ABTS test in

aqueous *vs.* ethanol dilution. They attributed the difference to the fact that some components, making an important contribution to the antioxidant activity of the aqueous dilutions, were not soluble in ethanol. Probably the fact that the DPPH method was developed in methanol media was responsible for the lower response found. Likewise, Wang and Jiao [59] evaluated the radical scavenging capacity of berry crops using superoxide radicals, hydroxyl radicals, and other reactive oxygen species. The berry crop that had a greater scavenging activity against superoxide radicals did not necessarily have a higher activity to quench hydroxyl radicals [59]. In our study, the major compounds of EO of *O. basilicum* are alcohol monoterpenes while the major compounds of EO of *L. multiflora* are carbohydrate monoterpenes; this difference of chemical functions of compounds in these two EOs could hence explain the activity differences between the two methods.

In addition monoterpenes found in these EOs may act as antioxidant agents. Previous studies showed that oxygenated monoterpenes, such as thymol, carvacrol and α -terpineol, were mainly responsible for the antioxidant potential of the plant oils which contain them [60,61]. The monoterpene β -caryophyllene also possesses a free radical scavenging activity using the DPPH assay [62].

Anti-inflammatory properties of the essential oils

Chronic inflammation increases the risk for various cancers, indicating that eliminating inflammation may represent a valid strategy for cancer prevention and therapy. For that purpose we evaluated the anti-inflammatory properties of EOs we isolated. Among the seven plants, *Z. officinale* presented the highest anti-inflammatory activity indeed a 50.9% of inhibition of lipoxygenase at 0.4 mg/ml while this inhibition was complete (100%) at 8 mg/ml (Table 3). *Z. officinale* activity (50.9% of inhibition at 0.4 mg/

Table 4. IC₅₀ (mg/ml) of essential oils tested on LNCaP and PC-3 prostate cancer cell lines, and SF-767 and SF-763 glioblastoma cell lines.

Essential oils	Prostate cancer		Glioblastoma	
	LNCaP	PC-3	SF-767	SF-763
<i>O. basilicum</i>	0.46±0.11 ^{A,B}	0.45±0.07 ^B	0.30±0.05 ^A	0.43±0.10 ^A
<i>O. americanum</i>	not active	not active	not active	not active
<i>H. spicigera</i>	not active	not active	not active	not active
<i>L. multiflora</i>	0.58±0.14 ^B	0.30±0.03 ^A	0.31±0.02 ^{A,B}	0.47±0.14 ^A
<i>A. conyzoides</i>	0.35±0.03 ^A	0.49±0.08 ^B	0.43±0.09 ^{B,C}	0.38±0.06 ^A
<i>E. camaldulensis</i>	not active	not active	not active	not active
<i>Z. officinale</i>	0.38±0.11 ^A	0.42±0.05 ^B	0.48±0.09 ^C	0.44±0.08 ^A

IC₅₀, Inhibiting Concentration 50; Values are expressed as mean values ± standard deviation (n=3 experiments in octuplets); value with same letter within each column could be considered as identical (p>0.05). doi:10.1371/journal.pone.0092122.t004

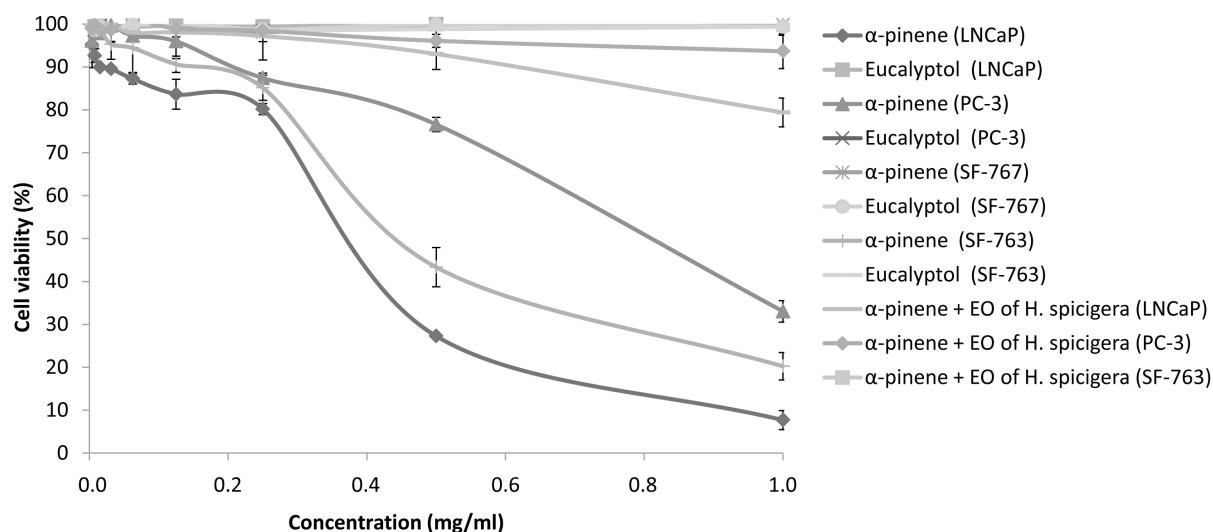


Figure 5. Dose-dependent anti-proliferative activity of purified compounds and their combination with essential oils after 72 hours of exposure on LNCaP and PC-3 cell lines of prostate cancer, and on SF-767 and SF-763 cell lines of glioblastoma. Experiments were performed 3 times in octuplets.

doi:10.1371/journal.pone.0092122.g005

ml) is highly interesting compared to that of the positive control quercetin (52.32% of inhibition at 0.1 mg/ml). *O. basilicum* (98.2%), *E. camaldulensis* (96.4%), *L. multiflora* (96.4%), *H. spicigera* (75.1%), *A. conyzoides* (48.3%) and *O. americanum* (31.6%) (Table 3) were active at 8 mg/ml and no significant effect was observed at 0.4 mg/ml. These results are in agreement with several studies of anti-inflammatory abilities of sesquiterpenes compounds [63]. Lipoygenases and their active metabolites (HPETE and HETE) are involved in many human cancers [64]. Pidgeon et al. [65] have shown the involvement of 15-lipoxygenase in the development of breast, prostate, colorectal cancers where it is over expressed [65]. Moreover, the 5-LOX mRNA and/or its activating protein FLAP are over expressed in prostate cancer [66].

Anti-proliferative effects of the essential oils

To best of our knowledge, this is the first report on the anti-proliferative activity of these EOs. To test such effects, we chose two types of cancer cell lines. Prostate cancer cell lines, LNCaP and PC3, represent the paradigm of the prostate tumors with androgen sensitivity and androgen resistance, respectively; besides, this cancer has its incidence increasing in Westernized countries. Glioblastoma is recognized as the most common and lethal form of central nervous system cancer. Currently used surgical techniques, chemotherapeutic agents, and radiotherapy strategies have done very little in extending the life expectancies of patients diagnosed with this tumor. SF-767 and SF-763 cell lines are radiotherapy resistant; in SF-767 cells, STAT3 pathway is activated while in SF-763, both STAT3 and AKT pathways are constitutively activated.

O. basilicum, *Z. officinale*, *L. multiflora* and *A. conyzoides* have shown anti-proliferative activity on both LNCaP and PC-3 cell lines of prostate cancer and both SF-767 and SF-763 cell lines of glioblastoma (Table 4). Conversely, EOs from *E. camaldulensis*, *O. americanum* and *H. spicigera* did not present any antiproliferative activity even at a maximum concentration of 8 mg/ml (Table 4). *A. conyzoides* (IC₅₀ 0.35 mg/mL) and *Z. officinale* (IC₅₀ 0.38 mg/mL) have the highest antiproliferative activity on LNCaP cell line. EOs of *L. multiflora* and *O. basilicum* were the most active on PC-3 cell line (IC₅₀ 0.30 mg/mL) and SF-767 cell line with (IC₅₀ 0.30 mg/mL). Monoterpenes prevent the carcinogenesis process

at both initiation and promotion/progression stages [67]. Monoterpenes are effective in treating early and advanced cancers. In fact, monoterpene pirillyl alcohol has been described to have an anti-proliferative activity on glioblastoma by inhibiting the Na/K-ATPase pump [68]. Other monoterpenes such as limonene have been shown to prevent mammary, liver, lung, and other cancers [67]. Thus, the high content of monoterpenes of these essential oils could explain their antiproliferative activity. In our study, all anti-proliferative effects of the tested EOs are dose- (Figure 3) and time- (Figure 4) dependent.

All EOs with an anti-proliferative activity (Table 4) are also antioxidant (Table 2) and show anti-inflammatory properties (Table 3). Even though there is a relationship between these three activities, the various mechanisms involved for each EO could explain why the variation of these effects. Indeed reactive oxygen species may interact with and modify cellular protein, lipid, and DNA, which results in altered target cell function. The accumulation of oxidative damage has been implicated in both acute and chronic cell injury including possible participation in the formation of cancer [69]. A link between inflammation and cancer has long been suspected, but its molecular nature remained still to be defined [70]. Chronic infection and consecutive inflammation may directly affect the cells that eventually become transformed as well as exert indirect effects on the tumor cell through surrounding cells [70].

EOs of *O. americanum*, *H. spicigera* and *E. camaldulensis* have shown antioxidant activity and anti-inflammatory activity but no anti-proliferative activity. The Eucalyptol or 1, 8-cineol, the major compound of essential oil of *O. americanum* and *E. camaldulensis* has also not effect on LNCaP and PC-3 cell lines of prostate cancer, and the SF-767 and 763 cell lines of glioblastoma to a maximum of 1 mg/mL concentration tested (Figure 5). However, Murata et al. showed that 1, 8-cineole induced specific apoptosis, not necrosis, in human colon cancer cell lines HCT116 and RKO [71]. Each type of cancer involves a specific signaling pathway. Moreover an anticancer compound does not necessarily treat all types of cancer; such is the case of α -pinene (Figure 5). What may explain the fact that the 1, 8 cineole is inactive on prostate cancer and glioblastoma. Accordingly the results of our work show that

essential oils *O. americanum*, *H. spicigera* and *E. camaldulensis* are ineffective against prostate cancer and glioblastoma.

α -pinene, the major compound of *H. spicigera*, showed anti-proliferative activity on LNCaP and PC-3 cell lines of prostate cancer with IC₅₀ of 0.37 mg/ml and 0.82 mg/ml, respectively. The combination of α -pinene and the essential oil of *H. spicigera* (50:50, v:v) resulted in a decreased of this activity (Figure 5). This significant decrease in the activity of combinations of α -pinene with EO of *H. spicigera* leads to an antagonistic effect between α -pinene and the essential oil of *H. spicigera*. This antagonistic effect could justify the inactivity of EO from *H. spicigera* alone (Figure 3). On SF-763 cells IC₅₀ of α -pinene is 0.43 mg/ml while no significant anti-proliferative activity was observed on SF-767 cells (Figure 5). The main difference between these two cell lines regards the survival pathways: indeed STAT3 pathway is activated in SF-767 cells, while both Akt and STAT3 pathways are induced in SF-763 cells. These differences were hypothesized to explain chemoresistance [72] and could also be linked to the differential response to α -pinene.

In conclusion we have evaluated for the first time the chemical composition, ability to scavenge free radicals, anti-inflammatory

activity by inhibition of lipoxygenase, and anti-proliferative activity on various cancer cell lines of EOs from plants of Burkina Faso. EOs enriched in sesquiterpenes presented the highest anti-inflammatory activity while those enriched in monoterpenes and oxygenated terpenes showed highest anti-proliferative characteristics. This work therefore provides a scientific basis for the local use of these plants and also a tool promoting the use therapeutic benefits of EOs from Burkina Faso.

Acknowledgments

We are grateful Lobaccaro's and Simporé's lab members for their helpful scientific discussion. We thank J. P. Saru for technical assistance with molecular biology.

Author Contributions

Conceived and designed the experiments: BB IHN CG RN LM JMAL JS. Performed the experiments: BB IHN CG AY GF JBN. Analyzed the data: BB IHN CG AY LM GF JBN JMAL JS. Contributed reagents/materials/analysis tools: IHN CG LM GF JMAL JS. Wrote the paper: BB IHN CG JMAL JS.

References

- WHO (2013) WHO | Cancer Fact sheet N°297. WHO. Available: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/index.html>. Accessed 2013 Aug 13.
- Goumbri/Lompo O, Domagni O, Sanou A, Konsegré V, Soudre R (2009) Aspects épidémiologiques et histopathologiques des cancers au Burkina Faso. *J Afr Cancer* 1: 207–211. doi:10.1007/s12558-009-0052-x.
- Graham JG, Quinn ML, Fabricant DS, Farnsworth NR (2000) Plants used against cancer - an extension of the work of Jonathan Hartwell. *J Ethnopharmacol* 73: 347–377.
- Liu RH (2004) Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. *J Nutr* 134: 3479S–3485S.
- Newell DR (2005) How to develop a successful cancer drug—molecules to medicines or targets to treatments? *Eur J Cancer* 41: 676–682. doi:10.1016/j.ejca.2004.12.024.
- Sawadogo WR, Maciuk A, Banzouzi JT, Champy P, Figadere B, et al. (2012) Mutagenic effect, antioxidant and anticancer activities of six medicinal plants from Burkina Faso. *Nat Prod Res* 26: 575–579. doi:10.1080/14786419.2010.534737.
- Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M (2008) Biological effects of essential oils—a review. *Food Chem Toxicol Int J Publ Br Ind Biol Res Assoc* 46: 446–475. doi:10.1016/j.fct.2007.09.106.
- Edris AE (2007) Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. *Phytother Res PTR* 21: 308–323. doi:10.1002/ptr.2072.
- Nacoulma OG (1996) Medicinal Plants and Their Traditional Uses in Burkina Faso. Ph.D. Thesis. University of Ouagadougou: 328.
- Jackson AL, Loeb LA (2001) The contribution of endogenous sources of DNA damage to the multiple mutations in cancer. *Mutat Res* 477: 7–21.
- Storz P (2005) Reactive oxygen species in tumor progression. *Front Biosci J Virtual Libr* 10: 1881–1896.
- Mantovani A (2005) Cancer: inflammation by remote control. *Nature* 435: 752–753. doi:10.1038/435752a.
- Coussens LM, Werb Z (2002) Inflammation and cancer. *Nature* 420: 860–867. doi:10.1038/nature01322.
- Trush MA, Kensler TW (1991) An overview of the relationship between oxidative stress and chemical carcinogenesis. *Free Radic Biol Med* 10: 201–209.
- Rice-Evans C, Burdon R (1993) Free radical-lipid interactions and their pathological consequences. *Prog Lipid Res* 32: 71–110.
- Ilboudo Z, Dabiré LCB, Nèbié RCH, Dicko IO, Dugravot S, et al. (2010) Biological activity and persistence of four essential oils towards the main pest of stored cowpeas, *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). *J Stored Prod Res* 46: 124–128. doi:10.1016/j.jspr.2009.12.002.
- Thaweeboon S, Thaweeboon B (2009) In vitro antimicrobial activity of *Ocimum americanum* L. essential oil against oral microorganisms. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 40: 1025–1033.
- Cavalcanti ES, Morais SM de, Lima MAA, Santana EWP (2004) Larvicidal activity of essential oils from Brazilian plants against *Aedes aegypti* L. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 99: 541–544. doi:10.1590/S0074-02762004000500015.
- Cimanga K, Kambu K, Tona L, Apers S, De Bruyne T, et al. (2002) Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. *J Ethnopharmacol* 79: 213–220.
- Martínez-Velázquez M, Castillo-Herrera GA, Rosario-Cruz R, Flores-Fernández JM, López-Ramírez J, et al. (2011) Acaricidal effect and chemical composition of essential oils extracted from *Cuminum cyminum*, *Pimenta dioica* and *Ocimum basilicum* against the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). *Parasitol Res* 108: 481–487. doi:10.1007/s00436-010-2069-6.
- Bassolé IHN, Lamien-Meda A, Bayala B, Tirogo S, Franz C, et al. (2010) Composition and antimicrobial activities of *Lippia multiflora* Moldenke, *Mentha x piperita* L. and *Ocimum basilicum* L. essential oils and their major monoterpene alcohols alone and in combination. *Mol Basel Switz* 15: 7825–7839. doi:10.3390/molecules15117825.
- Sanchez-Suarez J, Riveros I, Delgado G (2013) Evaluation of the leishmanicidal and cytotoxic potential of essential oils derived from ten colombian plants. *Iran J Parasitol* 8: 129–136.
- Lopez-Reyes JG, Spadaro D, Prella A, Garibaldi A, Gullino ML (2013) Efficacy of plant essential oils on postharvest control of rots caused by fungi on different stone fruits in vivo. *J Food Prot* 76: 631–639. doi:10.4315/0362-028X.JFP-12-342.
- Kathirvel P, Ravi S (2012) Chemical composition of the essential oil from basil (*Ocimum basilicum* Linn.) and its in vitro cytotoxicity against HeLa and HEP-2 human cancer cell lines and NIH 3T3 mouse embryonic fibroblasts. *Nat Prod Res* 26: 1112–1118. doi:10.1080/14786419.2010.545357.
- Fragoso-Serrano M, Gonzalez-Chimeo E, Pereda-Miranda R (1999) Novel labdanol diterpenes from the insecticidal plant *hyptis spicigera* L. *J Nat Prod* 62: 45–50. doi:10.1021/np980222z.
- McNeil M, Facey P, Porter R (2011) Essential oils from the *Hyptis* genus—a review (1909–2009). *Nat Prod Commun* 6: 1775–1796.
- Takayama C, de-Faria FM, de Almeida ACA, Valim-Araújo D de A e O, Rehen CS, et al. (2011) Gastroprotective and ulcer healing effects of essential oil from *Hyptis spicigera* Lam. (Lamiaceae). *J Ethnopharmacol* 135: 147–155. doi:10.1016/j.jep.2011.03.002.
- Abena AA, Diatwa M, Gakosso G, Gbeassor M, Hondi-Assah T, et al. (2003) Analgesic, antipyretic and anti-inflammatory effects of essential oil of *Lippia multiflora*. *Fitoterapia* 74: 231–236.
- Nogueira JHC, Gonzalez E, Galletti SR, Facanali R, Marques MOM, et al. (2010) *Ageratum conyzoides* essential oil as aflatoxin suppressor of *Aspergillus flavus*. *Int J Food Microbiol* 137: 55.
- Bouda H, Tapondjou LA, Fontem DA, Gumedze MYD (2001) Effect of essential oils from leaves of *Ageratum conyzoides*, *Lantana camara* and *Chromolaena odorata* on the mortality of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera, curculionidae). *J Stored Prod Res* 37: 103–109.
- Moura ACA, Silva ELF, Fraga MCA, Wanderley AG, Afiatpour P, et al. (2005) Antifungal and chronic toxicity study of the leaves of *Ageratum conyzoides* L. in rats. *Phytomedicine Int J Phytother Phytopharm* 12: 138–142. doi:10.1016/j.phymed.2003.12.003.
- Cheng S-S, Huang C-G, Chen Y-J, Yu J-J, Chen W-J, et al. (2009) Chemical compositions and larvicidal activities of leaf essential oils from two eucalyptus species. *Bioresour Technol* 100: 452–456. doi:10.1016/j.biortech.2008.02.038.
- Alzogaray RA, Lucia A, Zerba EN, Masuh HM (2011) Insecticidal activity of essential oils from eleven *Eucalyptus* spp. and two hybrids: lethal and sublethal effects of their major components on *Blattella germanica*. *J Econ Entomol* 104: 595–600.
- Ghasemi V, Moharramipour S, Tahmasbi G (2011) Biological activity of some plant essential oils against *Varroa destructor* (Acari: Varroidae), an ectoparasitic mite of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Exp Appl Acarol* 55: 147–154. doi:10.1007/s10493-011-9457-1.

35. Yamamoto-Ribeiro MMG, Grespan R, Kohiyama CY, Ferreira FD, Mossini SAG, et al. (2013) Effect of Zingiber officinale essential oil on Fusarium verticillioides and fumonisin production. *Food Chem* 141: 3147–3152. doi:10.1016/j.foodchem.2013.05.144.
36. Alinkina ES, Misharina TA, Fatkulina LD, Burlakova EB (2012) [Comparison of the antiradical activity of ionol, components of fresh ginger, and its extracts]. *Prikl Biokhim Mikrobiol* 48: 564–569.
37. Kalaivani K, Senthil-Nathan S, Murugesan AG (2012) Biological activity of selected Lamiaceae and Zingiberaceae plant essential oils against the dengue vector *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). *Parasitol Res* 110: 1261–1268. doi:10.1007/s00436-011-2623-x.
38. Nogueira de Melo GA, Grespan R, Fonseca JP, Farinha TO, da Silva EL, et al. (2011) Inhibitory effects of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) essential oil on leukocyte migration in vivo and in vitro. *J Nat Med* 65: 241–246. doi:10.1007/s11418-010-0479-5.
39. Misharina TA, Terenina MB, Krikunova NI (2009) [Antioxidant properties of essential oils]. *Prikl Biokhim Mikrobiol* 45: 710–716.
40. Zu Y, Yu H, Liang L, Fu Y, Efferth T, et al. (2010) Activities of ten essential oils towards *Propionibacterium acnes* and PC-3, A-549 and MCF-7 cancer cells. *Mol Basel Switz* 15: 3200–3210. doi:10.3390/molecules15053200.
41. Bassolé IHN, Lamien-Meda A, Bayala B, Obame LC, Ilboudo AJ, et al. (2011) Chemical composition and antimicrobial activity of *Cymbopogon citratus* and *Cymbopogon giganteus* essential oils alone and in combination. *Phytomedicine Int J Phytother Phytopharm* 18: 1070–1074. doi:10.1016/j.phymed.2011.05.009.
42. Stein S, Mirokhin D, Tchekhovskoi D, Mallard G (2002) The NIST Mass Spectral Search Program for the NIST/EPA/NIH Mass Spectra Library; Standard Reference Data Program of the National Institute of Standards and Technology: Gaithersburg, MD, USA.
43. Adams RP (2007) Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. Allured Publishing: Carol Stream, IL, USA: 804 pp.
44. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, et al. (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 26: 1231–1237.
45. Lyckander IM, Malterud KE (1992) Lipophilic flavonoids from *Orthosiphon spicatus* as inhibitors of 15-lipoxygenase. *Acta Pharm Nord* 4: 159–166.
46. Horoszewicz JS, Leong SS, Kawinski E, Karr JP, Rosenthal H, et al. (1983) LNCaP model of human prostatic carcinoma. *Cancer Res* 43: 1809–1818.
47. Kaighn ME, Narayan KS, Ohnuki Y, Lechner JF, Jones LW (1979) Establishment and characterization of a human prostatic carcinoma cell line (PC-3). *Invest Urol* 17: 16–23.
48. Zheljaskov VD, Callahan A, Cantrell CL (2008) Yield and oil composition of 38 basil (*Ocimum basilicum* L.) accessions grown in Mississippi. *J Agric Food Chem* 56: 241–245. doi:10.1021/jf072447y.
49. Senatore F, Urrunaga Soria E, Urrunaga Soria R, Della Porta G, De Feo V (1998) Essential oils from two Peruvian *Satureja* species. *Flavour Fragr J* 13: 1–4. doi:10.1002/(SICI)1099-1026(199801/02)13:1<1::AID-FFJ672>3.0.CO;2-4.
50. Govindarajan M, Sivakumar R, Rajeswary M, Yogalakshmi K (2013) Chemical composition and larvicidal activity of essential oil from *Ocimum basilicum* (L.) against *Culex tritaeniorhynchus*, *Aedes albopictus* and *Anopheles subpictus* (Diptera: Culicidae). *Exp Parasitol* 134: 7–11. doi:10.1016/j.exppara.2013.01.018.
51. Djibo AK, Samaté AD, Nacro M (2004) Composition chimique de l'huile essentielle de *Ocimum americanum* Linn., syn. *O. canum* Sims du Burkina Faso. *Comptes Rendus Chim* 7: 1033–1037. doi:10.1016/j.crci.2003.12.029.
52. De Melo NI, Magalhaes LG, de Carvalho CE, Wakabayashi KAL, de P Aguiar G, et al. (2011) Schistosomicidal activity of the essential oil of *Ageratum conyzoides* L. (Asteraceae) against adult *Schistosoma mansoni* worms. *Mol Basel Switz* 16: 762–773. doi:10.3390/molecules16010762.
53. Abdelkader MSA, Lockwood GB (2011) Volatile oils from the plant and hairy root cultures of *Ageratum conyzoides* L. *Nat Prod Res* 25: 909–917. doi:10.1080/14786419.2010.531724.
54. Da Cruz Francisco J, Järvenpää EP, Huopalahti R, Sivik B (2001) Comparison of eucalyptus *camaldulensis* Dehn. oils from Mozambique as obtained by hydrodistillation and supercritical carbon dioxide extraction. *J Agric Food Chem* 49: 2339–2342.
55. Herzi N, Bouajila J, Camy S, Cazaux S, Romdhane M, et al. (2013) Comparison between supercritical CO₂ extraction and hydrodistillation for two species of eucalyptus: yield, chemical composition, and antioxidant activity. *J Food Sci* 78: C667–672. doi:10.1111/1750-3841.12113.
56. Soares DG, Andreazza AC, Salvador M (2003) Sequestering ability of butylated hydroxytoluene, propyl gallate, resveratrol, and vitamins C and E against ABTS, DPPH, and hydroxyl free radicals in chemical and biological systems. *J Agric Food Chem* 51: 1077–1080. doi:10.1021/jf020864z.
57. Yu L, Haley S, Perret J, Harris M, Wilson J, et al. (2002) Free Radical Scavenging Properties of Wheat Extracts. *J Agric Food Chem* 50: 1619–1624. doi:10.1021/jf010964p.
58. Del Castillo MD, Ames JM, Gordon MH (2002) Effect of roasting on the antioxidant activity of coffee brews. *J Agric Food Chem* 50: 3698–3703.
59. Wang SY, Jiao H (2000) Scavenging capacity of berry crops on superoxide radicals, hydrogen peroxide, hydroxyl radicals, and singlet oxygen. *J Agric Food Chem* 48: 5677–5684.
60. Bicas JL, Neri-Numa IA, Ruiz ALTG, De Carvalho JE, Pastore GM (2011) Evaluation of the antioxidant and antiproliferative potential of bioflavors. *Food Chem Toxicol Int J Publ Br Ind Biol Res Assoc* 49: 1610–1615. doi:10.1016/j.fct.2011.04.012.
61. Miguel MG (2010) Antioxidant activity of medicinal and aromatic plants. A review. *Flavour Fragr J* 25: 291–312. doi:10.1002/ffj.1961.
62. Dar MY, Shah WA, Rather MA, Qurishi Y, Hamid A, et al. (2011) Chemical composition, in vitro cytotoxic and antioxidant activities of the essential oil and major constituents of *Cymbopogon jawarancusa* (Kashmir). *Food Chem* 129: 1606–1611. doi:10.1016/j.foodchem.2011.06.016.
63. Cengiz S, Cavas L, Yurdakoc K, Pohnert G (2011) The sesquiterpene caulerpenyne from *Caulerpa* spp. is a lipoxygenase inhibitor. *Mar Biotechnol N Y N* 13: 321–326. doi:10.1007/s10126-010-9303-1.
64. Samuelsson B, Dahlén SE, Lindgren JA, Rouzer CA, Serhan CN (1987) Leukotrienes and lipoxins: structures, biosynthesis, and biological effects. *Science* 237: 1171–1176.
65. Pidgeon GP, Kandouz M, Meram A, Honn KV (2002) Mechanisms controlling cell cycle arrest and induction of apoptosis after 12-lipoxygenase inhibition in prostate cancer cells. *Cancer Res* 62: 2721–2727.
66. Gupta S, Srivastava M, Ahmad N, Sakamoto K, Bostwick DG, et al. (2001) Lipoxygenase-5 is overexpressed in prostate adenocarcinoma. *Cancer* 91: 737–743.
67. Gould MN (1997) Cancer chemoprevention and therapy by monoterpenes. *Environ Health Perspect* 105: 977–979.
68. Garcia DG, Amorim LMF, de Castro Faria MV, Freire AS, Santelli RE, et al. (2010) The anticancer drug perillyl alcohol is a Na/K-ATPase inhibitor. *Mol Cell Biochem* 345: 29–34. doi:10.1007/s11010-010-0556-9.
69. Klaunig JE, Xu Y, Isenberg JS, Bachowski S, Kolaja KL, et al. (1998) The role of oxidative stress in chemical carcinogenesis. *Environ Health Perspect* 106: 289–295.
70. Greten FR, Eckmann L, Greten TF, Park JM, Li Z-W, et al. (2004) IKK β links inflammation and tumorigenesis in a mouse model of colitis-associated cancer. *Cell* 118: 285–296. doi:10.1016/j.cell.2004.07.013.
71. Murata S, Shiragami R, Kosugi C, Tezuka T, Yamazaki M, et al. (2013) Antitumor effect of 1, 8-cineole against colon cancer. *Oncol Rep* 30: 2647–2652. doi:10.3892/or.2013.2763.
72. Sims JT, Ganguly SS, Bennett H, Friend JW, Tepe J, et al. (2013) Imatinib Reverses Doxorubicin Resistance by Affecting Activation of STAT3-Dependent NF- κ B and HSP27/p38/AKT Pathways and by Inhibiting ABCB1. *PLoS ONE* 8: e55509. doi:10.1371/journal.pone.0055509.

Review Article

Anticancer activity of essential oils and their chemical components - a review

Bagora Bayala^{1,4,5,6,7}, Imaël HN Bassole³, Riccardo Scifo^{4,5,6,7}, Charlemagne Gnoula^{1,8}, Laurent Morel^{4,5,6,7}, Jean-Marc A Lobaccaro^{4,5,6,7}, Jacques Simpore^{1,2}

¹Centre de Recherche Biomoléculaire Pietro Annigoni, Saint Camille-CERBA/LABIOGENE-Ouagadougou, Université de Ouagadougou, 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso; ²Centre Médical Saint Camille de Ouagadougou, Ouagadougou, Burkina Faso; ³Laboratoire de biologie et écologie végétales, Unité de formation et de recherche en sciences de la vie et de la terre, Université de Ouagadougou, 03 BP 7021 Ouagadougou 03 Burkina Faso; ⁴Clermont Université, Université Blaise Pascal, Génétique Reproduction et Développement, F-63000 Clermont-Ferrand, France; ⁵CNRS, UMR 6293, GReD, F-63177 Aubière, France; ⁶INSERM, UMR 1103, GReD, F-63177 Aubière, France; ⁷Centre de Recherche en Nutrition Humaine d'Auvergne, F-63000 Clermont-Ferrand, France; ⁸Laboratoire de Pharmacologie, de Toxicologie et de Chimie Thérapeutique, UFR/SDS, Université de Ouagadougou, 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso

Received June 16, 2014; Accepted September 20, 2014; Epub November 19, 2014; Published November 30, 2014

Abstract: Essential oils are widely used in pharmaceutical, sanitary, cosmetic, agriculture and food industries for their bactericidal, virucidal, fungicidal, antiparasitical and insecticidal properties. Their anticancer activity is well documented. Over a hundred essential oils from more than twenty plant families have been tested on more than twenty types of cancers in last past ten years. This review is focused on the activity of essential oils and their components on various types of cancers. For some of them the mechanisms involved in their anticancer activities have been carried out.

Keywords: Essential oils, anticancer activity, chemical composition

Introduction

Recognized since ancient times for their medicinal value, but often considered as a relic of medieval medical practice by representatives of modern medicine, essential oils (EOs) are currently receiving therapeutic interest fully renewed. Thus, during recent years, plant EOs have come more into the focus of phytomedicine [1, 2]. Their widespread use has raised the interest of scientists in basic research of EOs. Especially, anti-microbial and anti-oxidant activities as well as potential anti-cancer activity have been investigated in recent years [3, 4].

Cancer is the second largest single cause of death claiming over six million lives every year worldwide [5]. There has been a recent upsurge in the use of natural products to supersede cur-

rent treatment in patients that develop multi-drug resistance. Scientific studies of plants used in various types of ethnic medicine has led to the discovery of many valuable drugs, including taxol, camptothecin, vincristine and vinblastine [6, 7]. Many studies pointed out anticancer properties of other plants [8-11]. Over five hundred papers have been published on anticancer activity of EOs. The first publications on the anticancer activity of essential oils dated to 1960s. So far, the effects of EOs have been investigated on glioblastoma, melanoma, leukemia and oral cancers, as well as on bone, breast, cervix, colon, kidney, liver, lung, ovary, pancreas, prostate, and uterus cancers.

The aim of this review is to state the work carried out on the anticancer properties of EOs, their mode of action and the types of cancers targeted.

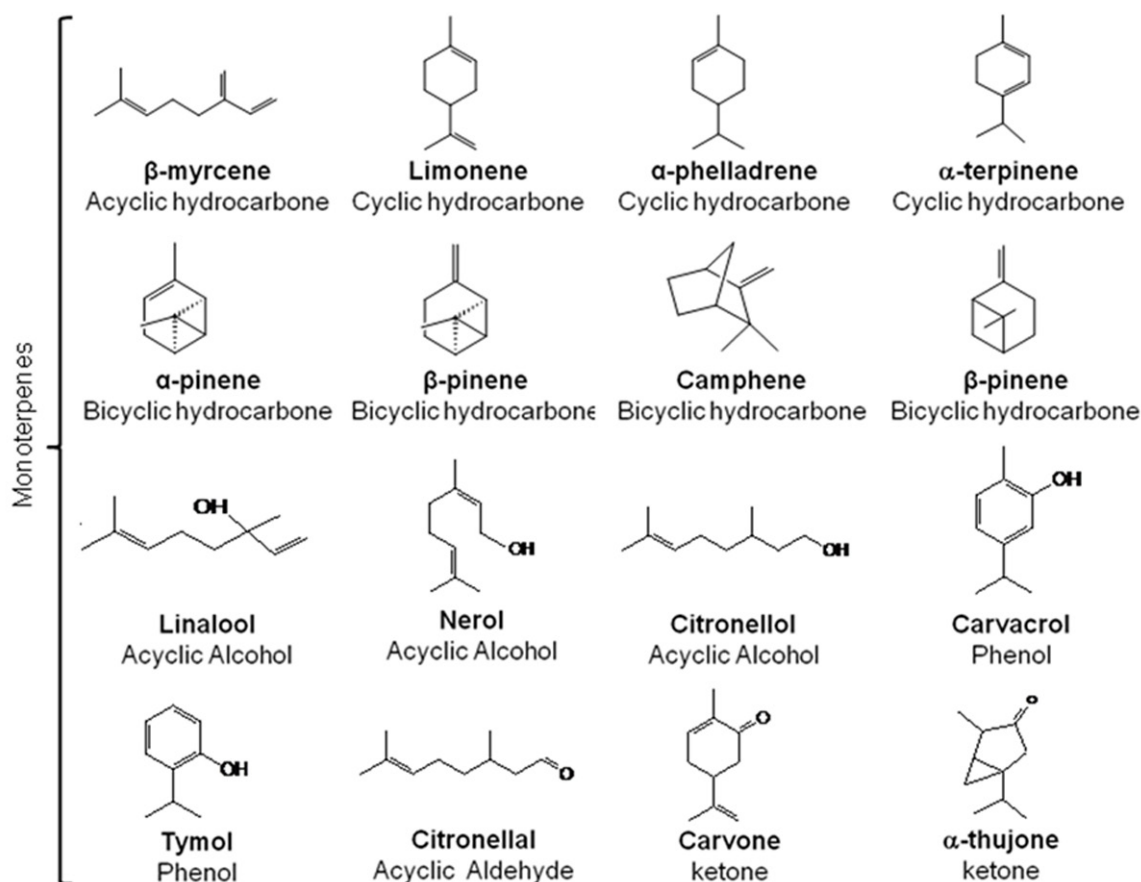


Figure 1. Examples of some monoterpenes compounds found in essential oils of plants.

Essential oils, a mix of complex molecules

EOs are natural, complexe, volatile, and odorous molecules synthesized by the secretory cells of aromatic plants [12]. Also known as volatile oils, EO could be considered as a generic term for the liquid and highly volatile components of plants, with a strong and characteristic odor. Altogether EOs are the concentration of hydrophobic liquid containing multiple volatile aroma compounds found in glands located in various parts of the aromatic plants: leaves, flowers, fruit, seeds, barks and roots.

Even though various methods could be used for their extraction, hydrodistillation remains the most used extraction method to obtain EOs, especially for commercial and medicinal purposes [13]. EOs can also be obtained by cold [14], liquid carbon dioxide at low temperature and high pressure, or ultrasound-assisted extraction or microwave [15]. Usually color less or pale yellow, EOs are volatile, flammable and odorous, and their density is generally less than 1 [16], except for cinnamon, cloves and

sassafras. Insoluble in water and soluble in alcohols, oils and petrolatum, which explains the term “oil”, they could be rapidly oxidized and isomerized by light [16].

Even though over 300 different compounds could be identified, three main groups of compounds have been described [17]. While the main group is composed of terpenes and terpenoids, the others include aromatic (phenolic) components, and in a lower extent aliphatic (alkanes and alkenes) compounds are generally in trace. All compounds are characterized by a low molecular weight [18].

Terpenes and terpenoids

About 30 000 terpenes have been described in the literature [19, 20]. Some of the most common have been represented in **Figures 1, 2**. Their basic structure follows a general principle: 2-methylbutane, also refered as isoprene residues build up the carbon skeleton of terpenes (C_5)_n, as described by Ruzicka [21]. They are subdivided according to the number of isoprene

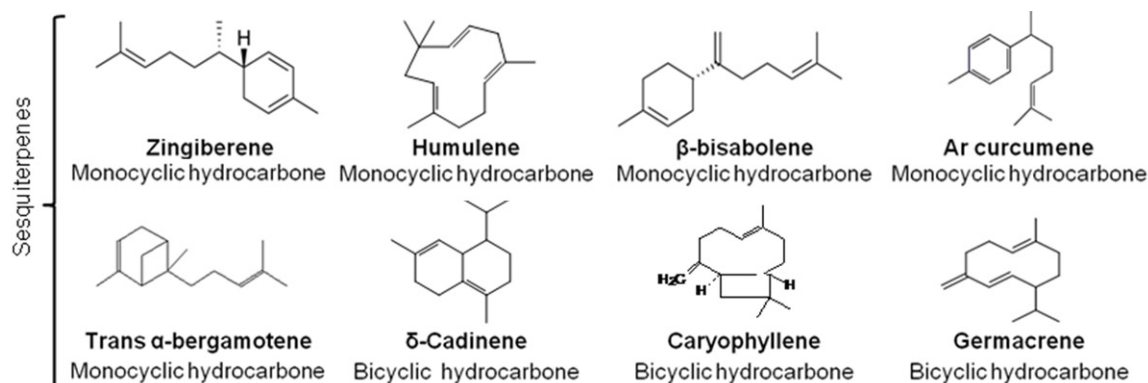


Figure 2. Examples of some sesquiterpenes compounds found in essential oils of plants.

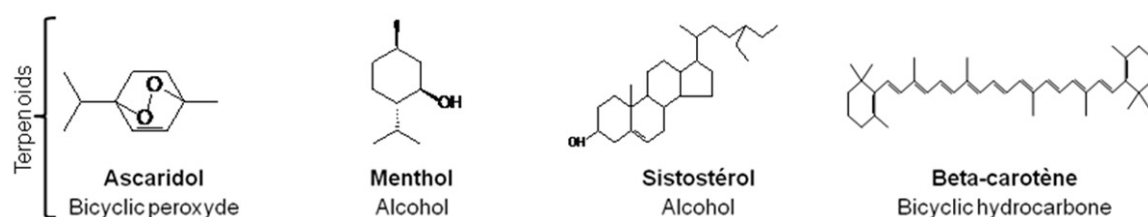


Figure 3. Examples of some terpenoids compounds found in essential oils of plants.

units in monoterpenes ($C_{10}H_{16}$), sesquiterpenes ($C_{15}H_{24}$), diterpenes ($C_{20}H_{32}$) and tetraterpenes, which contain eight units of isoprene such as carotenoids [22]. Terpenoids (**Figure 3**) are terpenes-derived compounds with one or more chemical functional groups (alcohol, aldehyde, ketone, acid...).

Aromatic compounds

Aromatic compounds (**Figure 4**) are phenyl propane derivatives. They are less abundant than terpenoids. Two classes of aromatic compounds can be distinguished: the nuclear substituted compounds and derivatives of benzene in which the substituent is directly attached to the benzene ring; the side chain substituted compounds.

Plant essential composition varies according to its environmental and living conditions

According to environmental and living conditions, the same species may show intraspecific chemical differences in its EO compositions [23, 24]. These intraspecific differences are defined as chemotypes.

Effects of EOs on various types of cancer

Most of EOs have been first identified and used for the treatment of inflammatory and oxidative

diseases. It appeared that these EOs could also have anticancer effects as there is a relationship between the production of reactive oxygen species to the origin of oxidation and inflammation that can lead to cancer [25]. Initial experiments assumed that oxidative stress could act as a DNA-damaging agent, effectively increasing the mutation rate within cells and thus promoting oncogenic transformation. Besides, reactive oxygen species could also specifically activate signaling pathways and thus contribute to tumor development through the regulation of cellular proliferation, angiogenesis, and metastasis [26]. Hence chronic inflammation has been linked to various steps involved in carcinogenesis, such as cellular transformation, promotion, survival, proliferation, invasion, angiogenesis, and metastasis [27]. Several studies have thus shown that EOs and their components therein could be active against various cancer cells (**Table 1**).

Prostate cancer

EO of *Hypericum hircinum* L. subsp. *Majus* revealed antiproliferative activity on human prostatic adenocarcinoma (PC3) [28]. Jacaric acid and four of its octadecatrienoic geoisomers selectively induced apoptosis in hormone-dependent (LNCaP) and -independent (PC-3) human prostate cancer cells, whilst not

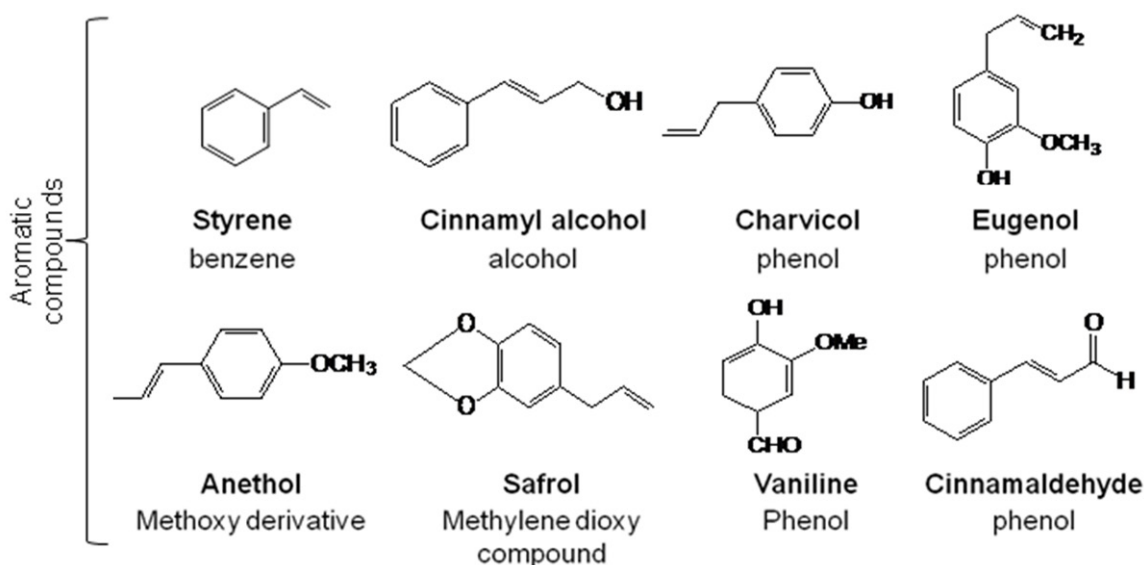


Figure 4. Examples of some aromatic compounds found in essential oils of plants.

affecting the viability of normal human prostate epithelial cells (RWPE-1) [29]. *Pinus wallichiana* EO showed significant anti-proliferative activity on prostate cancer cells [30]. *Solanum erianthum* leaf volatile oil demonstrated potent inhibitory activity against PC-3 cells [31]. *Thymus vulgaris* L. EO exhibited the strongest cytotoxicity towards three human cancer cells. Its half inhibitory concentration (IC_{50}) value on PC-3 tumor cell line was 0.010% (v/v) [32]. EO of *Mentha arvensis* showed cytotoxic activity on LNCaP cells [33]. Oxidative stress results from an imbalance in the production of reactive oxygen species (ROS) and cell own antioxidant defenses that in part leads to numerous carcinogenesis. Kim et al. [34] have shown that saponins contained in EO of ginger reduces the incidence of prostate cancer by exerting anti-mutagenic activity and also inhibits tumor metastasis. *Guatteria pogonopus* leaves showed significant *in vitro* and *in vivo* antitumor activity on PC-3M metastatic prostate carcinoma [35]. EOs from *Ageratum conyzoides* Linnæus and *Lippia multiflora* Moldenk were the most active on LNCaP and PC-3 cell lines [36].

Glioblastoma

EO of *Hypericum hircinum* had antiproliferative activity on human glioblastoma tumor cells T98G [28]. It increases cytosolic Ca^{2+} concentrations and alters the viability of human glioblastoma cells by inducing apoptosis [37]. *Zanthoxylum tinguassuiba* EO contains α -

bisabolol, a known antglioma sesquiterpene, among other potentially active substances [38]. It was observed that thermal-oxidative stability of the liposomal *Z. tinguassuiba* EO was enhanced when compared to its free form. The liposomal form also presented significant apoptotic-inducing activity for glioma cells. These results show that this EO could be a potential alternative for glioblastoma treatment [38]. The results of the studies whose the objective was to examine the augmentation of the therapeutic activity in human glioblastoma cells with combination of paclitaxel (PTX) and the apoptotic signaling molecule, C_6 -ceramide (CER), show that PTX and CER can be used together to enhance therapeutic activity, especially in aggressive tumor models such as glioblastoma [39]. A recent study has showed that SF-767 glioblastoma cell line was the most sensitive to *Ocimum basilicum* Linnæus and *Lippia multiflora* Moldenk EOs, while essential oil of *Ageratum conyzoides* Linnæus showed the highest antitumoral activity on SF-763 cells [36].

Melanoma

EOs of *Afrostryax lepidophyllus* and *Scorodophloeus zenkeri* exhibited a strong growth-inhibitory effect on human malignant melanoma A375 cell line [10]. The EO obtained from hydrodistillation of flowering aerial parts of *Athanasia brownii* also showed significant effect on A375 cells [40]. EOs from the leaves

Anticancer activity of essential oils

Table 1. Summary of literature review (2004-2014)

Cancer	Essential oil or compound tested	Plant family	Cell line used	Reference
Brain	<i>Croton regelianus</i> and ascaridole compound	Euphorbiaceae	SF-295 (IC ₅₀ = 48.0 µg/ml and 8.4 µg/ml respectively)	[97]
Brain (glioblastoma)	<i>Afrostryax lepidophyllus</i> and <i>Scorodophloeus zenkeri</i>	Huaceae and Caesalpiniaceae (Fabaceae)	T98G (IC ₅₀ = 15.4 µg/ml and 12.4 µg/ml respectively)	[10]
Brain (glioblastoma)	α-Bisabolol	---	T67 and C6: 50% of cell death after 24 h treatment with 2.5 µM	[94]
Brain (glioblastoma)	<i>Casearia sylvestris</i>	Salicaceae	U87 (IC ₅₀ = 27.1 µg/ml)	[42]
Brain (glioblastoma)	<i>O. basilicum</i> , <i>L. multiflora</i> , <i>A. conizoides</i> , and <i>Z. officinale</i>	Lamiaceae, Verbenaceae, Astera-ceae and Zingiberaceae respectively	SF-767 (0.30, 0.31, 0.43 and 0.48 mg/ml respectively) and SF-763 (0.43, 0.47, 0.38 and 0.44 respectively)	[36]
Brain (glioma)	<i>Malus domestica</i>	Rosaceae	C-6 (1 mg/ml = 58.5% inhibition)	[51]
Breast	<i>Afrostryax lepidophyllus</i> and <i>Scorodophloeus zenkeri</i>	Huaceae and Caesalpiniaceae (Fabaceae)	MDA-MB 231 (IC ₅₀ = 10.9 µg/ml and 8.0 µg/ml, respectively)	[10]
Breast	<i>Satureja khuzistanica</i>	Lamiaceae	MCF7 (IC ₅₀ = 125 µg/ml)	[8]
Breast	<i>Casearia sylvestris</i>	Salicaceae	MCF-7 (IC ₅₀ = 42.2 µg/ml)	[42]
Breast	<i>Cedrelopsis grevei</i>	Rutaceae	MCF-7 (IC ₅₀ = 21.5 mg/L)	[43]
Breast	<i>Solanium spirale</i> Roxb.	Solanaceae	MCF-7 (IC ₅₀ = 19.69 µg/ml)	[44]
Breast	carbazole alkaloids	---	MCF-7 (IC ₅₀ = 2.12 µg/ml)	[98]
Breast	<i>Helichrysum gymnocephalum</i>	Asteraceae	MCF-7 (IC ₅₀ = 16 µg/ml)	[99]
Breast	<i>Pituranthos tortuosus</i> (Desf.)	Apiaceae	MCF-7 (IC ₅₀ = 3.38 µg/ml)	[54]
Breast	<i>Melaleuca armillaris</i>	Myrtaceae	MCF-7 (IC ₅₀ = 12 µg/ml)	[100]
Breast	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Lamiaceae	MCF-7 (IC ₅₀ = 190.1 µg/ml)	[101]
Breast	<i>Schinus molle</i> L. and <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi	Anacardiaceae	MCF-7 (IC ₅₀ = 54 mg/ml and 47 mg/ml, respectively)	[102]
Breast	<i>Erigeron acris</i> L.	Asteraceae	MCF-7 (IC ₅₀ = 14.5 µg/ml)	[103]
Breast	<i>Aquilaria sinensis</i> (Lour.) Gilg.	Thymelaeaceae	MCF-7 (99.6% inhibition at 500 µg/ml)	[104]
Breast	<i>Thymus vulgaris</i> L.	Lamiaceae	MCF-7 (IC ₅₀ = 0.030% (v/v))	[32]
Breast	<i>Aristolochia mollissima</i> rhizome and the aerial part	Aristolochiaceae	MCF-7 (IC ₅₀ = 20.6 and 21.1 µg/ml respectively) and MDA-MB-435S (IC ₅₀ = 22.1 and 20.3 µg/ml respectively)	[59]
Breast	<i>Schefflera heptaphylla</i> (L.)	Araliaceae	MCF-7 (IC ₅₀ = 7.3 µg/ml)	[72]
Breast	β-caryophyllene oxide	---	MDA-MB-231	[78]
Breast (mouse)	<i>Angelica archangelica</i> fruits from separate locations A, B and C	Apiaceae	CrI (IC ₅₀ = 47.7; 91.8 and 63.6 µg/ml respectively)	[71]
Cervix	<i>Liquidambar styraciflua</i> leaf and stem	Hamamelidaceae	HeLa (IC ₅₀ = 136.27 and 119.78 µg/ml respectively)	[56]
Cervix	<i>Ocimum basilicum</i> Linn.	Lamiaceae	HeLa (IC ₅₀ = 90.5 µg/ml)	[105]
Cervix	carbazole alkaloids	---	HeLa (IC ₅₀ = 1.98 µg/ml)	[98]
Cervix	<i>Aristolochia mollissima</i> rhizome and the aerial part	Aristolochiaceae	HeLa (IC ₅₀ = 38.6 and 50.6 µg/ml respectively)	[59]
Ovary	D-Limonene	---	V79	[77]
Ovary	<i>Malus domestica</i>	Rosaceae	CHOK1 (1000 µg/ml = 68.3% inhibition)	[51]
Colon	<i>Kadsura longipedunculata</i>	Schisandraceae	SW-480 (IC ₅₀ = 136.62 µg/ml)	[70]
Colon	<i>Comptonia peregrina</i> (L.)	Myricaceae	DLD-1 (IC ₅₀ = 46 µg/ml)	[106]
Colon	<i>Satureja khuzistanica</i>	Lamiaceae	SW480 (IC ₅₀ = 62.5 µg/ml)	[8]

Anticancer activity of essential oils

Colon	1,8 cineol	—	HCT116 and RKO	[9]
Colon	<i>Artemisia indica</i>	Asteraceae	Caco-2 (IC ₅₀ = 19.5 µg/ml)	[11]
Colon	<i>Pituranthos tortuosus</i> (Desf.)	Apiaceae	HCT116 (IC ₅₀ = 1.34 µg/ml)	[54]
Colon	<i>Croton regelianus</i> and ascaridole compound	Euphorbiaceae	HCT-8 (IC ₅₀ = 40.0 µg/ml and 18.4 µg/ml respectively)	[97]
Colon	<i>Cymbopogon flexuosus</i>	Poaceae	502713 (IC ₅₀ = 4.2 µg/ml)	[107]
Colon	Eugenol	—	SNU-C5 (IC ₅₀ = 129.4 µM)	[89]
Colon	Geraniol and 5-fluorouracil	—	Caco-2 (IC ₅₀ = 250 and 0.4 µM respectively) and SW620 (IC ₅₀ = 330 and 2.0 µM respectively)	[96]
Colon	<i>Afrostryrax lepidophyllus</i> and <i>Scorodophloeus zenkeri</i>	Huaceae and Caesalpiniaceae (Fabaceae)	HCT116 (IC ₅₀ = 12.4 µg/ml and 8.5 µg/ml respectively)	[10]
Colon	<i>Athanasia brownii</i> Hochr.	Asteraceae	HCT 116 (IC ₅₀ = 29.53 µg/ml)	[40]
Kidney	<i>Platycladus orientalis</i> and <i>Prangos asperula</i>	Cupressaceae and Apiaceae	ACHN (IC ₅₀ = 121.93 and 139.17 µg/ml respectively)	[5]
Kidney	<i>Laurus nobilis</i>	Lauraceae	ACHN (IC ₅₀ = 78.24 µg/ml)	[67]
Kidney	<i>Aristolochia mollissima</i> rhizome and the aerial part	Aristolochiaceae	ACHN (IC ₅₀ = 22.3 and 33.8 µg/ml respectively)	[59]
Kidney	<i>Satureja khuzistanica</i>	Lamiaceae	Vero (IC ₅₀ = 31.26 µg/ml)	[8]
Leukaemia	<i>Cymbopogon flexuosus</i> and isointermedeol	Poaceae	HL-60 (IC ₅₀ = 30 µg/ml and 20 µg/ml, respectively)	[80]
Leukaemia	<i>Casearia sylvestris</i>	Salicaceae	HL-60 (IC ₅₀ = 29 µg/ml)	[42]
Leukaemia	<i>Artemisia indica</i>	Asteraceae	THP-1 (IC ₅₀ = 10 µg/ml)	[11]
Leukaemia	<i>Malus domestica</i>	Rosaceae	THP-1 (1000 µg/ml = 68.3% inhibition)	[51]
Leukaemia	carbazole alkaloids	—	P388 (IC ₅₀ = 5.00 µg/ml)	[98]
Leukaemia	<i>Croton regelianus</i> and ascaridole compound	Euphorbiaceae	HL-60 (IC ₅₀ = 22.2 µg/ml and 6.32 µg/ml respectively)	[97]
Leukaemia (Promyelocytic)	Eugenol	—	HL-60 (IC ₅₀ = 23.7 µM)	[89]
Leukaemia (mouse)	<i>Ocimum basilicum</i> L	Lamiaceae	P388 (IC ₅₀ = 0.0362 mg/ml)	[108]
Liver	<i>Schefflera heptaphylla</i> (L.) Frodin	Araliaceae	HepG2 (IC ₅₀ = 6.9 µg/ml)	[72]
Liver	<i>Curcuma wenyujin</i>	Zingiberaceae	HepG2 (IC ₅₀ = 70 µg/ml)	[109]
Liver	<i>Curcuma zedoaria</i> (Berg.) Rosc.	Zingiberaceae	SMMC-7721 (IC ₅₀ = 30.7 µg/ml)	[110]
Liver	<i>Patrinia scabra</i> Bunge	Caprifoliaceae	Bel-7402 (IC ₅₀ = 16 µg/ml)	[52]
Liver	Eugenol	—	HepG2 (IC ₅₀ = 118.6 µM) and U-937 (IC ₅₀ = 39.4 µM)	[89]
Liver	<i>Thymus citriodorus</i>	Lamiaceae	HepG2 (IC ₅₀ = 0.34% v/v)	[53]
Liver	<i>Artemisia indica</i>	Asteraceae	HEP-2 (IC ₅₀ = 15.5 µg/ml)	[11]
Liver	<i>Pituranthos tortuosus</i> (Desf.)	Apiaceae	HEPG2 (IC ₅₀ = 1.67 µg/ml)	[54]
Liver	<i>Kadsura longipedunculata</i>	Schisandraceae	HepG2 (IC ₅₀ = 136.96 µg/ml)	[70]
Liver	<i>Aristolochia mollissima</i> rhizome and the aerial part	Aristolochiaceae	Bel-7402 (IC ₅₀ = 33.1 and 49.5 µg/ml respectively) and Hep G2 (IC ₅₀ = 33.2 and 40.7 µg/ml respectively)	[59]
Lung	<i>Artemisia indica</i>	Asteraceae	A-549 (IC ₅₀ = 25 µg/ml)	[11]
Lung	<i>Tridax procumbens</i>	Asteraceae	B16F-10 <i>in vitro</i> (70.2% of inhibition for 50 µg) and <i>in vivo</i>	[61]
Lung (small cell)	<i>Solanum spirale</i> Roxb.	Solanaceae	NCI-H187 (IC ₅₀ = 24.02 µg/ml)	[44]
Lung	<i>Malus domestica</i>	Rosaceae	A549 (1000 µg/ml = 60.7% inhibition)	[51]
Lung	<i>Thymus vulgaris</i> L.	Lamiaceae	A549 (IC ₅₀ = 0.011% (v/v))	[32]
Lung	<i>Comptonia peregrina</i> (L.)	Myricaceae	A-549 (IC ₅₀ = 66 µg/ml)	[106]
Lung	<i>Xylopi frutescens</i> Aubl.	Annonaceae	NCI-H358M (IC ₅₀ = 24.6 µg/ml)	[60]

Anticancer activity of essential oils

Mouth epidermal carcinoma	<i>Psidium guajava</i> L	Myrtaceae	KB (IC ₅₀ = 0.0379 mg/ml)	[108]
Multiple myeloma	β-caryophyllene oxide	—	U266 and MM1.S	[78]
Nasopharyngeal cancer	<i>Centipeda minima</i>	Asteraceae	CNE (IC ₅₀ = 5.2 µg/ml after 72 hrs)	[111]
Neuroblastoma	<i>Cymbopogon flexuosus</i>	Poaceae	IMR-32 (IC ₅₀ = 4.7 µg/ml)	[107]
Oral cancer	<i>Solanum spirale</i> Roxb.	Solanaceae	KB (IC ₅₀ = 26.42 µg/ml)	[44]
Oral cancer	<i>Salvia officinalis</i>	Lamiaceae	UMSSC1 (IC ₅₀ = 135 µg/ml)	[112]
Oral cancer	<i>Levisticum officinale</i>	Apiaceae	HNSCC (IC ₅₀ = 292.6 µg/ml)	[65]
Ovary	<i>Patrinia scabra</i> Bunge	Caprifoliaceae	HO-8910 (IC ₅₀ = 21 µg/ml)	[52]
Ovary	<i>Cymbopogon citratus</i>	Poaceae	Chinese Hamster Ovary (CHO)	[50]
Pancreas	<i>Angelica archangelica</i> fruits from separate locations A, B and C	Apiaceae	PANC-1 (IC ₅₀ = 58.4; 108.3 and 48.6 µg/ml respectively)	[71]
Pancreas	<i>Kadsura longipedunculata</i>	Schisandraceae	MIA PaCa-2 (IC ₅₀ = 133.53 µg/ml)	[70]
Prostate	<i>Xylopi frutescens</i> Aubl	Annonaceae	PC-3M (IC ₅₀ = 40 µg/ml) and <i>in vivo</i> at 37.5% of inhibition	[60]
Prostate	<i>Nagami kumquats</i>	Rutaceae	LNCaP (200 ppm = 55, 61 and 63.4 % inhibition at 24, 48, 72 h	[113]
Prostate	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Lamiaceae	LNCaP (IC ₅₀ = 180.9 µg/ml)	[101]
Prostate	α-humulene	—	LNCaP (IC ₅₀ = 11.24 µg/ml)	[67]
Prostate	β-caryophyllene oxide	—	DU145	[78]
Prostate	<i>Thymus vulgaris</i> L.	Lamiaceae	PC-3 (IC ₅₀ = 0.010% (v/v))	[32]
Prostate	<i>O. basilicum</i> , <i>L. multiflora</i> , <i>A. conizoides</i> , and <i>Z. officinale</i>	Lamiaceae, Verbenaceae, Asteraceae and Zingiberaceae respectively	LNCaP (0.46, 0.58, 0.35 and 0.38 mg/ml respectively) and PC3 (0.45, 0.30, 0.49 and 0.42 respectively)	[36]
Skin (melanoma)	<i>Athanasia brownii</i> Hochr.	Asteraceae	A375 (IC ₅₀ = 19.85 µg/ml)	[40]
Skin (melanoma)	<i>Afrostryx lepidophyllus</i> and <i>Scorodophloeus zenkeri</i>	Huaceae and Caesalpiniaceae (Fabaceae)	A375 (IC ₅₀ = 20.6 µg/ml and 17.7 µg/ml respectively)	[10]
Skin (melanoma)	<i>Casearia sylvestris</i>	Salicaceae	A2058 (IC ₅₀ = 41.1 µg/ml)	[42]
Skin (melanoma)	<i>Curcuma zedoaria</i> (Berg.) Rosc.	Zingiberaceae	B16BL6 (IC ₅₀ = 41.8 µg/ml)	[110]
Skin (melanoma)	<i>Croton regelianus</i> and ascaridole compound	Euphorbiaceae	MDA-MB-435 (IC ₅₀ = 47.3 µg/ml and 10.5 µg/ml respectively)	[97]
Skin (melanoma)	<i>Schefflera heptaphylla</i> (L.)	Araliaceae	A375 (IC ₅₀ = 7.5 µg/ml)	[72]
Skin (amelanotic)	<i>Cupressus sempervirens</i> ssp. <i>pyramidalis</i>	Cupressaceae	C32 (IC ₅₀ = 104.90 µg/ml)	[5]
Skin (amelanotic)	<i>Laurus nobilis</i>	Lauraceae	C32 (IC ₅₀ = 75.45 µg/ml)	[67]
Stomach	<i>Nigella sativa</i> seeds	Ranunculaceae	SCL, SCL-6, SCL-37'6, NUGC-4 and Kato-3 (IC ₅₀ = 155.02; 185.77; 120.40; 384.53 and 286.83 respectively)	[114]
Uterus	<i>Casearia sylvestris</i>	Salicaceae	Siha (IC ₅₀ = 23.9 µg/ml)	[42]

of *Neolitsea variabilissima* [41] and *Casearia sylvestris* [42] had cytotoxic activity against human melanoma cancer.

Breast cancer

EOs of *A. lepidophyllus* and *S. zenkeri* inhibited the growth of human breast adenocarcinoma MDA-MB 231 cell line [10]; likewise, EOs extracted from leaves of *Satureja khuzistanica* Jamzad [8], *Casearia sylvestris* [42], *Cedrelopsis grevei* [43] and *Solanum spirale* Roxb [44] significantly reduced cell viability and/or increased cytotoxicity of MCF7 cells in a dose-dependent manner. Human breast cancer cell lines T47D, MCF7, MDA-MB-231 were sensitive to the treatment with *Boswellia sacra* EO with reduced cell viability and elevated cell death [45]. *S. erianthum* leaf volatile oil demonstrated potent inhibitory activity against human breast Hs 578T tumor cells [31].

Colon cancer

Geraniol, a monoterpene found in EOs of various fruits and herbs has been proposed to represent a new class of agents for cancer chemoprevention, as it has antiproliferative activity on Caco-2 colon cancer cells [46]. EOs of *A. lepidophyllus*, *S. zenkeri* [10] and *Athanasia brownii* exhibited a strong growth-inhibitory effect on human colon carcinoma HCT116 cell line [40]. EO isolated from the leaf of *Neolitsea variabilissima* exhibited cytotoxic activity against human colon cancer [41]. EO from *Satureja khuzistanica* significantly reduced cell viability of SW480 cell line in a dose-dependent manner [8]. Volatile oil was obtained from blood oranges showed pro-apoptotic and anti-angiogenesis potential on colon cancer cells [47]. EO of *Artemisia campestris* exhibited significant anti-tumor activity against the HT-29 cells of colon cancer deserve further research into the chemoprevention and treatment [48]. Thymoquinone inhibited the proliferation of a panel of human colon cancer cells (Caco-2, HCT-116, LoVo, DLD-1 and HT-29), without exhibiting cytotoxicity on normal human intestinal FHS-74Int cells [49].

Ovary cancer

EO of *Cymbopogon citratus* was toxic against Chinese Hamster Ovary cells [50]. *Guatteria*

pogonopus leaves EO showed significant *in vitro* and *in vivo* antitumor activity on ovarian adenocarcinoma OVCAR-8 [35]. The essential oil of leaves of *Malus domestica* at 1000 µg/ml has resulted 68.3% of inhibition of CHOK1 cells [51]. The volatile oil from the roots of *Patrinia scabra* Bunge showed the strongest inhibitory effect on human ovarian carcinoma cells HO-8910 [52].

Liver cancer

EOs from *Thymus citriodorus* [53], *Artemisia indica* [11] and *Pituranthos tortuosus* (Desf.) [54] leaves have strong toxic effects on liver cancer cells HepG2. Su et al. [41] showed that EO isolated from the leaf of *N. variabilissima* exhibited cytotoxic activity against human liver cancer. *Zanthoxylum schinifolium* essential oils induced apoptosis of human hepatoma HepG2 cell line is dependent of the production of ROS but not on caspase activation [55].

Uterus and cervix cancers

Leaves of *Casearia sylvestris* showed cytotoxic activity on uterus carcinoma Siha cell line [42]. The leaf and stem EOs of *Liquidambar styraciflua* L. induce low cytotoxic activity on cervix cancer cells HeLa [56]. An identical effect was observed with *Schinus terebinthifolius* Raddi [57]. Furanodiene, a sesquiterpene extracted from the essential oil of the rhizome of *Curcuma wenyujin*, inhibited the growth of uterine cervical (U14) tumors in mice [58]. The rhizome and the aerial part of *Aristolochia mollissima* has a significantly stronger cytotoxicity on human cervix carcinoma cell line HeLa [59].

Lung cancer

The *Xylopi frutescens* leaf EO of displayed *in vitro* and *in vivo* cytotoxicity on bronchoalveolar lung carcinoma cell line NCI-H358M [60]. *In vivo* activity was shown by EOs of *X. frutescens* [60], *Guatteria pogonopus* [35] and *Neolitsea variabilissima* [41]. Investigations showed significant effects of the EO of *Tridax procumbens* L in preventing lung metastasis by B16F-10 cell line in C57BL/6 mice [61]. EO from the aerial parts of *A. indica* had concentration dependent growth inhibition of A-549 cell line [11]. Vapor of volatile oil compounds obtained from *Litsea cubeba* seeds killed human NSCLC cells, A549, through the induction of apoptosis and cell

cycle arrest [62]. Vapor generated from the combined oils deactivated Akt, a key player in cancer cell survival and proliferation, and Mdm2, which induced overexpression of p53 which in turn upregulated p21 expression [62]. EO of *Solanum spirale* Roxb. leaves showed significant cytotoxicity against NCI-H187 cells [44].

Oral cancer

EO isolated from the leaf of *N. variabilissima* exhibited cytotoxic activity against human oral cancer [63]. EO of the leaves of *Solanum spirale* Roxb. showed significant cytotoxicity against KB cell line [44]. Treatment with *Pinus densiflora* leaf EO at 60 µg/ml strongly inhibited proliferation and survival of YD-8 oral squamous cell carcinoma by apoptosis [64]. Indeed, this treatment led to the activation of caspase-9, PARP cleavage, down-regulation of Bcl-2, and phosphorylation of ERK-1/2 and JNK-1/2 in YD-8 cells [64]. *Salvia officinalis* EO reduced UMSSC1 cell viability by regulating the aryl hydrocarbon receptor signaling, cell cycle (G1/S checkpoint) transition, and p53 signaling [65]. *Levisticum officinale* EO inhibits human HNSCC growth by modulating extracellular signal-regulated kinase 5 (ERK5), integrin-linked kinase (ILK), virus entry via endocytic pathways and p53 pathway [65].

Leukemia

Leaves of *N. variabilissima* [41] and *Casearia sylvestris* [42] showed cytotoxic activity on leukemia HL-60 cell line while EO from *A. indica* exhibited concentration dependent growth inhibition of THP-1 cell line [11]. *Juniperus excelsa* fruit essential oil as well as *Juniperus oxycedrus*, *Cedrus libani*, and *Pinus pinea* wood EOs showed cytotoxic activity against drug-sensitive CCRF-CEM and multidrug-resistant P-glycoprotein-expressing CEM/ADR5000 leukemia [66]. EO from *Malus domestica* leaves at 1000 µg/ml has resulted 65.7% of inhibition of human acute monocytic leukemia cell THP-1 [51].

Kidney cancer

Satureja khuzistanica significantly reduced cell viability of Vero cell line in a dose-dependent manner [8]. EO of *Platycladus orientalis*,

Prangos asperula [5] and *Sideritis perfoliata* [67] exerted cytotoxic activity on renal adenocarcinoma cell line ACHN. Rhizome and aerial parts of *Aristolochia mollissima* showed cytotoxicity activity on ACHN cells [59].

Bone cancer

Volatile oil from *Pyrolae herba* demonstrated potent antitumor activity against SW1353 cells in dose- and time-dependent manner. Furthermore, these EOs decreased the number of cells entering the S phase and caused a reduction in the expression of cyclin D1, cyclin-dependent kinase (CDK)4 and CDK6, whereas it caused an increase of the expression of p21 [68].

Pancreas cancer

Human pancreas cancer cells were sensitive to EO fractions prepared from *Boswellia* species gum resins treatment with suppressed cell viability and increased cell death. In fact, EO activates the caspase-dependent apoptotic pathway, induces a rapid and transient activation of Akt and Erk1/2, and suppresses levels of cyclin D1 cdk4 expression in cultured cancer cells [69]. EO from stem bark of *Kadsura longipedunculata* exhibited cytotoxic activity against MIA PaCa-2 cell line of human pancreas carcinoma [70]. EOs from *Angelica archangelica* fruits collected in Reykjavik, from various locations showed cytotoxic activity independent of the quantity of their main components on PANC-1 human pancreas cancer cells [71].

Skin cancer

EO of *Schefflera heptaphylla* (L.) Frodin and its major compound beta-pinene ((-)-beta-pinene and (+)-beta-pinene) showed significant antiproliferative activity against A375 cancer cell lines [72].

Mode of action

Due to their high heterogeneous compositions, it is difficult to define a unique mechanism of action for EOs. Indeed, a molecule could have an effect on one type of tumor and not on others. For example, Murata et al. [9] showed that 1,8-cineole/eucalyptol induces apoptosis of human colon cancer cells. Conversely, this molecule has no effect on prostate cancer and glioblastoma cell survival [36]. Moreover, depend-

ing on the enrichment of the active compounds, various mechanisms could be observed, such as an effect on the cell cycle, cell growth, and/or apoptosis.

Indeed, generally biological activity of an EO is related to its chemical composition, to the major functional groups of compounds (alcohols, phenols, terpene compounds and ketone). However the less present compounds could also be of importance as the various molecules could synergistically act with the major compounds [73]. For example the single exposure to limonene or linalyl acetate found enriched in bergamot (*Citrus bergamia* Risso et Poiteau) does not replicate the effect of bergamot EO on caspase-3 activation, PARP cleavage, DNA fragmentation, cell shrinkage, cytoskeletal alterations, together with necrotic and apoptotic cell death [74]. Despite that fact and for a didactic aspect, it has seemed interesting however to present the molecular effects of some example of isolated compounds from EOs.

Terpenes and terpenoids

Edris [75] reported that β -elemene, a sesquiterpene from *Nigella sativa*, could inhibit the growth of laryngeal cancer cells by activating caspase-3 cleavage and decreasing the accumulation of eukaryotic initiation factors eIF-4E and 4G, basic fibroblast growth factor (bFGF) and vascular epithelial growth factor (VEGF).

In ginger, gingerol down-regulates the antiapoptotic protein Bcl-2 and enhances the pro-apoptotic protein Bax, while gingerdione is an effective anti-tumor agent in human leukemia cells by inducing G1 arrest, through the down-regulation of cyclin D2, cyclin E and cdc25A and the up-regulation of CDK1 and p15. Gingerdione also decreases Bcl-2 accumulation and activates caspase-3 cleavage [76]. The monoterpene 1,8-cineole/eucalyptol induces specific apoptosis, and not necrosis, on human colon cancer cell lines HCT116 and RKO. The treatment with 1,8-cineole was associated with the inactivation of surviving, and Akt and activation of p38. These molecules induce the cleavage of PARP and caspase-3, finally causing apoptosis [9]. D-Limonene is toxic on V79 cells in a dose-dependent manner [77]. In fact, this drug has a direct effect on dividing cells, preventing assembly of mitotic spindle microtubules. This affects both chromosome segregation and cytokinesis, resulting in aneuploidy that in turn

can lead to cell death or genomic instability [77].

β -caryophyllene oxide, a sesquiterpene isolated primarily from the EOs of medicinal plants such as guava (*Psidium guajava*) and oregano (*Origanum vulgare* L.), suppresses constitutive STAT3 activation in multiple myeloma, breast and prostate cancer cell lines, with a significant dose- and time-dependent effects observed in multiple myeloma cells [78]. The suppression was mediated through the inhibition of activation of upstream kinases c-Src and JAK1/2. Indeed, β -caryophyllene oxide induces the expression of tyrosine phosphatase SHP-1 that correlates with the down-regulation of constitutive STAT3 activation [78].

Geraniol, present in the EOs of many aromatic plants, has *in vitro* and *in vivo* antitumor activity against several cell lines [79]. In fact, geraniol alters several lipid metabolic pathways of HepG2 cells such as the mevalonate pathway and the phosphatidylcholine biosynthesis, which results in cell growth inhibition, cell cycle arrest occurring at the G0/G1 interphase, and increased apoptosis [79].

Isointermideol, a major sesquiterpene found in EO extracted from *Cymbopogon flexuosus*, induces apoptosis in human leukaemia HL-60 cells [80]. Indeed, isointermideol activates apical death receptors TNFR1, DR4 and caspase-8 activity. Simultaneously, both increase the expression of mitochondrial cytochrome c protein with its concomitant release to cytosol leading to caspase-9 activation. Further, Bax translocation and decrease in nuclear NF-kappaB expression predict multi-target effects of isointermideol while both appeared to follow similar signaling apoptosis pathways [80].

Furanodiene, a sesquiterpene extracted from *Curcuma wenyujin*, enhances mitochondrial transmembrane depolarization, release of mitochondrial cytochrome c, activation of caspases-3 and cleavage of PARP [81]. Furanodiene mediated mitochondria-caspase apoptotic pathway also involves activation of p38 and inhibition of ERK mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling [81].

Collectively, thymol induces a cytosolic Ca^{2+} rise by inducing phospholipase C- and protein kinase C-dependent Ca^{2+} release from the endoplasmic reticulum and Ca^{2+} entry. Likewise

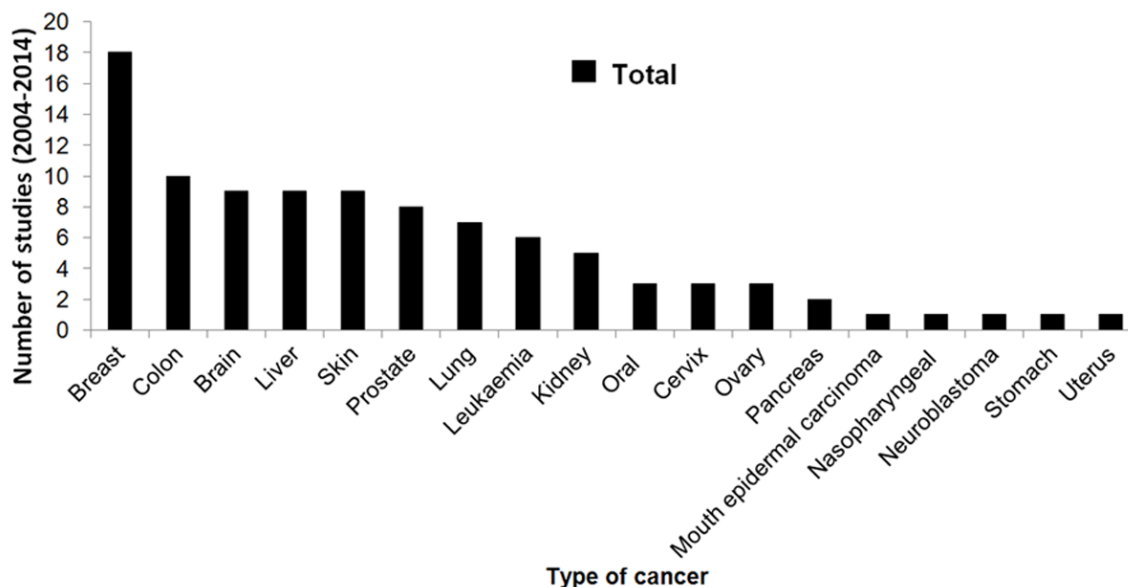


Figure 5. Total of studies with EOs and compounds from 2004 to 2014 on various types of cancer.

Liang and Lu [82] showed that carvacrol has the same effect on Ca^{2+} and cell viability as thymol, even though carvacrol effect could also involve ROS-mediated apoptosis.

Terpenoids thymoquinone, which is the major compound of black seed (*Nigella sativa*) oil, traditionally used in Mediterranean and arab medicine, possesses significant anticancer effects in various cancer models [83]. It was previously shown that thymoquinone induces apoptosis through p53-dependent pathways in human colon cancer cells and animal models [84, 85]. β -Elemene arrests the cell cycle and induces apoptosis of lung cancer cells [86].

Aromatic compounds

Carvacrol induces apoptosis and activation of ROS and caspase-3 [87]. Indeed this monoterpenoid raises intracellular concentration of Ca^{2+} by activating a PKC-sensitive, non store-operated Ca^{2+} channels. Carvacrol also induces ROS- and caspase-3-associated apoptosis of OC_2 human oral cancer cells [87].

Eugenol is an essential oil mainly found in buds and leaves of clove *Syzygium aromaticum* (L.) inhibits the cell proliferation and induces the apoptosis in human MCF-7 breast cancer cells [88]. This biological activity is correlated to its activity as an estrogen receptor antagonist. In this article, we present the construction and validation of structure-based virtual screening.

This biological property has been correlated to its activity as an estrogen receptor antagonist [88]. Found also in EO of *Eugenia caryophyllata*, eugenol induces apoptosis of human promyelocytic leukemia HL-60 cells [89]. This phenomenon has been explained by the translocation of Bax from the cytosol to the mitochondria, the reduction of Bcl-2 protein level and cytochrome c release into cytosol, thus leading to sequential activation of caspase-9 and caspase-3 [89].

Indolizine derivatives could also be anticancer agents [90]. For example, 4-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-phenylpyrido[2,3-b]indolizine-10-carbonitrile has a strong cytotoxicity on all tested colorectal cancer cell lines, and this at concentrations that have no effect on fibroblasts [90]. Cell-cycle analysis indicated that pyrido [2,3-b] indolizines could affect cell-cycle progression by accumulating treated cells in S- and G2/M-phases [90].

Conclusion and future challenges

According to the World Health Organization [91], incidence and mortality of cancer is increasing worldwide. The various treatments require a careful selection of one or more of existing modalities such as surgery, radiotherapy and systemic therapy. This selection should be based on evidence of the best existing treatment given the resources available. However in

developing countries such as Burkina Faso, it is not always possible to have a correct access to anticancer molecules. Plants are hence a potential source of drug discovery and development of cancer chemoprevention or treatment [92]. They could thus provide a hope for finding anticancer molecules available and efficient for the treatment of persons with cancer (**Figure 5**). This review shows that more and more studies are necessary to carry out on the anti-cancer activity of EOs as nature is a rich source of biological and chemical diversity. The unique and complex structures of natural products cannot be obtained easily by chemical synthesis. Interest in medicinal plant research has increased in recent years, especially for the treatment of cancer [6, 93]. Cytotoxicity has been reported for many EOs [94, 95]. However, very few studies have been done on the combination of EOs and their major compounds to find putative synergistic beneficial effects, as the association of 5-fluorouracil and geraniol in both SW620 and Caco-2 cells of human colonic carcinoma [96].

However, when EOs are extracted from aromatic plants, there is a long road before using them as a drug. The pharmaceutical research phase is mandatory to identify new molecular targets, both in cell culture and in animal models, and to engineer more efficient molecules from the natural compound. To help in accelerating the molecule identification it is important to remember that all ancient civilizations have developed alongside agriculture, herbal medicine and eminent physicians of the past were usually also herbalists. Nobody could deny that chemotypes of EOs have a wide spectrum of action on various therapies, even though the molecular mechanisms and events need to be identified as well.

The joint activity between chemistry, biochemistry, biology, medicine, pharmacy and botany to correctly identify these chemical constituents is thus fundamental. Finding new active EOs for the treatment of cancers is a challenge. Using it in Human to treat is promise.

Acknowledgements

Research supports were provided by Conférence Episcopale Italienne (CEI), Union Economique Monétaire Ouest Africaine (UEMOA) and Campus France for BB, IHNB, CG, JS; Erasmus Exchange Programm for RS; Fondation BNP-Paris, Région Auvergne, Fond Européen de

Développement Régional (FEDER), Association de Recherche sur les Tumeurs Prostatiques (ARTP), Fondation ARC, Ligue contre le Cancer and Plan National de Recherche -Perturbateur Endocrinien (13-MRES-PNRPE-1-CVS-043) for LM and JMAL.

Disclosure of conflict of interest

None.

Address correspondence to: Dr. Jean-Marc A Lobaccaro, Laboratoire GReD, UMR CNRS 6293-Clermont Université-INSERM U1103, 24 avenue des Landais, BP80026, 24 avenue des Landais, F-63177; E-mail: j-marc.lobaccaro@univ-bpclermont.fr; Dr. Jacques Simporé, Centre de Recherche Biomoléculaire Pietro Annigoni (CERBA), Université de Ouagadougou, 01 BP 364 Ouagadougou 01, Burkina Faso. E-mail: jacques.simpore@yahoo.fr

References

- [1] Buckle J. Use of aromatherapy as a complementary treatment for chronic pain. *Altern Ther Health Med* 1999; 5: 42-51.
- [2] Sylvestre M, Pichette A, Longtin A, Nagau F, Legault J. Essential oil analysis and anticancer activity of leaf essential oil of *Croton flavens* L. from Guadeloupe. *J Ethnopharmacol* 2006; 103: 99-102.
- [3] Mimica-Dukic N, Bozin B, Sokovic M, Simin N. Antimicrobial and antioxidant activities of *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae) essential oil. *J Agric Food Chem* 2004; 52: 2485-9.
- [4] Sylvestre M, Legault J, Dufour D, Pichette A. Chemical composition and anticancer activity of leaf essential oil of *Myrica gale* L. *Phytomedicine* 2005; 12: 299-304.
- [5] Loizzo MR, Tundis R, Menichini F, Saab AM, Statti GA, Menichini F. Antiproliferative effects of essential oils and their major constituents in human renal adenocarcinoma and melanotic melanoma cells. *Cell Prolif* 2008; 41: 1002-12.
- [6] Heinrich M, Bremner P. Ethnobotany and ethnopharmacy—their role for anti-cancer drug development. *Curr Drug Targets* 2006; 7: 239-45.
- [7] Newman DJ, Cragg GM. Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *J Nat Prod* 2007; 70: 461-77.
- [8] Yousefzadi M, Riahi-Madvar A, Hadian J, Rezaee F, Rafiee R, Biniiaz M. Toxicity of essential oil of *Satureja khuzistanica*: In vitro cytotoxicity and anti-microbial activity. *J Immunotoxicol* 2014; 11: 50-5.
- [9] Murata S, Shiragami R, Kosugi C, Tezuka T, Yamazaki M, Hirano A, Yoshimura Y, Suzuki M,

- Shuto K, Ohkohchi N, Koda K. Antitumor effect of 1, 8-cineole against colon cancer. *Oncol Rep* 2013; 30: 2647-52.
- [10] Fogang HPD, Maggi F, Tapondjou LA, Womeni HM, Papa F, Quassinti L, Bramucci M, Vitali LA, Petrelli D, Lupidi G, Vittori S, Barboni L. In vitro Biological Activities of Seed Essential Oils from the Cameroonian Spices *Afrostryax lepidophyllus* Mildbr. and *Scorodophloeus zenkeri* Harms Rich in Sulfur-Containing Compounds. *Chem Biodivers* 2014; 11: 161-9.
- [11] Rashid S, Rather MA, Shah WA, Bhat BA. Chemical composition, antimicrobial, cytotoxic and antioxidant activities of the essential oil of *Artemisia indica* Willd. *Food Chem* 2013; 138: 693-700.
- [12] Duquénois P, Anton R. [Search for derivatives of anthracene in 2 African Cassia: *Cassia nigricans* Vahl et *Cassia podocarpa* Guill. et Perr]. *Ann Pharm Fr* 1968; 26: 607-14.
- [13] Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *Int J Food Microbiol* 2004; 94: 223-53.
- [14] Santoyo S, Cavero S, Jaime L, Ibañez E, Señoráns FJ, Reglero G. Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction. *J Food Prot* 2005; 68: 790-5.
- [15] Kimbaris AC, Siatis NG, Daferera DJ, Tarantilis PA, Pappas CS, Polissiou MG. Comparison of distillation and ultrasound-assisted extraction methods for the isolation of sensitive aroma compounds from garlic (*Allium sativum*). *Ultrason Sonochem* 2006; 13: 54-60.
- [16] Charpentier B. [New therapeutic targets for antibodies and recombinant proteins in organ transplantation]. *Bull Académie Natl Médecine* 2008; 192: 883-893; discussion 893-894.
- [17] Pichersky E, Noel JP, Dudareva N. Biosynthesis of plant volatiles: nature's diversity and ingenuity. *Science* 2006; 311: 808-11.
- [18] Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils—a review. *Food Chem Toxicol* 2008; 46: 446-75.
- [19] Connolly JD, Hill RA. Dictionary of Terpenoids. Vol. 1: Mono- and Sesquiterpenoids, Vol. 2: Di- and higher Terpenoids, Vol. 3: Indexes. New York, Tokyo, Melbourne, Madras: Chapman & Hall London; 1991.
- [20] Pinder AR. The Chemistry of Terpenes. New York: Chapman & Hall London; 1960.
- [21] Ruzicka L. *Proc Chem Soc (London)* 1959; 341.
- [22] Hernandez Ochoa LR. Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combine "solvant/actif" d'origine végétale [Internet]. 2005 [cited 2013 Jul 27]. Available from: <http://www.youscribe.com/catalogue/ressources-pedagogiques/education/etudes-superieures/n-d-ordre-these-1667992>.
- [23] Lahlou M, Berrada R. Composition and niticidal activity of essential oils of three chemotypes of *Rosmarinus officinalis* L. acclimatized in Morocco. *J Flavour Fragr* 2003; 18: 124-7.
- [24] Lahlou M. Essential oils and fragrance compounds: bioactivity and mechanisms of action. *J Flavour Fragr* 2004; 19: 159-65.
- [25] Jackson AL, Loeb LA. The contribution of endogenous sources of DNA damage to the multiple mutations in cancer. *Mutat Res* 2001; 477: 7-21.
- [26] Storz P. Reactive oxygen species in tumor progression. *Front Biosci* 2005; 10: 1881-96.
- [27] Mantovani A. Cancer: inflammation by remote control. *Nature* 2005; 435: 752-3.
- [28] Quassinti L, Lupidi G, Maggi F, Sagratini G, Papa F, Vittori S, Bianco A, Bramucci M. Antioxidant and antiproliferative activity of *Hypericum hircinum* L. subsp. *majus* (Aiton) N. Robson essential oil. *Nat Prod Res* 2013; 27: 862-8.
- [29] Gasmi J, Thomas Sanderson J. Jacaric acid and its octadecatrienoic acid geoisomers induce apoptosis selectively in cancerous human prostate cells: a mechanistic and 3-D structure–activity study. *Phytomedicine* 2013; 20: 734-42.
- [30] Yousuf Dar M, Shah WA, Mubashir S, Rather MA. Chromatographic analysis, anti-proliferative and radical scavenging activity of *Pinus wallichiana* essential oil growing in high altitude areas of Kashmir, India. *Phytomedicine* 2012; 19: 1228-33.
- [31] Essien EE, Ogunwande IA, Setzer WN, Ekundayo O. Chemical composition, antimicrobial, and cytotoxicity studies on *S. erianthum* and *S. macranthum* essential oils. *Pharm Biol* 2012; 50: 474-80.
- [32] Zu Y, Yu H, Liang L, Fu Y, Efferth T, Liu X, Wu N. Activities of ten essential oils towards *Propionibacterium acnes* and PC-3, A-549 and MCF-7 cancer cells. *Mol Basel Switz* 2010; 15: 3200-10.
- [33] Hussain AI, Anwar F, Nigam PS, Ashraf M, Gilani AH. Seasonal variation in content, chemical composition and antimicrobial and cytotoxic activities of essential oils from four *Mentha* species. *J Sci Food Agric* 2010; 90: 1827-36.
- [34] Kim HS, Lee EH, Ko SR, Choi KJ, Park JH, Im DS. Effects of ginsenosides Rg3 and Rh2 on the proliferation of prostate cancer cells. *Arch Pharm Res* 2004; 27: 429-35.
- [35] Do N Fontes JE, Ferraz RPC, Britto ACS, Carvalho AA, Moraes MO, Pessoa C, Costa EV, Bezerra DP. Antitumor effect of the essential oil from leaves of *Guatteria pogonopus* (Annonaceae). *Chem Biodivers* 2013; 10: 722-9.

- [36] Bayala B, Bassole IHN, Gnoula C, Nebie R, Yonli A, Morel L, Figueredo G, Nikiema JB, Lobaccaro JMA, Simpore J. Chemical composition, antioxidant, anti-inflammatory and anti-proliferative activities of essential oils of plants from burkina faso. *PLoS One* 2014; 9: e92122.
- [37] Hsu SS, Lin KL, Chou CT, Chiang AJ, Liang WZ, Chang HT, Tsai JY, Liao WC, HuangFD, Huang JK, Chen IS, Liu SI, Kuo CC, Jan CR. Effect of thymol on Ca²⁺ homeostasis and viability in human glioblastoma cells. *Eur J Pharmacol* 2011; 670: 85-91.
- [38] Detoni CB, de Oliveira DM, Santo IE, Pedro AS, El-Bacha R, da Silva Velozo E, Ferreira D, Sarmiento B, de Magalhães Cabral-Albuquerque EC. Evaluation of thermal-oxidative stability and antglioma activity of *Zanthoxylum tinogoassuiba* essential oil entrapped into multi- and unilamellar liposomes. *J Liposome Res* 2012; 22: 1-7.
- [39] Desai A, Vyas T, Amiji M. Cytotoxicity and apoptosis enhancement in brain tumor cells upon coadministration of paclitaxel and ceramide in nanoemulsion formulations. *J Pharm Sci* 2008; 97: 2745-56.
- [40] Rasoanaivo P, Fortuné Randriana R, Maggi F, Nicoletti M, Quassinti L, Bramucci M, Lupidi G, Petrelli D, Vitali LA, Papa F, Vittori S. Chemical composition and biological activities of the essential oil of *Athanasia brownii* Hochr. (Asteraceae) endemic to Madagascar. *Chem Biodivers* 2013; 10: 1876-86.
- [41] Su YC, Hsu KP, Wang EIC, Ho CL. Composition and in vitro anticancer activities of the leaf essential oil of *Neolitsea variabilissima* from Taiwan. *Nat Prod Commun* 2013; 8: 531-2.
- [42] Bou DD, Lago JHG, Figueiredo CR, Matsuo AL, Guadagnin RC, Soares MG, Sartorelli P. Chemical composition and cytotoxicity evaluation of essential oil from leaves of *Casearia sylvestris*, its main compound α -zingiberene and derivatives. *Mol Basel Switz* 2013; 18: 9477-87.
- [43] Afoulous S, Ferhout H, Raoelison EG, Valentin A, Moukarzel B, Couderc F, Bouajila J. Chemical composition and anticancer, antiinflammatory, antioxidant and antimalarial activities of leaves essential oil of *Cedrelopsis grevei*. *Food Chem Toxicol* 2013; 56: 352-62.
- [44] Keawsa-ard S, Liawruangrath B, Liawruangrath S, Teerawutgulrag A, Pyne SG. Chemical constituents and antioxidant and biological activities of the essential oil from leaves of *Solanum spirale*. *Nat Prod Commun* 2012; 7: 955-8.
- [45] Suhail MM, Wu W, Cao A, Mondalek FG, Fung KM, Shih PT, Fang YT, Woolley C, Young G, Lin HK. *Boswellia sacra* essential oil induces tumor cell-specific apoptosis and suppresses tumor aggressiveness in cultured human breast cancer cells. *BMC Complement Altern Med* 2011; 11: 129.
- [46] Carnesecchi S, Schneider Y, Ceraline J, Duranton B, Gosse F, Seiler N, Raul F. Geraniol, a component of plant essential oils, inhibits growth and polyamine biosynthesis in human colon cancer cells. *J Pharmacol Exp Ther* 2001; 298: 197-200.
- [47] Chidambara Murthy KN, Jayaprakash GK, Patil BS. D-limonene rich volatile oil from blood oranges inhibits angiogenesis, metastasis and cell death in human colon cancer cells. *Life Sci* 2012; 91: 429-39.
- [48] Akrouit A, Gonzalez LA, El Jani H, Madrid PC. Antioxidant and antitumor activities of *Artemisia campestris* and *Thymelaea hirsuta* from southern Tunisia. *Food Chem Toxicol* 2011; 49: 342-7.
- [49] El-Najjar N, Chatila M, Moukadem H, Vuorela H, Ocker M, Gandesiri M, Schneider-Stock R, Gali-Muhtasib H. Reactive oxygen species mediate thymoquinone-induced apoptosis and activate ERK and JNK signaling. *Apoptosis* 2010; 15: 183-95.
- [50] Kpoviessi S, Bero J, Agbani P, Gbaguidi F, Kpadonou-Kpoviessi B, Sinsin B, Accrombessi G, Frédéric M, Moudachirou M, Quetin-Leclercq J. Chemical composition, cytotoxicity and in vitro antitrypanosomal and antiplasmodial activity of the essential oils of four *Cymbopogon* species from Benin. *J Ethnopharmacol* 2014; 151: 652-9.
- [51] Walia M, Mann TS, Kumar D, Agnihotri VK, Singh B. Chemical Composition and In Vitro Cytotoxic Activity of Essential Oil of Leaves of *Malus domestica* Growing in Western Himalaya (India). *Evid Based Complement Alternat Med* 2012; 2012: 649727.
- [52] Sun H, Sun C, Pan Y. Cytotoxic activity and constituents of the volatile oil from the roots of *Patrinia scabra* Bunge. *Chem Biodivers* 2005; 2: 1351-7.
- [53] Wu S, Wei FX, Li HZ, Liu XG, Zhang JH, Liu JX. [Chemical composition of essential oil from *Thymus citriodorus* and its toxic effect on liver cancer cells]. *Zhong Yao Cai* 2013; 36: 756-9.
- [54] Abdallah HM, Ezzat SM. Effect of the method of preparation on the composition and cytotoxic activity of the essential oil of *Pituranthos tortuosus*. *Z Naturforsch C* 2011; 66: 143-8.
- [55] Paik SY, Koh KH, Beak SM, Paek SH, Kim JA. The essential oils from *Zanthoxylum schinifolium* pericarp induce apoptosis of HepG2 human hepatoma cells through increased production of reactive oxygen species. *Biol Pharm Bull* 2005; 28: 802-7.
- [56] El-Readi MZ, Eid HH, Ashour ML, Eid SY, Labib RM, Sporer F, Wink M. Variations of the chemical composition and bioactivity of essential oils from leaves and stems of *Liquidambar styraciflua* (Altingiaceae). *J Pharm Pharmacol* 2013; 65: 1653-63.

- [57] Santana JS, Sartorelli P, Guadagnin RC, Matsuo AL, Figueiredo CR, Soares MG, da Silva AM, Lago JHG. Essential oils from *Schinus terebinthifolius* leaves - chemical composition and in vitro cytotoxicity evaluation. *Pharm Biol* 2012; 50: 1248-53.
- [58] Sun XY, Zheng YP, Lin DH, Zhang H, Zhao F, Yuan CS. Potential anti-cancer activities of Furanodiene, a Sesquiterpene from *Curcuma wenyujin*. *Am J Chin Med* 2009; 37: 589-96.
- [59] Yu JQ, Liao ZX, Cai XQ, Lei JC, Zou GL. Composition, antimicrobial activity and cytotoxicity of essential oils from *Aristolochia mollissima*. *Environ Toxicol Pharmacol* 2007; 23: 162-7.
- [60] Ferraz RPC, Cardoso GMB, da Silva TB, Fontes JE do N, Prata AP do N, Carvalho AA, Moraes MO, Pessoa C, Costa EV, Bezerra DP. Antitumor properties of the leaf essential oil of *Xylopia frutescens* Aubl. (Annonaceae). *Food Chem* 2013; 141: 196-200.
- [61] Manjamalai A, Kumar MJM, Grace VMB. Essential oil of *Tridax procumbens* L induces apoptosis and suppresses angiogenesis and lung metastasis of the B16F-10 cell line in C57BL/6 mice. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 5887-95.
- [62] Seal S, Chatterjee P, Bhattacharya S, Pal D, Dasgupta S, Kundu R, Mukherjee S, Bhattacharya S, Bhuyan M, Bhattacharyya PR, Baishya G, Barua NC, Baruah PK, Rao PG, Bhattacharya S. Vapor of volatile oils from *Litsea cubeba* seed induces apoptosis and causes cell cycle arrest in lung cancer cells. *PLoS One* 2012; 7: e47014.
- [63] Su YC, Hsu KP, Wang EIC, Ho CL. Composition and in vitro anticancer activities of the leaf essential oil of *Neolitsea variabilissima* from Taiwan. *Nat Prod Commun* 2013; 8: 531-2.
- [64] Jo JR, Park JS, Park YK, Chae YZ, Lee GH, Park GY, Jang BC. *Pinus densiflora* leaf essential oil induces apoptosis via ROS generation and activation of caspases in YD-8 human oral cancer cells. *Int J Oncol* 2012; 40: 1238-45.
- [65] Sertel S, Eichhorn T, Plinkert PK, Efferth T. Chemical Composition and antiproliferative activity of essential oil from the leaves of a medicinal herb, *Levisticum officinale*, against UM-SCC1 head and neck squamous carcinoma cells. *Anticancer Res* 2011; 31: 185-91.
- [66] Saab AM, Guerrini A, Sacchetti G, Maietti S, Zeino M, Arend J, Gambari R, Bernardi F, Efferth T. Phytochemical analysis and cytotoxicity towards multidrug-resistant leukemia cells of essential oils derived from Lebanese medicinal plants. *Planta Med* 2012; 78: 1927-31.
- [67] Loizzo MR, Tundis R, Menichini F, Saab AM, Statti GA, Menichini F. Cytotoxic activity of essential oils from labiatae and lauraceae families against in vitro human tumor models. *Anticancer Res* 2007; 27: 3293-9.
- [68] Cai L, Ye H, Li X, Lin Y, Yu F, Chen J, Li H, Liu X. Chemical constituents of volatile oil from *Pyrolae herba* and antiproliferative activity against SW1353 human chondrosarcoma cells. *Int J Oncol* 2013; 42: 1452-8.
- [69] Ni X, Suhail MM, Yang Q, Cao A, Fung KM, Postier RG, Woolley C, Young G, Zhang J, Lin HK. Frankincense essential oil prepared from hydrodistillation of *Boswellia sacra* gum resins induces human pancreatic cancer cell death in cultures and in a xenograft murine model. *BMC Complement Altern Med* 2012; 12: 253.
- [70] Mulyaningsih S, Youns M, El-Readi MZ, Ashour ML, Nibret E, Sporer F, Herrmann F, Reichling J, Wink M. Biological activity of the essential oil of *Kadsura longipedunculata* (Schisandraceae) and its major components. *J Pharm Pharmacol* 2010; 62: 1037-44.
- [71] Sigurdsson S, Ogmundsdottir HM, Gudbjarnason S. The cytotoxic effect of two chemotypes of essential oils from the fruits of *Angelica archangelica* L. *Anticancer Res* 2005; 25: 1877-80.
- [72] Li YL, Yeung CM, Chiu LCM, Cen YZ, Ooi VEC. Chemical composition and antiproliferative activity of essential oil from the leaves of a medicinal herb, *Schefflera heptaphylla*. *Phytother Res* 2009; 23: 140-2.
- [73] Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Zhiri A, Baudoux D, Idaomar M. Antigenotoxic effects of three essential oils in diploid yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) after treatments with UVC radiation, 8-MOP plus UVA and MMS. *Mutat Res* 2006; 606: 27-38.
- [74] Russo R, Ciociaro A, Berliocchi L, Cassiano MGV, Rombolà L, Ragusa S, Bagetta G, Blandini F, Corasaniti MT. Implication of limonene and linalyl acetate in cytotoxicity induced by bergamot essential oil in human neuroblastoma cells. *Fitoterapia* 2013; 89: 48-57.
- [75] Edris AE. Anti-cancer properties of *Nigella* spp. essential oils and their major constituents, thymoquinone and beta-elemene. *Curr Clin Pharmacol* 2009; 4: 43-6.
- [76] Shukla Y, Singh M. Cancer preventive properties of ginger: a brief review. *Food Chem Toxicol* 2007; 45: 683-90.
- [77] Mauro M, Catanzaro I, Naselli F, Sciandrello G, Caradonna F. Abnormal mitotic spindle assembly and cytokinesis induced by D-Limonene in cultured mammalian cells. *Mutagenesis* 2013; 28: 631-5.
- [78] Kim C, Cho SK, Kapoor S, Kumar A, Vali S, Abbasi T, Kim SH, Sethi G, Ahn KS. β -Caryophyllene oxide inhibits constitutive and inducible STAT3 signaling pathway through induction of the SHP-1 protein tyrosine phosphatase. *Mol Carcinog* 2014; 53: 793-806.
- [79] Crespo R, Montero Villegas S, Abba MC, de Bravo MG, Polo MP. Transcriptional and post-

- transcriptional inhibition of HMGR and PC biosynthesis by geraniol in 2 Hep-G2 cell proliferation linked pathways. *Biochem Cell Biol* 2013; 91: 131-9.
- [80] Kumar A, Malik F, Bhushan S, Sethi VK, Shahi AK, Kaur J, Taneja SC, Qazi GN, Singh J. An essential oil and its major constituent isointermedeol induce apoptosis by increased expression of mitochondrial cytochrome c and apical death receptors in human leukaemia HL-60 cells. *Chem Biol Interact* 2008; 171: 332-47.
- [81] Xiao Y, Yang FQ, Li SP, Gao JL, Hu G, Lao SC, Conceição EL, Fung KP, Wang YIT, Lee SM. Furanodienone induces G2/M cell cycle arrest and apoptosis through MAPK signaling and mitochondria-caspase pathway in human hepatocellular carcinoma cells. *Cancer Biol Ther* 2007; 6: 1044-50.
- [82] Liang WZ, Lu CH. Carvacrol-induced $[Ca^{2+}]_i$ rise and apoptosis in human glioblastoma cells. *Life Sci* 2012; 90: 703-11.
- [83] Worthen DR, Ghosheh OA, Crooks PA. The in vitro anti-tumor activity of some crude and purified components of blackseed, *Nigella sativa* L. *Anticancer Res* 1998; 18: 1527-32.
- [84] Gali-Muhtasib H, Kuester D, Mawrin C, Bajbouj K, Diestel A, Ocker M, Hahold C, Foltzer-Jourdainne C, Schoenfeld P, Peters B, Diab-Assaf M, Pommrich U, Itani W, Lippert H, Roessner A, Schneider-Stock R. Thymoquinone triggers inactivation of the stress response pathway sensor CHEK1 and contributes to apoptosis in colorectal cancer cells. *Cancer Res* 2008; 68: 5609-18.
- [85] Gali-Muhtasib H, Diab-Assaf M, Boltze C, Al-Hmaira J, Hartig R, Roessner A, Schneider-Stock R. Thymoquinone extracted from black seed triggers apoptotic cell death in human colorectal cancer cells via a p53-dependent mechanism. *Int J Oncol* 2004; 25: 857-66.
- [86] Jiang H, Sólyom AM, Timmermann BN, Gang DR. Characterization of gingerol-related compounds in ginger rhizome (*Zingiber officinale* Rosc.) by high-performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2005; 19: 2957-64.
- [87] Liang WZ, Chou CT, Lu T, Chi CC, Tseng LL, Pan CC, Lin KL, Kuo CC, Jan CR. The mechanism of carvacrol-evoked $[Ca^{2+}]_i$ rises and non- Ca^{2+} -triggered cell death in OC2 human oral cancer cells. *Toxicology* 2013; 303: 152-61.
- [88] Anita Y, Radifar M, Kardono LB, Hanafi M, Istyastono EP. Structure-based design of eugenol analogs as potential estrogen receptor antagonists. *Bioinformation* 2012; 8: 901-6.
- [89] Yoo CB, Han KT, Cho KS, Ha J, Park HJ, Nam JH, Kil UH, Lee KT. Eugenol isolated from the essential oil of *Eugenia caryophyllata* induces a reactive oxygen species-mediated apoptosis in HL-60 human promyelocytic leukemia cells. *Cancer Lett* 2005; 225: 41-52.
- [90] Boot A, Brito A, VAN Wezel T, Morreau H, Costa M, Proença F. Anticancer activity of novel pyrido[2,3-b]indolizine derivatives: the relevance of phenolic substituents. *Anticancer Res* 2014; 34: 1673-7.
- [91] WHO. World Cancer Report. In: Bernard S and Christopher PW, editors. IARC Nonserial Publication. Geneva: WHO Press; 2014. pp. 630.
- [92] Newell DR. How to develop a successful cancer drug-molecules to medicines or targets to treatments? *Eur J Cancer* 2005; 41: 676-82.
- [93] Heinrich M, Gibbons S. Ethnopharmacology in drug discovery: an analysis of its role and potential contribution. *J Pharm Pharmacol* 2001; 53: 425-32.
- [94] Cavalieri E, Mariotto S, Fabrizio C, de Prati AC, Gottardo R, Leone S, Berra LV, Lauro GM, Ciampa AR, Suzuki H. alpha-Bisabolol, a nontoxic natural compound, strongly induces apoptosis in glioma cells. *Biochem. Biophys Res Commun* 2004; 315: 589-94.
- [95] Lampronti I, Saab AM, Gambari R. Antiproliferative activity of essential oils derived from plants belonging to the Magnoliophyta division. *Int J Oncol* 2006; 29: 989-95.
- [96] Carnesecchi S, Bras-Gonçalves R, Bradaia A, Zeisel M, Gossé F, Poupon MF, Raul F. Geraniol, a component of plant essential oils, modulates DNA synthesis and potentiates 5-fluorouracil efficacy on human colon tumor xenografts. *Cancer Lett* 2004; 215: 53-9.
- [97] Bezerra DP, Marinho Filho JDB, Alves APNN, Pessoa C, de Moraes MO, Pessoa ODL, Torres MCM, Silveira ER, Viana FA, Costa-Lotufo LV. Antitumor activity of the essential oil from the leaves of *Croton regelianus* and its component ascaridole. *Chem Biodivers* 2009; 6: 1224-31.
- [98] Nagappan T, Ramasamy P, Wahid MEA, Segaran TC, Vairappan CS. Biological Activity of Carbazole Alkaloids and Essential Oil of *Murraya koenigii* Against Antibiotic Resistant Microbes and Cancer Cell Lines. *Molecules* 2011; 16: 9651-64.
- [99] Afoulous S, Ferhout H, Raelison EG, Valentin A, Moukarzel B, Couderc F, Bouajila J. Helichrysum gymnocephalum Essential Oil: Chemical Composition and Cytotoxic, Antimalarial and Antioxidant Activities, Attribution of the Activity Origin by Correlations. *Molecules* 2011; 16: 8273-91.
- [100] Chabir N, Romdhane M, Valentin A, Moukarzel B, Marzoug HNB, Brahim NB, Mars M, Bouajila J. Chemical study and antimalarial, antioxidant, and anticancer activities of *Melaleuca armillaris* (Sol Ex Gateau) Sm essential oil. *J Med Food* 2011; 14: 1383-8.
- [101] Hussain AI, Anwar F, Chatha SAS, Jabbar A, Mahboob S, Nigam PS. Rosmarinus officinalis essential oil: antiproliferative, antioxidant and

- antibacterial activities. *Braz J Microbiol Publ. Braz Soc Microbiol* 2010; 41: 1070-8.
- [102] Bendaoud H, Romdhane M, Souchard JP, Ca-
zaux S, Bouajila J. Chemical composition and
anticancer and antioxidant activities of *Schi-
nus molle* L. and *Schinus terebinthifolius* Rad-
di berries essential oils. *J Food Sci* 2010; 75:
C466-472.
- [103] Nazaruk J, Karna E, Wieczorek P, Sacha P,
Tryniszewska E. In vitro antiproliferative and
antifungal activity of essential oils from *Eriger-
on acris* L. and *Erigeron annuus* (L.) Pers. *Z
Naturforsch C* 2010; 65: 642-6.
- [104] Xu WN, Gao XX, Guo XL, Chen YC, Zhang WM,
Luo YS. [Study on volatile components from
peel of *Aquilaria sinensis* and the anti-tumor
activity]. *Zhong Yao Cai* 2010; 33: 1736-40.
- [105] Kathirvel P, Ravi S. Chemical composition of
the essential oil from basil (*Ocimum basilicum*
Linn.) and its in vitro cytotoxicity against HeLa
and HEP-2 human cancer cell lines and NIH
3T3 mouse embryonic fibroblasts. *Nat Prod
Res* 2012; 26: 1112-8.
- [106] Sylvestre M, Pichette A, Lavoie S, Longtin A, Le-
gault J. Composition and cytotoxic activity of
the leaf essential oil of *Comptonia peregrina*
(L.) Coulter. *Phytother Res PTR* 2007; 21: 536-
40.
- [107] Sharma PR, Mondhe DM, Muthiah S, Pal HC,
Shahi AK, Saxena AK, Qazi GN. Anticancer ac-
tivity of an essential oil from *Cymbopogon flex-
uosus*. *Chem Biol Interact* 2009; 179: 160-8.
- [108] Manosroi J, Dhumtanom P, Manosroi A. Anti-
proliferative activity of essential oil extracted
from Thai medicinal plants on KB and P388
cell lines. *Cancer Lett* 2006; 235: 114-20.
- [109] Xiao Y, Yang FQ, Li SP, Hu G, Lee SMY, Wang YT.
Essential oil of *Curcuma wenyujin* induces
apoptosis in human hepatoma cells. *World J
Gastroenterol WJG* 2008; 14: 4309-18.
- [110] Chen W, Lu Y, Gao M, Wu J, Wang A, Shi R. Anti-
angiogenesis effect of essential oil from *Cur-
cuma zedoaria* in vitro and in vivo. *J Ethnophar-
macol* 2011; 133: 220-6.
- [111] Su M, Wu P, Li Y, Chung HY. Antiproliferative ef-
fects of volatile oils from *Centipeda minima* on
human nasopharyngeal cancer CNE cells. *Nat
Prod Commun* 2010; 5: 151-6.
- [112] Sertel S, Eichhorn T, Plinkert PK, Efferth T. [An-
ticancer activity of *Salvia officinalis* essential
oil against HNSCC cell line (UMSCC1)]. *HNO*
2011; 59: 1203-8.
- [113] Jayaprakasha G, Murthy K, Demarais R, Patil
B. Inhibition of Prostate Cancer (LNCaP) Cell
Proliferation by Volatile Components from Na-
gami Kumquats. *Planta Med* 2012; 78: 974-
80.
- [114] Islam SN, Begum P, Ahsan T, Huque S, Ahsan
M. Immunosuppressive and cytotoxic proper-
ties of *Nigella sativa*. *Phytother Res* 2004; 18:
395-8.

Chemical composition, antioxidant, anti-inflammatory and anticancer activities of *Cymbopogon citratus* and *Cymbopogon giganteus* essential oils alone and in combination

Bagora BAYALA^{1,4,5,6,7}, Imaël H. N. BASSOLE³, Sylvère BARON^{4,5,6,7}, Jean-Marc A. LOBACCARO^{4,5,6,7*}, Jacques SIMPORE^{1,2*}

*Corresponding Authors: Dr. Jean-Marc A. LOBACCARO, PhD, Laboratoire GReD, UMR CNRS 6293-Clermont Université-INSERM U1103, 24 avenue des Landais, BP80026, 24 avenue des Landais, F-63177 j-marc.lobaccaro@univ-bpclermont.fr; Dr. Jacques SIMPORÉ, PhD, Centre de Recherche Biomoléculaire Pietro Annigoni (CERBA), Université de Ouagadougou, 01 BP 364 Ouagadougou 01, Burkina Faso ; jacques.simpore@yahoo.fr

Abstract

Background: *Cymbopogon* species are used as traditional remedies in Burkina Faso for treating several ailments.

Methods: In this study, the essential oils of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. and *Cymbopogon giganteus* Chiov. were analyzed by gas chromatography–mass spectrometry and gas chromatography–flame ionization detector and their antioxidant (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) and 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS)), anti-inflammatory (inhibition of lipooxygenase) and cytotoxic (on LNCaP and PC-3 prostate cancer cell lines, and SF-763 and SF-767 glioblastoma cell lines) activities were tested.

Results: Thirty three compounds were identified in the essential oil of *C. giganteus* among which limonene (19.33%), Mentha-1 (7),8-dien-2-ol cis (17.34%), Mentha-1 (7),8-dien-2-ol trans (13.95), trans-Mentha-2,8-diene-para-ol 1 (13.91%) and Mentha-2,8-diene-1-ol, cis-para (8.10%) were the most abundant. *C. citratus* essential contained 15 compounds and the major ones were geranial or citral A (48.18%) and neral or citral B (34.37%). The EO of *C. citratus* showed the highest ability to scavenge DPPH⁺ radical (67.58% of inhibition at 8mg/mL) while *C. giganteus* exhibited the highest capability to reduce ABTS⁺ (0.59μmolET/g). The EO of *C. citratus* was the most effective prostate cell lines (LNCaP (IC₅₀ = 6.36μg/ml) and PC-3 (IC₅₀ = 32.1μg/ml)) and glioblastoma cell lines (SF-767 (IC₅₀ = 45.13μg/ml) and SF-763 (IC₅₀ = 172.05μg/ml)). The activity of EO of *C. citratus* was statistically equal to that of its major component, citral. Combination of both oils showed antagonism, addition, indifference and synergy effects on LNCaP, PC-3, SF-767 and SF-763 cell lines, respectively.

Conclusions: Altogether these results justify the use of these plants in traditional medicine in Burkina Faso.

Keywords: Essential oil; Anti-oxidant; Anti-inflammatory; anticancer activities; Prostate cancer; Glioblastoma

Background

Oxidative stress results from an imbalance in the production of reactive oxygen species (ROS) and cell's own antioxidant defenses that in part lead to numerous carcinogenesis. Cancer is a major cause of death worldwide, especially in low income countries and middle-incomes [1]. World Health Organization (WHO) estimates that 80% of the population in developing countries rely on traditional medicine for their needs in primary health care [2]. Several phytochemicals, derived from vegetables, fruits, herbs and spices, have demonstrated excellent chemopreventive properties against carcinogenesis by regulating the redox status of the cells during oxidative stress [3]. Many studies have shown anticancer activity of essential oils against prostate cancer and glioblastoma. EO of *Hypericum hircinum* L. subsp. *Majus* revealed antiproliferative activity on human prostatic adenocarcinoma (PC3) [4]. Jacaric acid and four of its octadecatrienoic geoisomers selectively induced apoptosis in hormone-dependent (LNCaP) and -independent (PC-3) human prostate cancer cells, whilst not affecting the viability of normal human prostate epithelial cells (RWPE-1) [5]. *Pinus wallichiana* essential oil showed significant anti-proliferative activity on prostate cancer cells [6]. *Solanum erianthum* leaf volatile oil demonstrated potent inhibitory activity against PC-3 cells [7]. EO of *Hypericum hircinum* had antiproliferative activity on human glioblastoma tumor cells T98G [4]. *Zanthoxylum tinguassuiba* EO contains α -bisabolol, a known antiglioma sesquiterpene, among other potentially active substances [8]. A recent study showed that SF-767 glioblastoma cell line was the most sensitive to *Ocimum basilicum* Linnæus and *Lippia multiflora* Moldenk EOs, while essential oil of *Ageratum conyzoides* Linnæus showed the highest antitumoral activity on SF-763 cells [9].

The genus *Cymbopogon* containing 55 known species is a tropical herb aboriginal in tropical and semi-tropical zones of Asia and is harvested in South and Central America, Africa, and other tropical countries [10].

Cymbopogon citratus (DC.) Stapf., commonly known as lemon grass and used, over many years, for medicinal purposes in West Africa, produces a volatile oil on steam extraction of its leaves [11]. Lemongrass is extensively applied in traditional medicine as an infusion or decoction for treating nervous disorders [12].

EO of *C. giganteus* is used in traditional medicine in the treatment of boils, stomach pain and toothache [13]. The aqueous decoction of this plant is used in the treatment of falciformations and cellular diseases

[14]. It is also used to calm epileptic seizures [15].

Several

chemotypes of the essential oil of *C. citratus* have been described according to the major compounds : geranial, neral, β -pinene and cis-geraniol [16]; geranial (48.1%), neral (34.6%) and myrcene (11.0%) [17] and citral (47%) and 1,8-cineole (7.5%) [18].

The limonene,

trans-p-mentha-1 (7),8-dien-2-ol, cis-p-mentha-1 (7),8-dien-2-ol, trans -p-mentha-2,8-dien-1-ol and cis-p-mentha-2,8-dien-1-ol, at different amount, has been reported as chemotypes of *C. giganteus* essential oil from various origins [16, 17].

Many studies have shown that both essential oils possess antimicrobial [17], insecticide [19, 20] and antiprotozoa [21, 22].

However, to best of our knowledge there is no study on the antitumor activity of EOs of *Cymbopogon giganteus* and *Cymbopogon citratus* of Burkina Faso.

The aim of the present study was to investigate chemical compositions and chemotypes, antioxidant, anti-inflammatory and antiproliferative activities *in vitro* as well as on cell cultures of EOs from *Cymbopogon giganteus* and *Cymbopogon citratus* from two *cymbopogon* used in folk medicine in Burkina Faso.

Materials and methods

Plant material

Leaves of *C. giganteus* and *C. citratus* were collected during June 2010 in Gampéla (Latitude N 12 27.075, Longitude W 1 20.161; GPS location: 12.451244,-1.336023), located at 25 km East from Ouagadougou. Plants were identified at the herbarium of the Laboratoire de Biologie et d'Ecologie (Université de Ouagadougou) where a voucher specimen was deposited under numbers 15940 and 15937 for *C. giganteus* and *C. citratus*, respectively. No specific permission was required for this plant collection.

Essential oils

Fractions of each dried plant material (200g) were submitted to hydrodistillation using an alembic/Clevenger-type apparatus for 3 h as previously described [17]. Anhydrous sodium sulfate was used to remove water after extraction. EOs were stored in airtight containers in a refrigerator at 4°C until

GC-FID and GC/MS analyses and biological tests. EOs were diluted in hexane (1/30, v/v) for GC/FID analysis.

Gas chromatography–flame ionization detector (GC/FID) analysis

Gas chromatography was performed on an Agilent gas chromatograph Model 6890 (Agilent, Palo Alto, Ca), equipped with a DB5 MS column (30m x 0.25mm, 0.25µm film thickness). Hydrogen was used as carrier gas (flow 1.0ml/min). Oven temperature program was from 50°C (5 min) to 300°C at 5°C/min, 5 min post run at 300°C. Sample (1µL) was injected in split mode (1:60); injector and detector temperatures were 280 and 300°C, respectively.

Gas chromatography–mass spectrometry (GC/MS) analysis

EOs were analyzed on an Agilent gas chromatograph Model 7890, coupled to a Agilent MS model 5975, equipped with a DB5 MS column (20m x 0.20mm, 0.20µm film thickness), programming from 50°C (5 min) to 300°C at 8°C/min, 5 min hold. Helium was used as carrier gas (average flow 1.0 ml/min). Oven temperature program was from 50°C (3.2 min) to 300°C at 8°C/min, 5 min post run at 300°C. Sample (1µL) was injected in split mode (1:150); injector and detector temperature were at 250°C and 280°C respectively. The MS working in electron impact mode at 70eV; electron multiplier, 1500 V; ion source temperature, 230°C; mass spectra data were acquired in the scan mode in m/z range 33-450.

Identification of components

Oil constituents were identified by comparison of their retention indices with those of the literature, determined in relation to a homologous series of n-alkanes (C8–C32) under the same operating conditions. Further identification was made by comparison of their mass spectra with those stored in NIST library [23] or with mass spectra from literature [24]. Component relative percentages were calculated based on GC peak areas without using correction factors.

DPPH radical scavenging assay

DPPH (Sigma-Aldrich, L'Île d'Abeau, France) radical scavenging activity was measured as described by Velasquez [25]. Briefly, 0.5mL of EO (8mg/mL in methanol) was added to 1mL of DPPH solution (20 mg/mL in methanol) freshly prepared. After shaking, the mixture was incubated for 15 min in darkness at room temperature and then absorbance was measured at 517 nm against a blank (mixture without

EO). Quercetin (Sigma-Aldrich) was used as positive control. Inhibition percentage of free DPPH radicals (I %) was calculated following the formula: $I (\%) = (1 - A_{\text{Sample}}/A_{\text{Blank}}) \times 100$, A_{blank} and A_{sample} being the absorbance of the blank and sample reactions respectively.

ABTS⁺ radical cation decolorisation assay

The spectrophotometric analysis of ABTS⁺ scavenging activity was determined according to the method Re et al. [26]. Preparation of ABTS⁺ solution was done by dissolving 10 mg of ABTS in 2.6 ml of distilled water. Then, 1.7212 mg of potassium persulfate was added and the mixture is kept in the dark at room temperature for a maximum of 12 hours. The mixture was then diluted with ethanol in order to obtain an absorbance of 0.70 ± 0.02 to 734 nm. In 96-well plates, 50 μ l of test sample solution of EO (8mg/mL) were added to 200 μ l of ABTS⁺ solution freshly prepared. Wells are protected from light for 15 min and the concentration is read at 734 nm in a spectrophotometer against a standard curve with 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox, Sigma-Aldrich). Concentration compounds having a reducing effect on the radical cation ABTS⁺ (antioxidant) is expressed in micromoles Trolox equivalent per gram of EO ($\mu\text{mol ET/g}$) using the following formula: $C = (c \times D) / C_i$. C, concentration of antioxidant compounds in $\mu\text{MET/g}$; c, concentration of sample read; D, dilution factor; C_i , concentration of stock solution.

Anti-inflammatory capacity

Lipoxygenase (EC 1.13.11.12) type I-B inhibiting activity was assayed spectrophotometrically as described by Lyckander and Malterud, [27] with minor modifications. Briefly, 100 μ L of the enzyme solution (at the final concentration of 200 U/mL) was prepared in boric acid buffer (0.2 M; pH 9.0), mixed with 25 μ L of extract solution (8mg/mL or 0.8mg/mL in boric acid buffer) and then incubated at room temperature for 3 min. Reaction was subsequently initiated by the addition of substrate solution (linoleic acid, 250 μ M), and the velocity was recorded for 90 seconds at 234 nm. Boric acid buffer was used as negative control (activity of enzyme without extract solution). The percentage of lipoxygenase inhibition was calculated according to the following equation: $\text{Inhibition } (\%) = (V_{o \text{ control}} - V_{o \text{ sample}}) \times 100 / V_{o \text{ control}}$. $V_{o \text{ control}}$ is the activity of enzyme in absence of extract solution, and $V_{o \text{ sample}}$ is the activity of the enzyme in the presence of the analyzed EOs.

Cell culture

Two human prostate cancer cell lines were used: LNCaP, an androgen responsive cell line with a low metastatic potential derived from a lymph node metastasis [28], and PC-3, an androgen insensitive cell line with a high metastatic potential derived from bone metastasis [29]. Two human glioblastoma cell lines with disparate radiation sensitivity were used, SF-763 and SF-767. Cells were grown at 37°C in a humidified chamber with 5% CO₂ as monolayer adherent cultures in 75 cm² tissue culture flasks, in a medium supplemented with 10% fetal calf serum (FCS, Biowest, Nuaille, France), 1% penicillin and 1% streptomycin (Invitrogen, Oslo, Norway). LNCaP and PC-3 Cells were maintained in RPMI-1640 (Invitrogen). SF-767 and SF-763 cells were maintained in DMEM (Invitrogen). Mouse Prostatic Epithelial Cells (MPECs) LXR +/+ and LXR -/- were cultured in DMEM supplemented with L-glutamine (2 mM) and penicillin streptomycin (100 µg/ml) as described by Dufour et al. [30].

Cytotoxicity assay

Stock solution of 10µl/ml of EOs was prepared in 1% DMSO (Sigma-Aldrich) in complete medium. Global cell growth was assessed using the colorimetric MTT (3[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-diphenyltetrazolium bromide) assay (Sigma-Aldrich). Cells were incubated for 24 hours in 96-well plates (50,000 cells/ml) before incubation with EOs. Cell proliferation test is based on the ability of living cells to reduce MTT (yellow) into its metabolite blue formazan (violet). After 72 h incubation with or without EO, the number of living cells is directly proportional to the intensity of the violet color measured quantitatively by spectrophotometry using a microplate reader type Bio-Rad 11885 at 490 nm. Each experimental condition was analyzed in sextuplicate, with three experiments for each EO. Growth inhibition was calculated as follow: % growth inhibition = $100 - \frac{(OD_{\text{test sample}} - OD_{\text{blank}})}{(OD_{\text{control}} - OD_{\text{blank}})} \times 100$.

The cisplatin, one of the most potent antitumor agents known, displaying clinical activity against a wide variety of solid tumors (Sigma-Aldrich), was used as control. Its cytotoxic mode of action is mediated by its interaction with DNA to form DNA adducts, primarily intrastrand crosslink adducts, which activate several signal transduction pathways, including those involving ATR, p53, p73, and MAPK, and culminate in the activation of apoptosis (Sigma-Aldrich).

To determine the effect of the combination of essential oils, the Fractional Inhibitory Concentration (FIC) was evaluated according to the method described by Pei et al. [31]. The Fractional FIC indices were calculated as $FIC_{Cg} + FIC_{Cc}$, where FIC_{Cg} and FIC_{Cc} are the minimum concentrations that inhibited the cell growth for EOs Cg (*cymbopogon giganteus*) and Cc (*cymbopogon citratus*), respectively. Thus, FICs were calculated as follows: $FIC_{Cg} = (IC50_{Cg+Cc} \text{ combination} / IC50_{Cg} \text{ alone})$ and $FIC_{Cc} = (IC50_{Cc+Cg} \text{ combination} / IC50_{Cc} \text{ alone})$. The results were interpreted as synergy ($FIC < 1$), addition ($FIC = 1$), indifference ($1 < FIC \leq 2$) or antagonism ($FIC > 2$).

Statistical analysis

All *in vitro* experiments were done in sextuplicate and each data point represents the average of at least three independent experiments. All data are reported as the mean \pm SD. Data were analyzed by 1-way analysis of variance followed by the Tukey multiple-comparison test. Analyses were done by using XLSTAT7.1 software. A P value less than 0.05 was used as the criterion for statistical significance.

Results and discussion

Composition analysis of essential oils of *C. citratus* and *C. giganteus*

Chemical compositions of both oils components are presented in Table 1. Both essential oils consisted exclusively in monoterpenoids. Monoterpenes aldehydes (83.75 %) were the most dominant in the essential oil of *C. citratus* whereas monoterpenes alcohol (46,59 %) monoterpenes hydrocarbons (21.31 %) were the major terpenes of *C. giganteus* essential oil.

Fifteen compounds were identified in the EO of *C. citratus* corresponding to 96.33% of the total oil composition (Table 1). The oil was shown to be composed mainly of geranial or citral A (48.18%) followed by neral or citral B (34.37%) and Myrcene (5.37%) (Figure 1 and 2). A similar major components has been already reported by Gbenou et al. [32]. However, neral and geranial [33] , E-Citral (52.9%) and Z-Citral Sonker et al., [34], geranial, neral, β -pinene and cis-geraniol [16], citral and 1,8-cineole [18] have been reported as major components of the oil of *C. citratus*. These differences in chemical composition can be attributed, at least in part, to several factors such as the presence of certain micronutrients in the soil, temperature, environmental factors and chemotypes [35].

A total of 33 compounds, accounting for 95.47% of the total oil, were identified in the EO of *C. giganteus*. (Table 1). The principal compounds in the oil were Limonene (19.33%), Mentha-1(7), 8-dien-2-ol cis (17.34%), Mentha-1(7),8-dien-2-ol trans (13.95%), Mentha-2,8-Diène-1-ol trans-para (13.91%), Mentha-2,8-Diène-1-ol cis-para (8.10%) (Figure 1 and 2). The same major compounds have been reported by Bassolé et al. [17]. Trans-p-mentha-1 (7) ,8-dien-2-ol, trans-carveol, trans-p-mentha-2,8-dienol, cis-p-mentha-2,8-dienol, cis-p-mentha-1 (7) ,8-dien-2-ol, limonene, cis-carveol and cis-carvone have been found as major compounds in Benin [16].

Antioxidant activities of the essential oils of *C. citratus* and *C. giganteus*

The antioxidant activities of the two EOs are shown in Table 2. EO of *C. citratus* showed the highest ability to scavenge DPPH⁺ radical with a percentage of inhibition of 67,58% at 8mg/mL and EO of *C. giganteus* exhibited the highest capability to reduce ABTS⁺ (0,59µmolET/g). Previous studies showed that oxygenated monoterpenes were mainly responsible for the antioxidant potential of the plant oils [36, 37]. The high content of monoterpenes in EOs of *C. giganteus* and *C. citratus* could justify their antioxidant activity. β-caryophyllene is a monoterpene which possesses a free radical scavenging activity using the DPPH assay [38]. EO of *C. citratus* contains 82.5% of citral; this high content of citral could justify the antioxidant activity of this EO. By elsewhere, limonene content could justify the antioxidant activity of EO of *C. giganteus*. In fact, d-Limonene or its metabolite perillyl alcohol (POH) are a significant anti-stress action measurable by behavioral and physiologic parameters under the influence of the nervous system [39]. These variations may be explained by the mechanisms involved in the radical antioxidant reactions. In fact, antioxidants can deactivate radicals by two major mechanisms, Hydrogen Atom Transfer and Single Electron Transfer [40]. Thus, compounds having aldehyde function and compounds with alcohol functions would use different mechanisms. Indeed, in EO of *C. citratus* Monoterpenes aldehydes (83.75%) were the most dominant and in EO of *C. giganteus* monoterpenes alcohol (46.59%) were the most dominant. Antioxidant activity of the tested compounds depended on the stressing agent used and the mechanism of action of the antioxidant [41]. Other factors, such as stereo-selectivity of the radicals or the solubility of EOs in different testing systems, may also affect the capacity of individual EO to react and quench different radicals [42]. Solubility of EOs in solvent can also justify this differences. In fact EOs were solubilised in methanol dilution for DPPH test and in ethanol dilution for ABTS test.

Anti-inflammatory activities of essential oils of *C. citratus* and *C. giganteus*

The EO of *C. citratus* presented the highest anti-inflammatory activity with 98.22% of inhibition of lipoxygenase at 0.8 mg/ml compared to EO of *C. giganteus* which exhibited 98.54% of inhibition at 8mg/ml (Table 2). Monoterpenes aldehydes were the most dominant in the EO of *C. citratus* whereas monoterpenes alcohol were the major monoterpenes of *C. giganteus* EO. Monoterpene of EOs showed anti-inflammatory activity [43]. The high anti-inflammatory activity by inhibition of Lipoxygenases of the EO of *C. citratus* could be attributed to its high content in aldehydes. Indeed, Gbenou et al. [32] showed that aldehyde molecules may contribute to the anti-inflammatory effects observed on the rats *in vivo*. By elsewhere Lipoxygenases and their active metabolites (HPETE and HETE) are involved in many human cancers [44]. Pidgeon et al., [45] have shown the involvement of 15-lipoxygenase in the development of breast, prostate, colorectal cancers where it is over expressed [45]. Moreover, the 5-LOX mRNA and / or its activating protein FLAP are over expressed in prostate cancer [46].

Anticancer effects of the essential oils and compounds

To best of our knowledge, this is the first report on the anti-proliferative activity of the essential oil of *C. citratus* and *C. giganteus*. The EO of *C. citratus* showed the best antiproliferative activity on both cell lines. Half inhibition concentrations were 6.36µg/mL for LNCaP and 32.1µg/ml for PC-3 prostate cancer cell lines and, 45.13µg/ml for SF-767 and 172.05µg/ml for SF-763 of glioblastoma cell lines (Table 3). The high aldehyde compound content of this essential oil of *C. citratus* could justify its high activity. By elsewhere, Kpoviessi et al. [16] showed that EO of *C. citratus* was toxic against CHO cells and moderately toxic against WI38 cells. The combination of both essential oils exhibited antagonism, addition, indifference and synergy effects on LNCaP, PC-3, SF-767 cell lines and SF-763 cell lines, respectively (Table 3). In our study, all anti-proliferative effects of the tested EOs are dose- (Figure 3) and time (Figure 4) dependent.

To correlate the activity of the EO of *C. citratus* to its major compound, citral its major compound was tested. Half inhibition concentrations were 4.32µg/ml and 14.3µg/ml, and 22.35µg/ml and 35.27µg/ml for LNCaP and PC-3 cell lines of prostate cancer, and SF-767 and SF-763 cell lines of glioblastoma, respectively. Statistically the activity of EO of *C. citratus* is equal to that of citral (Table 3). Therefore, the Citral is responsible for the anti-proliferative activity of EO of *C. citratus*. According to the published guidelines, the IC₅₀ < 10 µg/ml represents potentially very toxic; IC₅₀ 10–100µg/ml represents

potentially toxic; IC₅₀ 100–1000 µg/ml represents potentially harmful, and IC₅₀ > 1000 µg/ml represents potentially non-toxic [47, 48]. By elsewhere a compound which the IC₅₀ is less than 20 µg/ml is active in vitro [49] and could therefore be used in chemotherapy for the treatment of cancer. The EO of *C. citratus* and its major compound citral could therefore be used principally in the treatment of prostate cancer. Indeed, IC₅₀ of cisplatin on LNCaP cell line of prostate cancer are 2.91 µg/ml (Table 3); expressed in molarity, anti-proliferative activity of citral on LNCaP cells of prostate cancer (IC₅₀ = 28.4 µM) corresponds statistically to one third of that of cisplatin (IC₅₀ = 9.7 µM on LNCaP cell lines) which is a reference anticancer compound. So finally, the antiproliferative activity of the natural EO of *C. citratus* on LNCaP cell lines of prostate cancer is equal to that of citral and correspond to one third of the activity of cisplatin, a reference used in anticancer cancer chemotherapy. Natural substances are less toxic to the cancer cells than most chemotherapy drugs [49]. However, the most toxic natural compound is about 270 times less toxic than the most toxic chemotherapy molecule [49]. Many cytotoxic molecules of plant origin are widely used in chemotherapy [50]. EO of *C. citratus* could offer hope in the treatment of prostate cancer.

In order to confirm the selectivity of the EO of *C. citratus*, of Cisplatin and Citral, MPECs consisting of LXR +/+ noncancerous cells and proliferating least, and LXR -/- cancerous cells and more proliferating were used for tests. Cisplatin has presented the best antiproliferative activity both on the cell lines LXR +/+ (IC₅₀ = 4.29 µg/ml) as LXR -/- (IC₅₀ = 1.58 µg/ml) compared to citral (LXR +/+ IC₅₀ = 10.40 µg/ml and LXR -/- IC₅₀ = 6.97 µg/ml) and then the EO of *C. citratus* for which the IC₅₀ is 15.02 µg/ml for LXR +/+ and 10.43 µg/ml for LXR -/- (Table 4). Statistically, the effect of the EO of *C. Citratus* and its major compound citral are *similar* and correspond to one third of the effect of cisplatin. These results, show also that cancerous cell line LXR -/- is more sensitive to the EO of *C. citratus*, the citral and the cisplatin than the noncancerous cell line LXR +/+; which would confirm their selective activity.

Conclusion

In conclusion we have evaluated for the first time the chemical composition, ability to scavenge free radicals, anti-inflammatory activity by inhibition of lipoygenase, and anticancer activity on LNCaP and PC-3 cell lines of prostate cancer and SF-767 and SF-763 cell lines of glioblastoma of EOs from *C. giganteus* and *C. citratus* of Burkina Faso. EO of *C. citratus* presented the highest antioxidant, anti-inflammatory and anti-proliferative effect. Citral, the major compound of EO of *C. citratus* is the origin of

its anticancer activity. The EO of *C. citratus* just like the Citral its major compound showed a cytotoxic effect on the morphology of LNCaP cells of prostate cancer, inhibits cell migration and induced anoikis of these cells, and causes discontinuation of cycle. This work shows that EO of *C. citratus* and citral offers hope for the treatment of prostate cancer. It therefore provides also a scientific basis for the local use of these plants and a tool promoting the use therapeutic benefits of EOs from Burkina Faso.

Competing interests

The authors declare no conflict of interests.

Author Contribution

Conceived and designed the experiments: BB IHNB SB CG LM JMAL JS. Performed the experiments: BB IHNB SB. Analyzed the data: BB IHNB SB CG LM JMAL JS. Contributed reagents/materials/analysis tools: IHNB SB CG LM JMAL JS. Wrote the paper: BB IHNB SB JMAL JS.

Acknowledgements: We are grateful Lobaccaro's and Simpore's lab members for their helpful scientific discussion.

Funding: This study was supported by Conférence Episcopale Italienne (CEI), Union Economique Monétaire Ouest Africaine (UEMOA) and Campus France for BB, IHNB, JS; Fondation BNP-Paris, Région Auvergne, Fond Européen de Développement Régional (FEDER), Association de Recherche sur les Tumeurs Prostatiques (ARTP), Fondation ARC, Ligue contre le Cancer for JMAL. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Author details

¹Centre de Recherche Biomoléculaire Pietro Annigoni, Saint Camille-CERBA/LABIOGENE-Ouagadougou, Université de Ouagadougou, 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso. ²Centre Médical Saint Camille de Ouagadougou, Ouagadougou, Burkina Faso. ³Département de Biochimie-microbiologie, UFR-SVT, Université de Ouagadougou, 09 BP 848 Ouagadougou, Burkina Faso. ⁴Clermont Université, Université Blaise Pascal, Génétique Reproduction et Développement, F-63000 Clermont-Ferrand, France. ⁵CNRS, UMR 6293, GReD, F-63177 Aubière, France. ⁶INSERM, UMR 1103, GReD, F-63177 Aubière, France. ⁷Centre de Recherche en Nutrition Humaine d'Auvergne, F-63000

Clermont-Ferrand, France. ⁸ Laboratoire de Pharmacologie, de Toxicologie et de Chimie Thérapeutique, UFR/SDS, Université de Ouagadougou, 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso.

References

1. **OMS | Cancer** [<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/fr/>]
2. **OMS | Médecine traditionnelle** [<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/2003/fs134/fr/index.html>]
3. Acharya A, Das I, Singh S, Saha T: **Chemopreventive properties of indole-3-carbinol, diindolylmethane and other constituents of cardamom against carcinogenesis**. *Recent Pat Food Nutr Agric* 2010, **2**:166–177.
4. Quassinti L, Lupidi G, Maggi F, Sagratini G, Papa F, Vittori S, Bianco A, Bramucci M: **Antioxidant and antiproliferative activity of Hypericum hircinum L. subsp. majus (Aiton) N. Robson essential oil**. *Nat Prod Res* 2013, **27**:862–868.
5. Gasmi J, Thomas Sanderson J: **Jacaric acid and its octadecatrienoic acid geoisomers induce apoptosis selectively in cancerous human prostate cells: a mechanistic and 3-D structure–activity study**. *Phytomedicine* 2013, **20**:734–742.
6. Yousuf Dar M, Shah WA, Mubashir S, Rather MA: **Chromatographic analysis, anti-proliferative and radical scavenging activity of Pinus wallichina essential oil growing in high altitude areas of Kashmir, India**. *Phytomedicine Int J Phytother Phytopharm* 2012, **19**:1228–1233.
7. Essien EE, Ogunwande IA, Setzer WN, Ekundayo O: **Chemical composition, antimicrobial, and cytotoxicity studies on S. erianthum and S. macranthum essential oils**. *Pharm Biol* 2012, **50**:474–480.
8. Detoni CB, de Oliveira DM, Santo IE, Pedro AS, El-Bacha R, da Silva Velozo E, Ferreira D, Sarmiento B, de Magalhães Cabral-Albuquerque EC: **Evaluation of thermal-oxidative stability and antiglioma activity of Zanthoxylum tingoassuiba essential oil entrapped into multi- and unilamellar liposomes**. *J Liposome Res* 2012, **22**:1–7.
9. Bayala B, Bassole IHN, Gnoula C, Nebie R, Yonli A, Morel L, Figueredo G, Nikiema J-B, Lobaccaro J-MA, Simpore J: **Chemical composition, antioxidant, anti-inflammatory and anti-proliferative activities of essential oils of plants from burkina faso**. *PloS One* 2014, **9**:e92122.

10. Tayeboon GS, Tavakoli F, Hassani S, Khanavi M, Sabzevari O, Ostad SN: **Effects of *Cymbopogon citratus* and *Ferula assa-foetida* extracts on glutamate-induced neurotoxicity.** *In Vitro Cell Dev Biol Anim* 2013, **49**:706–715.
11. Onawunmi GO, Yisak W-A, Ogunlana EO: **Antibacterial constituents in the essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.** *J Ethnopharmacol* 1984, **12**:279–286.
12. Carlini EA, Contar J de DP, Silva-Filho AR, da Silveira-Filho NG, Frochtengarten ML, Bueno OF: **Pharmacology of lemongrass (*Cymbopogon citratus* Stapf). I. Effects of teas prepared from the leaves on laboratory animals.** *J Ethnopharmacol* 1986, **17**:37–64.
13. Sahouo GB, Tonzibo ZF, Boti B, Chopard C, Mahy JP, N'guessan YT: **Anti-inflammatory and analgesic activities: Chemical constituents of essential oils of *Ocimum gratissimum*, *Eucalyptus citriodora* and *Cymbopogon giganteus* inhibited lipxygenase L-1 and cyclooxygenase of PGHS.** *Bull Chem Soc Ethiop* 2003, **17**.
14. Noudogbessi JP, Alitonou GA, Djènonatin T, Avlessi F, Figueredo G, Chalard P, Chalchat JC, Sohounhloue DCK: **Chemical Compositions and Physico-chemical Properties of Three Varieties Essential oils of *Cymbopogon giganteus* Growing to the Spontaneous State in Benin.** *Orient J Chem* 2013, **29**:59–67.
15. Adjanohoun F, Boukef K, Chadaré M, Cusset G, Dramane K, Eymé J, Gassita JN, Gbaguidi N, Goudoté E, Guinko S, Houngnon P, Issa L, Keita A, Kiniffo HV, Koné-Bamba D, MusampaNseyya A, Saadou M, Sdogandji T, de Souza S, Tchabi A, Dossa CZ, Zohoun T: **Médecine traditionnelle et Pharmacopée, Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques en République Populaire du Bénin, ACCT, Paris.** 1989.
16. Kpoviessi S, Bero J, Agbani P, Gbaguidi F, Kpadonou-Kpoviessi B, Sinsin B, Accrombessi G, Frédéric M, Moudachirou M, Quetin-Leclercq J: **Chemical composition, cytotoxicity and in vitro antitrypanosomal and antiplasmodial activity of the essential oils of four *Cymbopogon* species from Benin.** *J Ethnopharmacol* 2014, **151**:652–659.
17. Bassolé IHN, Lamien-Meda A, Bayala B, Obame LC, Ilboudo AJ, Franz C, Novak J, Nebié RC, Dicko MH: **Chemical composition and antimicrobial activity of *Cymbopogon citratus* and *Cymbopogon***

giganteus essential oils alone and in combination. *Phytomedicine Int J Phytother Phytopharm* 2011, **18**:1070–1074.

18. Kumar P, Mishra S, Malik A, Satya S: **Housefly (*Musca domestica* L.) control potential of *Cymbopogon citratus* Stapf. (Poales: Poaceae) essential oil and monoterpenes (citral and 1,8-cineole).** *Parasitol Res* 2013, **112**:69–76.

19. Nonviho G, Wotto VD, Noudogbessi J-P, Avlessi F, Akogbeto M, Sohounhloué DC: **Insecticidal activities of essential oils extracted from three species of poaceae on *Anopheles gambiae* spp, major vector of malaria.** 2010, **4**:411–420.

20. Sinthusiri J, Soonwera M: **Efficacy of herbal essential oils as insecticides against the housefly, *Musca domestica* L.** *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2013, **44**:188–196.

21. Santin MR, Santos AO dos, Nakamura CV, Filho BPD, Ferreira ICP, Ueda-Nakamura T: **In vitro activity of the essential oil of *Cymbopogon citratus* and its major component (citral) on *Leishmania amazonensis*.** *Parasitol Res* 2009, **105**:1489–1496.

22. Santoro GF, Cardoso MG, Guimarães LGL, Mendonça LZ, Soares MJ: ***Trypanosoma cruzi*: activity of essential oils from *Achillea millefolium* L., *Syzygium aromaticum* L. and *Ocimum basilicum* L. on epimastigotes and trypomastigotes.** *Exp Parasitol* 2007, **116**:283–290.

23. Stein, S, Mirokhin, D., Tchekhovskoi, D., Mallard, G.: **The NIST Mass Spectral Search Program for the NIST/EPA/NIH Mass Spectra Library; Standard Reference Data Program of the National Institute of Standards and Technology: Gaithersburg, MD, USA.** 2002.

24. Adams RP: **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry.** 2007, Allured Publishing: Carol Stream, IL, USA:804 pp.

25. Martinez-Velazquez M, Castillo-Herrera GA, Rosario-Cruz R, Flores-Fernandez JM, Lopez-Ramirez J, Hernandez-Gutierrez R, Lugo-Cervantes E del C: **Acaricidal effect and chemical composition of essential oils extracted from *Cuminum cyminum*, *Pimenta dioica* and *Ocimum basilicum* against the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae).** *Parasitol Res* 2011, **108**:481–487.

26. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C: **Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay.** *Free Radic Biol Med* 1999, **26**:1231–1237.
27. Lyckander IM, Malterud KE: **Lipophilic flavonoids from *Orthosiphon spicatus* as inhibitors of 15-lipoxygenase.** *Acta Pharm Nord* 1992, **4**:159–166.
28. Horoszewicz JS, Leong SS, Kawinski E, Karr JP, Rosenthal H, Chu TM, Mirand EA, Murphy GP: **LNCaP model of human prostatic carcinoma.** *Cancer Res* 1983, **43**:1809–1818.
29. Kaighn ME, Narayan KS, Ohnuki Y, Lechner JF, Jones LW: **Establishment and characterization of a human prostatic carcinoma cell line (PC-3).** *Invest Urol* 1979, **17**:16–23.
30. Dufour J, Pommier A, Alves G, De Boussac H, Lours-Calet C, Volle DH, Lobaccaro J-MA, Baron S: **Lack of liver X receptors leads to cell proliferation in a model of mouse dorsal prostate epithelial cell.** *PloS One* 2013, **8**:e58876.
31. Pei R-S, Zhou F, Ji B-P, Xu J: **Evaluation of combined antibacterial effects of eugenol, cinnamaldehyde, thymol, and carvacrol against *E. coli* with an improved method.** *J Food Sci* 2009, **74**:M379–383.
32. Gbenou JD, Ahounou JF, Akakpo HB, Laleye A, Yayi E, Gbaguidi F, Baba-Moussa L, Darboux R, Dansou P, Moudachirou M, Kotchoni SO: **Phytochemical composition of *Cymbopogon citratus* and *Eucalyptus citriodora* essential oils and their anti-inflammatory and analgesic properties on Wistar rats.** *Mol Biol Rep* 2013, **40**:1127–1134.
33. Bossou AD, Mangelinckx S, Yedomonhan H, Boko PM, Akogbeto MC, De Kimpe N, Avlessi F, Sohounhloue DCK: **Chemical composition and insecticidal activity of plant essential oils from Benin against *Anopheles gambiae* (Giles).** *Parasit Vectors* 2013, **6**:337.
34. Sonker N, Pandey AK, Singh P, Tripathi N n.: **Assessment of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf Essential Oil as Herbal Preservatives Based on Antifungal, Antiaflatoxin, and Antiochratoxin Activities and In Vivo Efficacy during Storage.** *J Food Sci* 2014:n/a–n/a.

35. Gobbo-Neto L, Lopes NP: **Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários.** *Quím Nova* 2007, **30**:374.
36. Bicas JL, Neri-Numa IA, Ruiz ALTG, De Carvalho JE, Pastore GM: **Evaluation of the antioxidant and antiproliferative potential of bioflavors.** *Food Chem Toxicol Int J Publ Br Ind Biol Res Assoc* 2011, **49**:1610–1615.
37. Miguel MG: **Antioxidant activity of medicinal and aromatic plants. A review.** *Flavour Fragr J* 2010, **25**:291–312.
38. Dar MY, Shah WA, Rather MA, Qurishi Y, Hamid A, Qurishi MA: **Chemical composition, in vitro cytotoxic and antioxidant activities of the essential oil and major constituents of Cymbopogon jawarancusa (Kashmir).** *Food Chem* 2011, **129**:1606–1611.
39. D' Alessio PA, Bisson J-F, Béné MC: **Anti-Stress Effects of d-Limonene and Its Metabolite Perillyl Alcohol.** *Rejuvenation Res* 2014, **17**:145–149.
40. Prior RL, Wu X, Schaich K: **Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements.** *J Agric Food Chem* 2005, **53**:4290–4302.
41. Soares DG, Andreazza AC, Salvador M: **Sequestering ability of butylated hydroxytoluene, propyl gallate, resveratrol, and vitamins C and E against ABTS, DPPH, and hydroxyl free radicals in chemical and biological systems.** *J Agric Food Chem* 2003, **51**:1077–1080.
42. Yu L, Haley S, Perret J, Harris M, Wilson J, Qian M: **Free Radical Scavenging Properties of Wheat Extracts.** *J Agric Food Chem* 2002, **50**:1619–1624.
43. De Cássia da Silveira e Sá R, Andrade LN, de Sousa DP: **A review on anti-inflammatory activity of monoterpenes.** *Mol Basel Switz* 2013, **18**:1227–1254.
44. Samuelsson B, Dahlén SE, Lindgren JA, Rouzer CA, Serhan CN: **Leukotrienes and lipoxins: structures, biosynthesis, and biological effects.** *Science* 1987, **237**:1171–1176.

45. Pidgeon GP, Kandouz M, Meram A, Honn KV: **Mechanisms controlling cell cycle arrest and induction of apoptosis after 12-lipoxygenase inhibition in prostate cancer cells.** *Cancer Res* 2002, **62**:2721–2727.
46. Gupta S, Srivastava M, Ahmad N, Sakamoto K, Bostwick DG, Mukhtar H: **Lipoxygenase-5 is overexpressed in prostate adenocarcinoma.** *Cancer* 2001, **91**:737–743.
47. Gad-Shayne C: **Alternatives to in Vivo Studies in Toxicology.** In: Balantyne B., Marrs T., Syversen T., Editors. *General and Applied Toxicology. Vol. 1. USA: Grove's Dictionari's Inc.* 1999.
48. Hussain AI, Anwar F, Chatha SAS, Jabbar A, Mahboob S, Nigam PS: **Rosmarinus officinalis essential oil: antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities.** *Braz J Microbiol* 2010, **41**:1070–1078.
49. Boik J: **Natural Compounds in Cancer Therapy.** Oregon Medical Press Minnesota; 2001.
50. Newell DR: **How to develop a successful cancer drug--molecules to medicines or targets to treatments?** *Eur J Cancer Oxf Engl* 1990 2005, **41**:676–682.

Table 1. Chemical composition of essential oils of *C. giganteus* and *C. citratus*

Compounds	Retention time (min)	<i>C. citratus</i>	<i>C. giganteus</i>
		Percentage (%)	Percentage (%)
Alpha pinene	10,52	---	0.13
Camphene	12.12	---	0.11
6-Methyl-5-Hepten-2-one	12.434	0.90	---
Myrcene	12.56	5.37	0.15
Menthatriene-1 ,3,8-para	13.09	---	0.37
Para-Cymene	13.76	---	0.82
Limonene	13.95	---	19.33
Eucalyptol	14.06	0.16	1.16
Para-cymenene	15.94	---	0.40
Perillene	16,15	0.16	---
Linalool	16.26	0.70	1.39
Mentha-2,8-Diene-1-ol trans-para	17.00	---	13.91
Cis-limonene oxide	17.29	---	0.12
Mentha-2,8-Diene-1-ol cis-para	17.44	---	8.10
Camphre	17.76	---	0.37
citronellal	17.815	0.12	---
Trans limonene oxide	17.85	---	0.01
Verbenol trans	18.08	0.51	---
Isogeranial	18,63	1.07	---
Mentha-1(7),8-dien-2-ol cis	18.99	---	17.34
Cis Dihydrocarvone	19.26	---	0.32
MW 152 (unidentified)	19.32	---	4.97
Trans Dihydrocarvone	19.45	---	0.20
4-Caranone cis	19.51	---	2.32
MW 152 isomer (unidentified)	19.83	---	4.70
Citronellol	19.930	0.14	---
Mentha-1(7),8-dien-2-ol trans	20.18	---	13.95
Neral	20,38	34.37	---
Carvone	20.57	---	3.18
Geraniol	20.656	3.27	---
Geranial	21.223	48.18	---
Bornyl acetate	21.64	---	0.23
Geranyl formate	21.919	0.09	---
neric acid	23.327	0.86	---
Geranyl acetate	23.988	0.43	---
β -caryophyllene	25.15	---	0.35
α -bergamotene trans	25.43	---	0.45
α -cubebene	25.61	---	0.14
Aromadendrene	26.13	---	0.14
α -farnesene	26.78	---	0.18
Viridiflorene	26.86	---	0.07
Bicyclogermacrene	26.97	---	0.17

Spathulenol	28.88	---	0.10
Caryophyllene oxide	29.02	---	0.15
Epi globulol	29.29	---	0.14
TOTAL	96.33	95.47	
Monoterpenes hydrocarbon	5.53	21.31	
Monoterpene alcohol	4.62	54.69	
Monoterpene aldehyde	83.74	0.00	
Monoterpenes ketone	0.00	6.39	
Monoterpenes ether	0.68	1.39	
others	1.76	11.69*	

*, Value consists mainly of MW 152 (4.97%) and MW 152 isomer (4.70%) unidentified compounds

Table 2. Antioxidant and anti-inflammatory activities of the essential oils *C. giganteus* and *C. citratus*

	Antioxidant Activity			Anti-inflammatory activity	
	DPPH test		ABTS test	Lipoxygenase inhibition	
Essential Oils	Concentration	% Inhibition	μMET/g	% Inhibition	Concentration
<i>C. giganteus</i>	8mg/ml	28,04±2,5 ^B	0,59±0,16 ^A	98,54±4	8 mg/ml
<i>C. citratus</i>	8mg/ml	67,58±3,1 ^A	0,32±0,21 ^B	98,22±3,72	0,8mg/ml

DPPH, (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl); ABTS (2,2'-azinobis-[3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid]);

Values are expressed as mean values ± standard deviation (n = 3 experiments in quadruplicate); DPPH

activities is expressed as inhibitory percentage at and ABTS activities are given in μmol TE/g (10⁻⁶mol

Throlox Equivalent/g of essential oil); value with same letter within each column could be considered as

identical (p<0.05). Concerning the anti-lipoxygenase activity, values are expressed as mean values ±

standard deviation (n = 3 experiments in triplicate); % Percentage.

Table 3. IC₅₀ (µg/ml) of essential oils tested on LNCaP and PC-3 prostate cancer cell lines, and SF-767 and SF-763 glioblastoma cell lines

Essential oils	IC ₅₀ (µg/ml)			
	Prostate cancer		Glioblastoma	
	LNCaP	PC-3	SF-767	SF-763
<i>C. giganteus</i>	160,06±1,16 ^D	303,23±21,5 ^C	255,06±39,5 ^D	217,01±13,6 ^E
<i>C. citratus</i>	6,36±2,7 ^B	32,1±9,1 ^B	45,13±19,3 ^C	172,05±25,6 ^D
<i>C. giganteus</i> + <i>C. citratus</i>	23,67±3,5 ^C	29,02±7,7 ^B	52,76±0,1 ^C	90,5±17,8 ^C
FIC value	3,87	1	1,38	0,94
Interaction	antagonism	addition	indifference	synergism
Compounds				
Citral	4,32±0,1 ^B	14,3±4,2 ^A	22,35±5,02 ^B	35,27±11 ^B
Cisplatin (control)	2,91±0,4 ^A	11,2±1,2 ^A	0,38±0,2 ^A	8,18±2,3 ^A

IC₅₀, Inhibiting Concentration 50; Values are expressed as mean values ±standard deviation (n = 3 experiments in sextuplet); value with same letter within each column could be considered as identical (p<0.05)

Table 4. IC₅₀ (µg/ml) of essential oils tested on LXR +/+ and LXR -/- of MPE

EO and compounds	IC50 (µg/ml)	
	Cells line	
	LXR +/+	LXR -/-
<i>C. citratus</i>	15,02±1,59 ^C	10,43±1,14 ^C
Citral	10,40±2,45 ^B	6,97±1,56 ^B
Cisplatine	4,29±2,29 ^A	1,58±0,6 ^A

IC₅₀, Inhibiting Concentration 50; Values are expressed as mean values ±standard deviation (n = 3 experiments in sextuplet); MPECs, Mouse Prostatic Epithelial Cells ; LXR, Liver X Receptor ; LXR +/+, wild type ; LXR -/-, Double KO ; value with same letter within each column could be considered as identical (p<0.05)

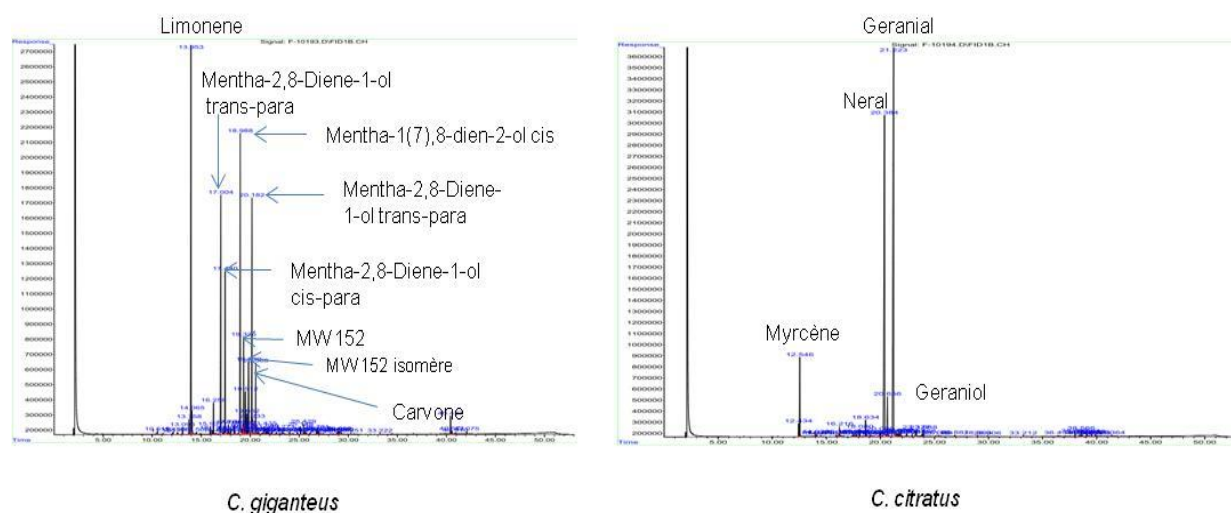


Figure 1. Chromatograms of EOs of *C. giganteus* and *C. citratus* with their major identified compounds.

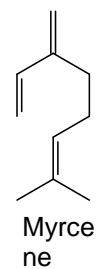
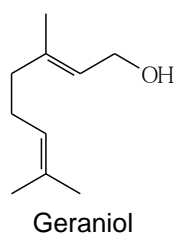
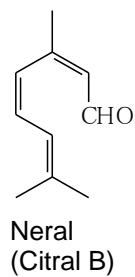
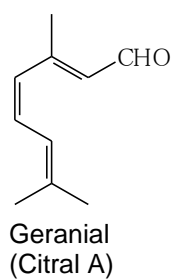
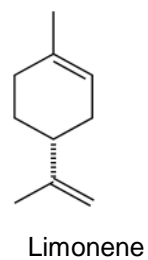
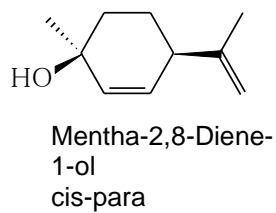
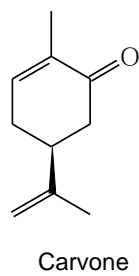
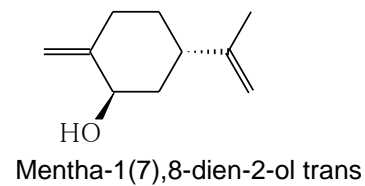
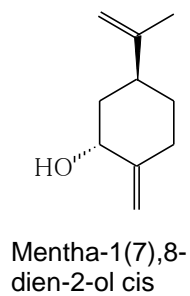
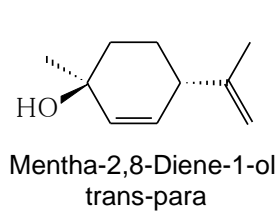


Figure 2. Chemical structures of the major compounds found in the analyzed essential oils.

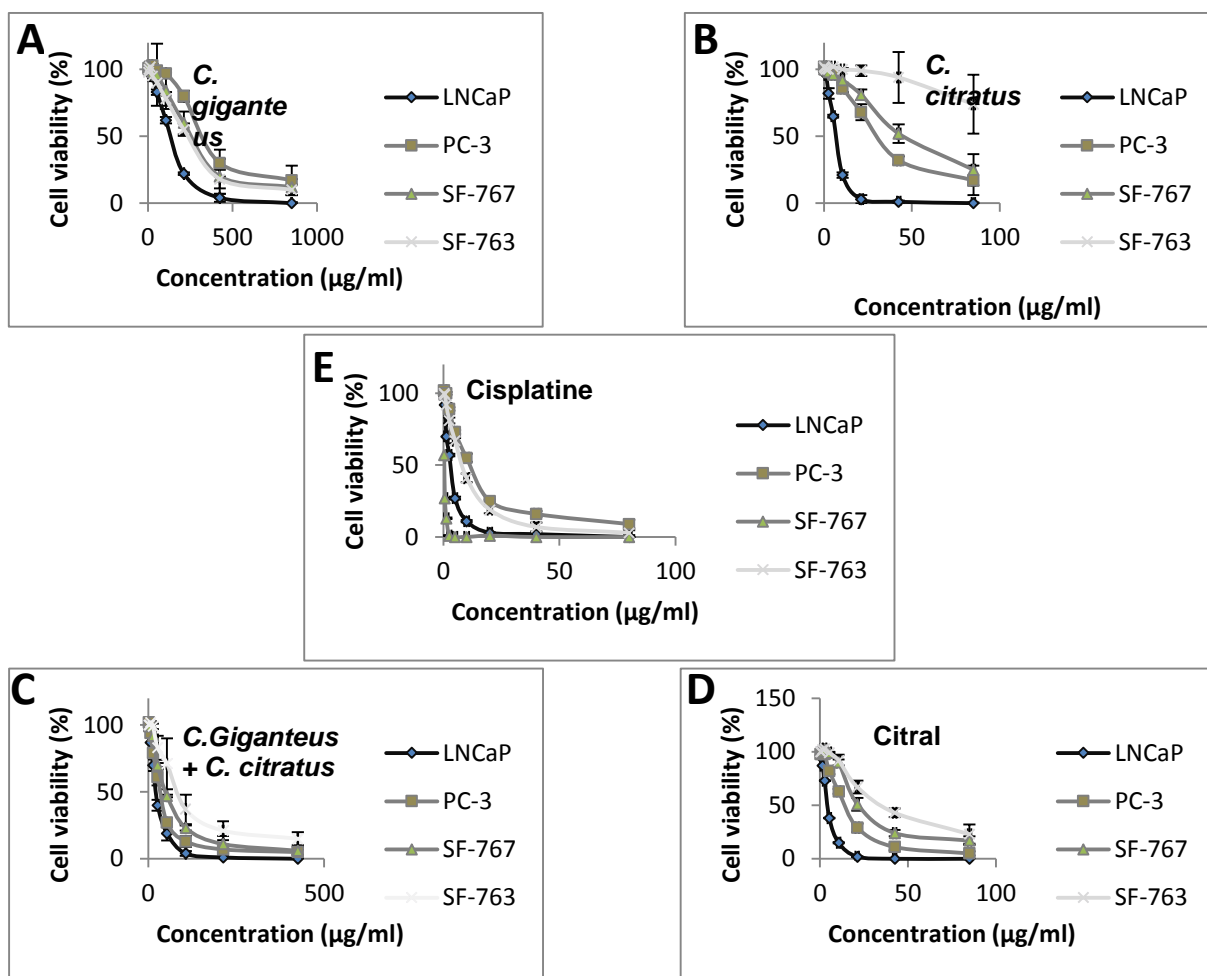


Figure 3. Dose-dependent anti-proliferative activity of EOs of *C. giganteus* (A), *C. citratus* (B), combination of *C. giganteus* and *C. citratus* (C), the major compound Citral of *C. citratus* (D) and a positive control cisplatin (E) after 72 hours of exposure on LNCaP and PC-3 cells line of prostate cancer, and SF-767 and SF-763 cells line of glioblastoma. Experiments were performed 3 times in sextuplicates.

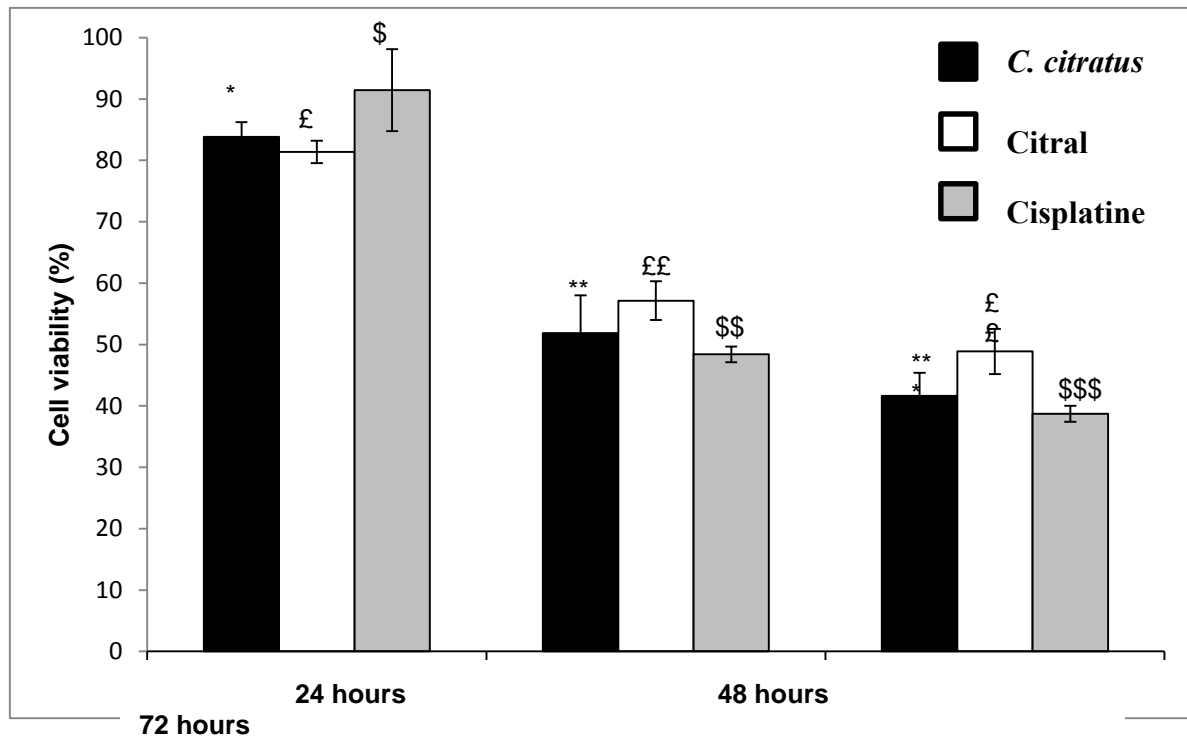


Figure 4. Time-dependent anti-proliferative activity of EOs after 24, 48 and 72 hours of exposure. Cells were incubated at IC₅₀ of *C. citratus*, Citral and Cisplatin on LNCaP cells of prostate cancer; **, ££, \$\$, p<0.05 compared to 24 hrs of treatment; ***, £££, \$\$\$, p<0.05 compared to 48 hrs of treatment. Experiments were performed 3 times in sextuplicates.