RESUME

Ce travail de thèse a été mené afin d'évaluer les propriétés anticancéreuses de plantes médicinales algériennes dans le cadre de la recherche de nouvelles molécules à potentialités anticancéreuses. La première partie du travail a consisté à sélectionner des plantes utilisées en médecine traditionnelle locale afin d'en évaluer le pouvoir cytotoxique potentiel vis-à-vis de lignées de cellules cancéreuses mammaires humaines. Le screening de l'activité anticancéreuse *in vitro* a permis de sélectionner l'extrait de la racine de *Glaucium flavum* (*G. flavum*) qui s'est révélé très actif sur les cellules cancéreuses sans pour cela affecter les cellules normales testées. L'analyse par cytométrie de flux a démontré que l'extrait de la plante induisait un arrêt du cycle cellulaire en phase G2/M avec une surexpression de la protéine antiproliférative p21. Cet arrêt du cycle est suivi par une induction de la mort cellulaire par apoptose. Un test *in vivo* (modèle CAM) a confirmé notre intérêt pour cette plante. En effet, un impact significatif du traitement avec *G. flavum* a été observé sur la croissance tumorale et l'angiogenèse tumorale associée. Au vu de ces résultats prometteurs, cette plante a fait l'objet d'une étude phytochimique approfondie afin d'identifier le(s) alcaloïde(s) responsable(s) de l'effet anti-cancéreux. La deuxième partie du travail présente l'exploration phytochimique de l'extrait de la racine de *G. flavum*. A partir de l'extrait dichlorométhane de la racine, nous avons pu isoler un alcaloïde majoritaire, la protopine. Cependant, la protopine purifiée n'a pas permis de reproduire complètement l'effet anticancéreux de l'extrait alcaloïdique total. Nous avons pu isoler et identifier un deuxième alcaloïde majoritaire de la racine, la bocconoline. Nous avons démontré une activité antiproliférative significative de cette molécule sur la croissance des cellules cancéreuses de manière dose-dépendante (avec une IC_{50} de 7,8 µM) sans pour cela affecter la croissance des cellules non tumorales. La quantification de ces deux alcaloïdes dans *G. flavum* a révélé que la racine contient 0,84% de protopine et 0,07% de bocconoline (m/m), tandis que la partie aérienne ne contient que 0,08% de protopine et pas de bocconoline. Nos résultats ont confirmé que le principal alcaloïde de la partie aérienne de *G. flavum* est la glaucine et nous avons montré pour la première fois que la protopine est le principal alcaloïde de la racine. Enfin, nous sommes les premiers à démontrer que l'effet anticancéreux spécifique de l'extrait de racine de *G. flavum* contre les cellules cancéreuses du sein, peut être attribué, au moins en partie, à la bocconoline.

Mots clés: *Glaucium flavum*, cytotoxicité, cancer du sein, apoptose, cycle cellulaire, phytochimie, protopine, bocconoline, glaucine.

RESUME-ABSTRACT- ملخص

ABSTRACT

This thesis was conducted in order to evaluate the anticancer properties of Algerian medicinal plants and in the framework of the discovery of new molecules with potential anticancer properties. The first part of this work consisted in the selection of specific plants used in local traditional medicine to assess their cytotoxic activity against human breast cancer cells. The screening *in vitro* of anticancer activity, allowed us to select the root extract of *Glaucium flavum* (*G. flavum*), which proved to be very active on breast cancer cells without affecting normal cells. Flow cytometry analysis showed that the plant extract induced a cell cycle arrest in G2/M phase with an overexpression of the antiproliferative protein p21 in cancer cells. The cell cycle arrest was followed by an induction of apoptosis. Then, an *in vivo* test (CAM model) confirmed the anticancer effect of this plant. Indeed, we observed a significant effect of *G. flavum* treatment on tumor growth and tumor-associated angiogenesis. Considering these promising results, this plant has been subjected to a phytochemical investigation to identify phytochemical alkaloids responsible for the anticancer effect. The second part of the work consisted in the phytochemical exploration of *G. flavum* root extract. We isolated the major alkaloid, protopine, from the dichloromethane root extract. However, purified protopine

did not reproduce the full cytotoxic activity of the alkaloid extract on cancer cells. Further, we isolated and purified another major alkaloid of root extract, bocconoline. We demonstrated the significant antiproliferative activity of this molecule on the growth of cancer cells in a dose-dependent manner, with an IC_{50} value of 7.8 µM. Only a low cytotoxic effect was observed against normal human cells. Quantification of alkaloids in *G. flavum* revealed that the root part contained 0.84% of protopine and 0.07% of bocconoline (w/w), while the aerial part contained only 0.08% of protopine and no bocconoline was detected. Our results confirmed that the main alkaloid of *G. flavum* aerial part is glaucine and we report for the first time that protopine is the major root alkaloid. Finally, we are the first to demonstrate a specific anticancer effect of *G. flavum* root extract against breast cancer cells which can be attributed, at least in part, to bocconoline.
Key words: *Glaucium flavum*, cytotoxicity, breast cancer, apoptosis, cell cycle, photochemistry, protopine, bocconoline, glaucine.
RESUME-ABSTRACT- ملخص

ملخص

اكتشاف في إطار المشاركة في وذلك الجزائرية الطبية للنباتات للسرطان مضادة خصائص تقييم أجل من الأطروحة هذه أجريت التقليدي الطب في المستخدمة النباتات تحديد العمل هذا من الأول الجزء يتألف .للسرطان مضادة إمكانيات ذات جديدة جزيئات بتحديد لنا سمح قد المختبر، في التجريبي الفحص .البشرية الثدي سرطان خلايا ضد السامة قدرتهم تقييم أجل من الجزائري وهذا السرطانية الخلايا ضد للغاية نشطة فعالية اثبت والذي لنبات الجذري المستخلص
المرحلة في الخلوية الدورة توقيف إلى يؤدي النباتي المستخلص هذا أن التحاليل أظهرت .السليمة البشرية الخلايا على تأثير أي دون G2/M ، 2 البروتين عن أكثر التعبير مع /P، موت بتحريض الخلوية للدورة التوقيف هذا يتبع كما .الخلوي التكاثر مثبط بروتين نموذج(الحي الجسم في الاختبارات .المبرمج الموت طريق عن الخلايا CAG(الدراسة في عليها المحصل النتائج صحة على أثبت الواعدة النتائج هذه من .النبات بمستخلص التداوى بعد بالورم المرتبطة الدموية الأوعية و الورم نمو على كبير تأثير لحضنا .المخبرية العمل هذا من الثاني الجزء .السرطان ضد الفعال التأثير على المسؤولة القلويدات لتحديد معمقة كميائية لدراسة النبات هذا تعرض ، ، رئيسي قلويد النبات لجذر كلوروميثان ثنائي مستخلص من استخرجنا لقد .للنبات الجذري للمستخلص الكيميائي التركيب يعرض tnopotorp ، أن لوحظ tnopotorp قررنا ذلك على علاوة .السرطانية الخلايا على النباتي للمستخلص الفعال التأثير يجدد لا المنقى ، الجذر لمستخلص آخر رئيسي قلويد وتنقيت عزل
05 قيمة مع بالجرعة، متعلقة بطريقة السرطانية الخلايا ضد المركب لهذا معتبرة سامة قدرة النتائج أظهرت CC 7,8 ب تقدر الجذر مستخلص أن بين النبات في للقلويدات الكمي الكشف .السليمة البشرية الخلايا ضد طفيف سام تأثير أيضا لوحظ كما .ميكرومولر ٪ 5,80 على يحتوي tnopotorp من ٪ 5,57 و eollorocorp) على فقط يحتوي للنبات الهوائي الجزء مستخلص بينما ،)ك2 ك من
من ٪5,58 tnopotorp على احتوائه عدم و eollorocorp.
ل الهوائي للجزء الرئيسي القلويد أن تؤكد نتائجنا *G. flavum* هو glaucine هو للجذر الرئيسي القلويد أن الأولى للمرة بينا و protopine.
إلى ،جزئيا، يعود الثدي سرطان خلايا على النبات جذور لمستخلص الفعال التأثير أن نستنتج النهاية، في bocconoline.
المفتاح كلمات: ، القلويدات النباتية، الكمياء الخلوية، الدورة مبرمج، موت الثدي، سرطان السامة، القدرة ، tnopotorp، eollorocorp ، glaucine.

Glaucium flavum أو (*G. flavum*)
G. flavum
bocconoline.
*Glaucium flavum*__