### MINISTERE DE L'EDUCATION NATIONALE

#### REPUBLIQUE DU MALI

Un Peuple - Un But - Une Foi

UNIVERSITE DE BAMAKO

FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE (FMPOS)

Année universitaire: 2005-2006 N°...

## TITRE:

PHYTOCHIMIE ET ACTIVITES BIOLOGIQUES DE TROIS
PLANTES UTILISEES DANS LE TRAITEMENT TRADITIONNEL
DES INFECTIONS SEXUELLEMENT TRANSMISSIBLES (IST) AU

MALI : Anthocleista djalonensis A. Chev. (Loganiaceae), Erythrina senegalensis DC. (Fabaceae) et Heliotropium indicum L. (Borraginaceae)

## **THESE**

Par Monsieur PATOMO DOMINIQUE ARAMA
Pour obtenir le grade de DOCTEUR en Pharmacie (Diplôme d'Etat)

## **JURY**

Président: Professeur Flabou BOUGOUDOGO

Membres: Professeur Ibrahim I MAÏGA

**Docteur Rokia SANOGO** 

Directeur: Professeur Drissa DIALLO

## FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE ANNEE UNIVERSITAIRE 2005 - 2006

#### **ADMINISTRATION**

**DOYEN: MOUSSA TRAORE - PROFESSEUR** 

1<sup>er</sup>ASSESSEUR : MASSA SANOGO - MAITRE DE CONFERENCES

**2**ème**ASSESSEUR** : **GANGALY DIALLO** - MAITRE DE CONFERENCES AGREGE **SECRETAIRE PRINCIPAL** : **YENIMEGUE ALBERT DEMBELE** - MAITRE DE

CONFERENCES AGREGE

AGENT COMPTABLE: MADAME COULIBALY FATOUMATA TALL-

CONTROLEUR DE FINANCES

#### **PROFESSEURS HONORAIRES**

Mr Alou BA Ophtalmologie

Mr Bocar SALL Orthopédie Traumatologie-Secourisme

Mr Souleymane SANGARE Pneumo- phtisiologie

Mr Yaya FOFANA Hématologie

Mr Mamadou L TRAORE Chirurgie Générale

Mr Balla COULIBALY Pédiatrie

Mr Mamadou KOUMARE Pharmacognosie

Mr Mohamed TOURE Pédiatrie

Mr Ali Nouhoum DIALLO Médecine Interne Mr Aly GUINDO Gastro-Entérologie

#### LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT PAR D.E. R & PAR GRADE

#### D.E.R.CHIRURGIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES

#### 1. PROFESSEURS

Mr Abdel Karim KOUMARE Chirurgie Générale Mr Sambou SOUMARE Chirurgie Générale

Mr Abdou Alassane TOURE Orthopédie–Traumatologie. **Chef de D.E.R** 

Mr Kalilou OUTTARA Urologie

Mr Amadou DOLO Gynéco-Obstétrique

Mr Alhousseini Ag MOHAMED O.R.L.

#### 2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Abdoulaye DIALLO

Mr Djibril SANGARE

Mr Abdel Kader TRAORE Dit DIOP

Mr Abdoulaye DIALLO

Mr Gangaly DIALLO

Chirurgie Générale

Anesthésie- Réanimation

Chirurgie viscérale

#### 3. MAITRES DE CONFERENCES

Mme SY Aïda SOWGynéco-ObstétriqueMr Salif DIAKITEGynéco-ObstétriqueMr Filifing SISSOKOChirurgie Générale

Mr Sekou SIDIBE Orthopédie – Traumatologie
Mr Abdoulaye DIALLO Anesthésie - Réanimation
Mr Tiéman COULIBALY Orthopédie – Traumatologie

Mme TRAORE J. THOMAS Ophtalmologie

#### 4. MAITRES ASSISTANTS

Mme DIALLO Fatimata S. DIABATE Gynéco-Obstétrique

Mr Sadio YENA Chirurgie Générale et Traumatologie

Mr Issa DIARRA Gynéco-obstétrique Mr Youssouf COULIBALY Anesthésie -Réanimation

Mr Samba Karim TIMBO ORL
Mme TOGOLA Fanta KONIPO ORL

Mr Zimogo Zié SANOGO Chirurgie Générale

#### 5. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Mme Diénéba DOUMBIA Anesthésie-Réanimation

Mr Mamadou L. DIOBANA Stomatologie

Mr Nouhoum ONGOIBA Anatomie & Chirurgie Générale

Mr Zanafon OUATTARA Urologie

Mr Adama SANGARE Orthopédie-Traumatologie

Mr Sanoussi BAMANI Ophtalmologie
Mr Doulaye SACKO Ophtalmologie

Mr Ibrahim ALWATA Orthopédie- Traumatologie

Mr Lamine TRAORE Ophtalmologie

Mr Mady MAKALOU Orthopédie-Traumatologie

Mr Aly TEMBELY Urologie

Mr Niani MOUNKORO Gynécologie-Obstétrique

Mr Tiemoko D. COULIBALY Odontologie Mr Souleymane TOGORA Odontologie

Mr Mohamed KEITA ORL

#### **D.E.R DES SCIENCES FONDAMENTALES**

#### 1. PROFESSEURS

Mr Daouda DIALLO Chimie Générale & Minérale

Mr Siné BAYO Anatomie-Pathologie-Histoemryologie

Mr Amadou DIALLO Biologie

Mr Moussa HARAMA Chimie Organique
Mr Ogobara DOUMBO Parasitologie- Mycologie

#### 2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Yénimégué Albert DEMBELE Chimie Organique

Mr Anatole TOUNKARA Immunologie Chef de D.E.R

Mr Amadou TOURE Histoembryologie
Mr Flabou BOUGOUDOGO Bactériologie-Virologie

Mr Amagana DOLO Parasitologie

#### 3. MAITRES DE CONFERNCES

Mr Bakary M. CISSE

Mr Abdourahamane S. MAIGA

Parasitologie

Mr Adama DIARRA

Physiologie

Mr Mamadou KONE

Physiologie

Chimic Analytic

Mr Massa SANOGO Chimie Analytique

Mr Mamadou CISSE Biologie

Mr Sekou F.M. TRAORE Entomologie médicale

MR Abdoulaye DABO Malacologie-Biologie animale Mr Ibrahim I. MAIGA Bactériologie - Virologie

#### 4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Abdourahamane TOUNKARA

Mr Moussa Issa DIARRA

Mr Kaourou DOUCOURE

Mr Bouréma KOURIBA

Biochimie

Biophysique

Biologie

Immunologie

Mr Souleymane DIALLO
Mr Cheik Bougadari TRAORE
Mr Lassana DOUMBIA
Mr Mounirou BABY
Mr Mahamadou A. THERA

Bactériologie-Virologie
Anatomie-Pathologie
Chimie Organique
Hématologie
Parasitologie

#### 5. ASSISTANTS

Mr Mangara M. BAGAYOGO
Entomologie Moléculaire Médicale
Mr Guimogo DOLO
Entomologie Moléculaire Médicale
Mr Abdoulaye TOURE
Entomologie moléculaire médicale
Entomologie Moléculaire Médicale

Mr Mouctar DIALLO Biologie parasitologie

Mr Boubacar TRAORE
Mr Bokary Y. SACKO

Biochimie

#### D.E.R. DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

#### 1. PROFESSEURS

Mr Abdoulaye Ag RHALY Médecine Interne
Mr Mamadou K. TOURE Cardiologie
Mr Mahamane MAIGA Néphrologie

Mr Baba KOUMARE Psychiatrie Chef de D.E.R

Mr Moussa TRAORE Neurologie
Mr Issa TRAORE Radiologie

Mr Mamadou M. KEITA Pédiatrie

Mr Hamar A. TRAORE Médecine Interne Mr Dapa Aly DIALLO Hématologie

Mr Moussa Y. MAIGA Gastro-Entérologie-Hépatologie

#### 2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Toumani SIDIBE Pédiatrie

Mr Bah KEITA Pneumo-phtisiologie

Mr Boubacar DIALLO Cardiologie

Mr Somita KEITA Dermato-Léprologie
Mr Abdel Kader TRAORE Médecine Interne
Mr Siaka SIDIBE Radiologie

Mr Mamadou DEMBELE Médecine Interne

#### 3. MAITRES DE CONFERNCES

Mr Mamady KANE Radiologie
Mr Saharé FONGORO Néphrologie
Mr Bakoroba COULIBALY Psychiatrie

#### 4. MAITRES ASSISSTANTS

Mme Tatiana KEITAPédiatrieMme TRAORE Mariam SYLLAPédiatrieMr Adama D. KEITARadiologieMme SIDIBE Assa TRAOREEndocrinologieMme Habibatou DIAWARADermatologie

Daouda K. MINTA Maladies Infectieuses

#### 5. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Mr Bou DIABATE Psychiatrie

Mr Bougouzié SANOGOGastro-entérologieMr Kassoum SANOGOCardiologieMr Seydou DIAKITECardiologieMr Mahamadou B.CISSEPédiatrieMr Arouna TOGORAPsychiatrie

Mme DIARRA Assétou SOUCKO Médecine Interne

Mr Boubacar TOGOPédiatrieMr Mahamadou TOURERadiologieMr Idrissa A CISSEDermatologieMr Mamadou B DIARRACardiologie

Mr Anselme KONATE Hépato-Gastro - Entérologie Mr Moussa T. DIARRA Hépato-Gastro-Entérologie

Mr Souleymane DIALLO Pneumologie
Mr Souleymane COULIBALY Psychologie

Mr Soungalo DAO Maladies Infectieuses

Mr Cheick Oumar GUINTO Néphrologie

#### **D.E.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES**

1. PROFESSEURS

Mr Boubacar Sidiki CISSE Toxicologie

Mr Gaoussou KANOUTE Chimie analytique, **Chef de D.E.R** 

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Ousmane DOUMBIA Pharmacie Chimique Mr Drissa DIALLO Matières Médicales

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Boulkassoum HAIDARA Législation
Mr Elimane MARIKO Pharmacologie

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Bénoit KOUMARE Chimie Analytique

Mr Alou KEITA Galénique
Mr Ababacar I. MAIGA Toxicologie
Mr Yaya KANE Galénique
Mme Rokia SANOGO Phamacognosie

5. ASSISTANTS

Mr Saïbou MAIGA Législation

Mr Ousmane KOITA Parasitologie Moléculaire

#### **D.E.R. DE SANTE PUBBLIQUE**

1. PROFESSEUR

Mr Sidi Yaya SIMAGA Santé Publique, Chef de D.E.R

2. MAITRE CONFERENCES AGREGE

Mr Moussa A MAIGA Santé Publique

3. MAITRE DE CONFERENCES

Mr Sanoussi KONATE Santé Publique

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Bocar G.TOURE

Mr Adama DIAWARA

Mr Hamadoun SANGHO

Mr Massambou SACKO

Mr Alassane A. DICKO

Santé Publique

Santé Publique

Santé Publique

Santé Publique

Santé Publique

5. ASSISTANTS

Mr Samba DIOP Anthropologie Médicale

Mr Seydou DOUMBIA Epidémiologie Mr Oumar THIERO Biostatistique

#### **CHARGES DE COURS & ENSEIGNANTS VACATAIRES**

Mr N'Golo DIARRA

Mr Bouba DIARRA

Bactériologie

Mr Salikou SANOGO

Mr Boubacar KANTE

Mr souleymane GUINDO

Gestion

Mr Souleymane GUINDO

Mme DEMBELE Sira DIARRA Mathématiques

Mr Modibo DIARRA Nutrition

Mme MAIGA Fatoumata SOKONA Hygiène du Milieu

Mr Mahamadou TRAORE Génétique Mr Yaya COULIBALY Législation

#### **ENSEIGNANTS EN MISSION**

Pr. Doudou BA

Pr. Babacar FAYE

Pr. Eric PICHARD

Pr. Mounirou CISS

Hydrologia

Hydrologia

Pr. Mounirou CISS Hydrologie
Pr. Amadou Papa DIOP Biochimie

#### **DEDICACES**

#### Au Seigneur

Le Seigneur est ma lumière et mon sauveur ;

Le protecteur de ma vie, c'est le Seigneur.

J'ai le cœur plein de joie, l'âme en fête;

Avec le Seigneur je suis en sécurité parfaite.

Je remercie le Seigneur qui me conseille ;

De tout cœur, je veux Le louer et raconter Ses merveilles.

Extraits des Psaumes 9, 16 et 27

#### A mes grand-parents (in memoriam)

#### A mon cher Père, Ené Augustin

Te dire merci, je veux en ce jour,

Mot que j'ai voulu ignorer toujours;

Car me disais-je en toute confiance,

La meilleure façon de te dire merci pour ce que tu fais,

Est de réussir, tel est ton vœu au fait ;

Aussi me suis-je modestement évertué à te réjouir en silence.

Ce travail, Père, est le fruit de tes efforts de chaque jour,

Puisse-tu en être fier soit-il aussi modeste,

Daigne le recevoir comme source de béatitude.

Que te dire véritablement en ce jour

Sinon exprimer par le mot « merci » toute ma gratitude

Un mot qui me vient du fond du cœur, pas seulement de la tête.

#### A ma chère Mère, Assa Hortense Damango (in memoriam)

Certes ta présence ce jour, aurait rempli de joie nos cœurs,

Cependant ils ne sont pas vides, car en nous tu vis.

Pleurer ce jour, nous n'en sommes pas capables ;

Au contraire, pour tout, avec allégresse nous te remercions en chœur.

Conseils, bénédictions, sympathie et amour pour nous, ont marqué ta vie.

Puisse ce travail témoigner de l'importance inestimable,

Que nous accordons sans cesse à tes désirs.

Puisse le Seigneur, dans son Royaume, t'accueillir.

#### Repose en paix « maman »

#### A mon cher Frère, Louis (in memoriam)

Très tôt, le Seigneur à notre affection, t'a arraché;

Que tu sois parmi nous ce jour, nous aurions tant souhaité.

Mais le Seigneur en a décidé autrement et nous respectons Sa volonté ;

Sache, cher Frère, que nous te sommes très attachés.

#### Repose en paix « frère »

#### A ma chère Tante, Bintou Garango

Le plaisir est pour nous, de vous témoigner de notre profonde gratitude.

Vous nous avez permis de nous défaire efficacement,

Du poids de la douleur engendrée par la perte de notre chère maman.

Amour, simplicité, humilité, soucis de bien éduquer et patience,

Ne sont qu'une infime partie de vos vertus, lesquelles ont changé notre attitude.

Trouvez ici « chère Tante », l'expression de notre très sincère reconnaissance.

#### A mes frères et sœurs

Ne pensez pas que Père trop vous demande

Quand il vous dit de bien travailler chaque fois.

Ne vous lassez pas d'accomplir le travail bien fait, telle est ma demande;

Puisse ce travail vous servir d'exemple. Courage! Pensez-y maintes fois.

## A toutes les victimes d'Infections Sexuellement Transmissibles particulièrement du VIH/SIDA.

#### **REMERCIEMENTS**

#### A mon cher oncle Hassana Arama

Cher oncle, je ne pense pas qu'il me soit possible de vous exprimer réellement ce que je ressens en ce jour. Pour toutes ces années de sacrifices, pour votre soutien de toute nature, recevez ma très profonde gratitude.

#### A toutes mes tantes et à tous mes oncles

Merci pour tout.

#### A mes cousins et cousines

A mes maîtres des écoles fondamentale et secondaire

#### A mes Professeurs de la FMPOS

Au personnel du Département Médecine Traditionnelle : avec vous j'étais en famille ; merci pour vos conseils de tous les jours.

Au personnel de l'INRSP: vous êtes mes tantes et mes oncles, merci pour votre humanisme.

A mes camarades internes au laboratoire de biologie médicale de l'INRSP : Sékou Coulibaly, Sétié Coulibaly, Tiémoko Kanté, Lamine Labasse Keïta, Souleymane Sanogo.

#### A mes aînés

Docteurs Charles Arama, Honoré A.A. Somboro, Jean-martin A. Somboro, Bokary Somboro, Clément A. Banou, Oumar Kassogué, Adiaratou Togola, Binta Timbo, Sory Abdrahamane Diallo, Boubacar Souley Amadou, Fatoumata Ouattara, Jean-Paul Dembélé, Benoît Dembélé, Nadège et leurs camarades de promotion.

Merci pour vos précieux conseils.

#### A mes camarades internes au DMT

Sidibé Oumar, Traoré Mariam Cheick, Guindo Issiaka, Ba Sira Yaya, Diarra Yacouba, Mme Diarra Mamou Diabaté, Siabana Abdoulaye, Sambo Halima Moumouni, Daddy Saadatou M., Niaré Aminata, Ali Kalilou Mahamane dit Boulo, Tall Mariam Coumbo, Denou Adama.

A mes camarades des écoles fondamentales et secondaires.

#### A mes camarades de promotion de la FMPOS

Pour ces années de travail, pour tous les moments de joie et de peine.

Puisse le Seigneur nous permettre d'œuvrer pour le développement, la paix et la santé dans nos différents pays et dans le monde.

**A mes cadets académiques** : Somboro A. Moïse, Guindo Bourèïma, Guindo Ibrahim, Sako Nouhoum, Coulibaly Araba, Mariko Mory E., Bengaly A Chantal, Diallo Coumba, Sanogo Samba et leurs camarades de promotion. Courage et plein de succès.

Au Docteur Aboudou Diallo et au personnel de l'Officine FOTIGUI (Drissa Sangaré, Hainé Magankilé) à Lafiabougou.

La spontanéité avec laquelle vous nous avez admis dans votre officine nous a émerveillé. Vous avez su inculquer en nous les principes du savoir-être. Nous sommes charmés de vous formuler nos sentiments de reconnaissance.

#### Au Groupe « Q » de Ségué.

Unis par ce que nous avons appelé « **classe d'âge** », nous avons partagé et continuons à partager de bons moments. Avec vous j'ai beaucoup appris.

Puisse joie, amour, sincérité, et paix renforcer les liens de fraternité qui nous unissent.

#### A la Communauté Catholique Estudiantine du Point G

« Là où deux ou trois s'assemblent en mon nom, je suis au milieu d'eux » nous dit le Seigneur (*Mt 18, 20*). Bien que petite communauté, marchant avec le Seigneur, nous nous sommes efforcés d'être sel et lumière en milieu estudiantin. Puissions-nous ainsi agir partout où nous serons pour faire de ce monde celui où amour, joie, tolérance, solidarité, justice et paix animeront tous les cœurs. Ainsi soit-il!

#### A Monsieur Fousseyni KONE et famille à LAFIABOUGOU

**Aux familles** ARAMA, DAMANGO, DIALLO, DIARRA, DIAWARA, DIOUNDO, GANA, GARANGO, GOULAKAN, GUINDO, KONE, SANGALA, SANGARE, SIDIBE, SODIO, SOKANDA, SOMBORO, TESSOUGUE, TOGO, TOLOFOUDIE, TRAORE, UROOGON à Bamako, Bandiagara, Bankass, Dobè, Koutiala, Orossogou, Pangadougou, , Sadiola, Ségué, Sévaré, Sinssogou et ailleurs.

**A mes amis** du Bénin, Burkina-Faso, Cameroun, Centrafrique, Côte-d'Ivoire, Gabon, Niger, Mauritanie, Tchad et d'ailleurs.

Que vive l'intégration!

A tous ceux qui de loin ou de près ont contribué à la réalisation de ce travail.

## **MENTION SPECIALE**

A Mon Cher pays le MALI.
A l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP) pour le financement dont nous
avons bénéficié pour la réalisation de ce travail.
A l'Université d'Oslo à travers le projet CNRST – NUFU Plantes Médicinales
Aux missions catholiques de Ségué et Bandiagara
Au Professeur Drissa DIALLO
Au Docteur Rokia SANOGO
Au Docteur Sergio GIANI
Au Docteur Chiaka DIAKITE
Au Docteur Seydou DIARRA (INRSP)
A l'abbé Gérard BLAYAC et à la sœur Julia Immaculada Rodrigo Moro
Aux thérapeutes traditionnels de Siby et environs
Aux populations de Siby et environs

#### **HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY**

A notre Maître et Président de jury,

#### **Professeur Flabou BOUGOUDOGO**

Maître de conférences agrégé de bactériologie - virologie ;

Responsable de l'enseignement de la Bactériologie et de la Virologie à la Faculté de

Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie,

Directeur de l'Institut National de Recherches en Santé Publique.

Cher Maître,

Vous avez accepté malgré vos occupations multiples, de présider ce jury avec spontanéité.

Nous avons apprécié avec une grande attention,

Les cours que vous dispensez avec habileté.

Ce jour est celui où cher Maître, nous voulons humblement,

Vous témoigner de notre vive émotion.

Puisse le Seigneur vous combler de joie abondamment.

A notre Maître et Juge

#### Professeur Ibrahim I. MAÏGA

Maître de conférences de bactériologie - virologie,

Chef de service du laboratoire de biologie médicale de l'Hôpital National du Point G,

Responsable de l'enseignement de la bactériologie et de la virologie à la FMPOS.

Cher Maître, en acceptant de siéger à ce jury, vous nous faites honneur,

Courage, détermination et sens élevé de l'écoute sont vos habitudes.

Que vous dire sinon d'accepter de tout cœur,

En ce jour notre profonde gratitude?

Puisse le Seigneur pérenniser dans Sa grâce,

La collaboration établie entre le DMT et votre service.

#### A notre Maître et Juge

#### Docteur Rokia SANOGO,

Maître Assistante en Pharmacognosie, chargée de l'enseignement de la Pharmacognosie à la FMPOS.

Cher Maître,

Vous nous faites, en siégeant à ce jury, beaucoup d'honneur.

Comment, pour vos précieux conseils, vous remercier chaleureusement?

Sympathie, courage, détermination et simplicité vous caractérisent en chœur.

Nous sommes charmé, ce jour, de vous exprimer notre attachement.

#### A notre Maître et Directeur de thèse

#### **Professeur Drissa DIALLO**

Maître de conférences agrégé de Pharmacognosie,

Responsable de l'enseignement de la Pharmacognosie et de la Phytothérapie à la FMPOS, Chef du Département de Médecine Traditionnelle de l'INRSP.

Encadrer n'est pas une tâche facile, cher professeur;

Lorsqu'on sait qu'il faut gérer talents et faiblesses.

Nous avons, avec intérêt, apprécié votre rigueur.

Que dire d'un homme aussi sympathique, dévoué et disponible sans cesse ?

Saurions-nous trouver les bons qualificatifs dans notre vocabulaire?

Puisse beaucoup bénéficier encore de votre savoir-être et de votre savoir-faire.

#### **ABREVIATIONS**

AcOEt: acétate d'éthyle

ADET : écorces de tronc de Anthocleista djalonensis

ADF: feuilles de Anthocleista djalonensis

ADN: acide désoxyribonucléique

ARN : acide ribonucléique

ARNm : ARN messager

ARNt : ARN de transfert

ARV: antiretroviral

BAW: butanol-acetic acid-water

CCM: chromatographie sur couche mince

CHCl<sub>3</sub>: chloroforme

cm : centimètre

CNAM: centre national d'appui à la lutte contre la maladie

DCM: dichlorométhane

DMT : département médecine traditionnelle

EMB : éosine bleu de méthylène

ESER : écorces de racines de Erythrina senegalensis

ESET : écorces de tronc de Erythrina senegalensis

EtOH: éthanol

FeCl<sub>3</sub>: chlorure ferrique

FMPOS : faculté de médecine, de pharmacie et d'odonto-stomatologie

g : gramme

HCl: acide chlorhydrique

HIPA: parties aériennes de Heliotropium indicum

IFN: interféron

INTI : inhibiteur nucléosidique de la transcriptase inverse

INNTI: inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse

INRSP: institut national de recherches en santé publique

IP: inhibiteur de la protéase

IST: infection sexuellement transmissible

1 : litre

m: mètre

MeOH: méthanol

mg: milligramme

MH: Muëller Hinton

ml: millilitre

mn: minute

mm : millimètre

Mt : Mathieu

nm: nanomètre

OMS : organisation mondiale de la santé

ONUSIDA: programme commun des nations unies sur le VIH/SIDA

Rf: facteur de rétention (rapport frontal)

SIDA: syndrome immunodéficitaire acquis

TNF: tumor necrosis factor

USAID : agence des états - unis pour l'intégration et le développement

VHB: virus de l'hépatite B

VIH: virus de l'immunodéficience humaine

° : degré

°C : degré Celsius

μ: micron

μg: microgramme

μl : microlitre

### TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION		
1.1. Définition		
1.2. Epidémiologie		
1.3. Etiologie 1.4. Modes d'infection		
1.4. Modes d'infection		
1.6. Facteurs de propagation	11 12	
1.7. Diagnostic		
1.8. Traitement		
2. RAPPELS SUR LES ANTIMICROBIENS	13	
2.1. ANTIBIOTIQUES		
2.1.1. Définition		
2.1.2. Mode d'action et classification		
2.1.3. Résistance bactérienne		
2.1.4. Structures chimiques de quelques molécules antibiotiques	14	
2.2. ANTIFONGIQUES		
2.2.1. Définition		
2.2.2. Classification et mode d'action		
2.3. ANTIPARASITAIRES		
2.3.1. Antiprotozoaires		
2.3.2. Antihelminthiques		
2.3.3. Structure chimique d'un antiparasitaire (le métronidazole)	18	
2.4. ANTIVIRAUX		
2.4.1. Mode d'action		
2.4.2. Classification		
2.4.3. Médicaments antiréroviraux		
2.4.4. Structures chimiques de quelques molécules antirétrovirales	20	
2.5. METHODES D'ETUDES DES ANTIMICROBIENS		
2.5.1. Méthode de diffusion		
2.5.2. Méthode de dilution		
2.6. QUELQUES PLANTES ANTIMICROBIENNES	21 <b>21</b>	
3. ANTIOXYDANTS	22	

4. MONOGRAPHIE DES PLANTES	30
4.1. Anthocleista djalonensis A. Chev	
4.2. Erythrina senegalensis DC	33
4.3. Heliotropium indicum L	36
4.4. Quelques molécules isolées des plantes à l'étude	
CHAPITRE II: TRAVAUX PERSO	NNELS
1. METHODOLOGIE	
1.1. Enquête ethnobotanique	
1.2. Etude phytochimique	
1.2.1. Matériels	
1.2.3. Dosages	46
1.2.4. Extractions	
1.2.5. Chromatographie	
1.3. Détermination des activités biologiques	54
1.3.1. Activité antioxydante	
1.3.2. Activité antibactérienne	
1.3.3. Activité antifongique	36
2. RESULTATS	
2.1. Enquête ethnobotanique	61
2.2. Phytochimie	64
2.2.1. Matériels	
2.2.2. Réactions de caractérisations	
2.2.3. Dosages	65
2.2.4. Extractions	66
2.2.5. Chromatographie	70
2.3. Tests biologiques	
2.3.1. Activité antioxydante	76
2.3.2. Activité antifongique	79
2.3.3. Activité antibactérienne	81
3. ANALYSES ET DISCUSSIONS	84
4. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS	89
5. ANNEXES	92
6. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	102
7. FICHE SIGNALETIQUE	110
8. RESUME	110

# INTRODUCTION

## **INTRODUCTION**

Les infections sexuellement transmissibles (IST) sont des maladies infectieuses provoquées par des bactéries, des virus, des champignons ou des parasites et dont la transmission est habituellement sexuelle (rapports sexuels non protégés).

Elles représentent un problème majeur de santé publique. On peut les contracter à tous les âges.

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estimait à 340 millions le nombre de nouveaux cas annuels d'IST autres que le VIH/SIDA dans le monde en 1995.

Au MALI, 7 % des femmes et 3 % des hommes ont déclaré avoir contracté une IST au cours d'une enquête (EDS-III, 2001).

De part le monde 42 millions de personnes environ vivent avec le virus du SIDA avec 16 000 nouvelles contaminations par jour soit une toutes les cinq secondes (ONUSIDA, 2002). En Afrique subsaharienne, 62 % des jeunes âgés de 15 – 24 ans étaient infectés par le VIH en 2003 (Laymond, 2004). A la fin de l'année 2003, on a estimé à 34 – 46 millions le nombre d'adultes et d'enfants vivant avec le VIH/SIDA (OMS, 2004). Chaque jour, 8 000 personnes meurent du SIDA (Laymond, 2004).

Le taux de prévalence au MALI est de 1,7 % (EDS-III, 2001).

Ces indicateurs sont des arguments suffisants pour souligner l'urgence de considérer ces infections comme des problèmes de santé prioritaires (en Afrique notamment), car il est établi de nos jours que la prise en charge correcte des IST permet de réduire de près de 40%, le taux d'infection par le VIH selon l'Agence des Etats-Unis pour le Développement International (*USAID*) et le Projet Santé Familiale et Prévention SIDA (*SFPS*).

Malgré la disponibilité de traitements efficaces contre la plupart des IST, leur incidence tend à augmenter dramatiquement dans de nombreux pays. Ce paradoxe peut s'expliquer par plusieurs facteurs dont la résistance de plus en plus significative des germes aux agents antimicrobiens. Il y a donc un besoin urgent de disposer de nouveaux agents antimicrobiens efficaces dont les toxicités sont déterminées. L'une des perspectives de la recherche de nouvelles molécules actives, est le recours aux plantes utilisées en médecine traditionnelle

dont beaucoup n'ont pas fait l'objet d'investigation, du point de vue de leurs compositions chimiques et de leurs activités pharmacologiques (Blanca et *al.*, 1998).

Depuis très longtemps, l'homme utilise les plantes pour leurs vertus aussi bien médicales qu'alimentaires. Il existe encore de nombreuses essences dont les propriétés médicales restent peu connues. Au Mali, de nombreuses plantes sont populairement utilisées contre diverses affections dont les infections sexuellement transmissibles. Le besoin de vérifier les usages traditionnels de ces plantes en vue d'une éventuelle mise au point de médicaments traditionnels améliorés (MTA), fait l'objet de nombreux travaux au DMT.

C'est ainsi que dans cette étude, des extraits de trois plantes maliennes d'indications diverses en médecine traditionnelle dont les IST, font l'objet d'une étude phytochimique et sont testées pour leur activité contre certains germes incriminés dans les IST. Ces plantes sont :

Anthocleista djalonensis A. Chev. (Loganiaceae), Erythrina senegalensis DC. (Fabaceae), et Heliotropium indicum L. (Borraginaceae)

## **MOTIVATIONS ET OBJECTIFS**

#### **MOTIVATIONS**:

- La volonté de promouvoir et de valoriser la médecine traditionnelle au Mali,
- La volonté de contribuer à la prise en charge des Infections Sexuellement Transmissibles
- L'apparition de la résistance de plus en plus significative des germes aux antimicrobiens,
- La volonté de confirmer ou d'infirmer les usages traditionnels de : *Anthocleista djalonensis, Erythrina senegalensis* et *Heliotropium indicum*.

#### **OBJECTIFS**:

#### Objectif général:

• Etudier la phytochimie et les activités biologiques de : *Anthocleista djalonensis, Erythrina senegalensis et Heliotropium indicum.* 

#### Objectifs spécifiques :

- Identifier les différentes utilisations de : Anthocleista djalonensis, Erythrina senegalensis et Heliotropium indicum en médecine traditionnelle.
- Identifier les groupes chimiques présents dans les feuilles et les écorces de tronc de Anthocleista djalonensis, les écorces de tronc et de racines de Erythrina senegalensis, les parties aériennes de Heliotropium indicum.
- Déterminer les activités antioxydante, antibactérienne et antifongique des extraits de ces plantes.

# TRAVAUX ANTERIEURS

#### 1. RAPPELS SUR LA PATHOLOGIE

#### 1.1. <u>Définition des Infections Sexuellement Transmissibles</u>

Les infections sexuellement transmissibles sont des maladies infectieuses transmises la plupart du temps lors des rapports sexuels non protégés. Elles sont causées par différents microorganismes tels que les virus, les champignons, les parasites et les bactéries (www.sospair.org/defist.htm, 12/11/2005).

#### 1.2. Epidémiologie

Les Infections Sexuellement Transmissibles représentent un problème majeur de santé publique (surtout en zone tropicale). A tous les âges, quels que soient la race, le milieu social, on peut les contracter. Les plus courantes sont la syphilis, la gonococcie, la chlamydiase, la trichomonase, la chancrelle, l'herpès génital, l'hépatite B et l'infection par le VIH.

L'incidence de ces infections tend à augmenter dans de nombreux pays bien que des traitements efficaces soient disponibles. L'extraordinaire mouvement de masse à travers le monde, l'incertitude (pour beaucoup d'IST) de la période d'incubation, l'existence de formes asymptomatiques, le changement des habitudes sexuelles, la résistance des germes aux antimicrobiens peuvent expliquer ce paradoxe.

En ce qui concerne les IST autres que le VIH/SIDA, l'OMS estime à environ 340 millions le nombre de nouveaux cas annuels survenant chez les femmes et les hommes âgés de 15-49 ans dans le monde. Cette prévalence est dix fois supérieure dans les pays en développement que dans les pays développés (PICHARD et coll., 2002).

Au MALI, 7 % des femmes et 3 % des hommes ont déclaré avoir contracté une IST au cours des douze mois ayant précédé la troisième enquête démographique de santé (EDS-III, 2001). Une étude bactériologique des sécrétions vaginales à l'hôpital national du Point G a donné les taux suivants d'infections : 43 % d'infection à *Gardnerella vaginalis*, 33 % pour *Ureaplasma urealyticum*, 21 % pour *Candida albicans* et 13 % d'infection à *Trichomonas vaginalis* (Bolo Koura, 2004).

L'incidence des IST au Maroc est estimé à six cent mille nouveaux cas par an. Aux USA, trois millions de cas nouveaux de gonococcie sont notés chaque année (Bolo Koura, 2004).

Pour le cas particulier du VIH/SIDA, le nombre de cas de SIDA notifiés par 52 pays d'Afrique en 1992, s'élevait à 144 863 (OMS, 1992). En 2002, 42 millions de personnes vivaient avec le virus du SIDA de par le monde avec 16 000 nouvelles contaminations par jour soit une toutes les cinq secondes (ONUSIDA/OMS, 2002).

L'Afrique représente 11 % de la population mondiale touchée par la pandémie mais concentre les deux tiers des séropositifs de la planète (Laymond, 2004). Selon l'ONUSIDA, on a enregistré pour la seule année 2003, 5 millions d'infection nouvelles en Afrique subsaharienne (OMS, 2004). Pour la même année, en Afrique du Nord et au Moyen Orient, 470 000 à 700 000 adultes et enfants étaient infectés par le VIH selon le rapport de l'ONUSIDA (OMS, 2004). Des antiretroviraux se sont montrés efficaces dans l'amélioration de la qualité de vie des patients. Cependant peu de malades en ont accès. Seulement 300 000 malades du monde ont accès aux anti-rétroviraux dont 50 000 en Afrique subsaharienne (Laymond, 2004).

Au MALI, la troisième enquête démographique de santé a signalé en 2001, un taux de séroprévalence de 1,7 % dont 2 % chez les femmes âgées de 15-49 ans contre 1,3 % chez les hommes de 15-59 ans (EDS-III, 2001).

#### 1.3. Etiologie

Les IST sont d'origines diverses.

□ <u>Causes bactériennes</u>: Chlamydia trachomatis, Gardnerella vaginalis, Haemophilus ducreyi, Neisseria gonorrhoeae, Treponema pallidum, Ureaplasma urealyticum sont les principales bactéries en cause.

Chlamydia trachomatis est responsable de lymphogranulome vénérien, Gardnerella vaginalis de vaginite, Haemophilus ducreyi de chancre mou, Neisseria gonorrhoeae d'urétrite, Treponema pallidum de syphilis, Ureaplasma urealyticum de vulvite ou de cervicite.

#### Caractères de quelques bactéries :

#### > Neisseria gonorrhoeae

Germe hôte des muqueuses des voies génitales de l'homme et de la femme, il se présente sous forme de cocci à gram négatif en diplocoques accolés par une face plane. Il est l'agent responsable de la gonococcie et reste à l'origine de complications graves, notamment chez la femme. Les porteurs asymptomatiques sont féminins, le réservoir de germe est l'homme. Le contact sexuel est la voie la plus fréquente de transmission du gonocoque. La gonococcie ne laisse pas d'immunité et les réinfections sont fréquentes. Des problèmes de choix thérapeutiques sont notés du fait de fréquentes résistances aux antibiotiques.

Le diagnostic biologique est essentiellement direct, reposant sur la mise en évidence du germe et / ou de ses constituants.

#### > Treponema pallidum

Bactérie fine, hélicoïdale à spires serrées, appartenant à la famille des *Spirochaetaceae*, elle est non cultivable et non colorée par la technique de Gram. Le diagnostic est essentiellement sérologique. Le diagnostic direct consiste à faire une observation au moyen d'un microscope équipé d'un condensateur à fond noir.

#### Gardnerella vaginalis (Siboulet et al. 1984)

C'est une bactérie Gram négatif en forme de bâtonnet (ou Gram positif faible), parfois polymorphe, immobile et non capsulée. Elle est retrouvée au niveau du col chez les femmes ayant une vaginite et dans les sécrétions urétrales chez les hommes atteints de prostatite avec ou sans urétrite.

Le diagnostic repose sur l'examen microscopique. A l'état frais et après coloration de Gram, on observe des « *clue-cells* ». Le germe pousse bien sur gélose au sang cuit, en anaérobiose sous atmosphère de 10 % de CO<sub>2</sub>.

#### ➤ Chlamydia trachomatis

C'est une bactérie intracellulaire obligatoire de petite taille dont la structure rappelle celle des bactéries à Gram négatif. Elle entraîne chez l'homme une urétrite mucopurulente pouvant se compliquer d'épididymite. Chez la femme, il s'agit d'une cervicite limitée à l'endocol pouvant s'accompagner d'un syndrome urétral.

Le diagnostic direct se fait sur des prélèvements riches en cellules épithéliales obtenus par grattage des muqueuses.

Chez l'homme, le prélèvement de choix est endo-urétral ; on peut cependant utiliser un prélèvement rectal, la sécrétion prostatique ou le sperme. Chez la femme, il est réalisé au niveau de l'endocol car les cellules du vagin ne sont pas réceptrices à *C. trachomatis*.

Le diagnostic indirect est très utile. La méthode de choix est la réaction de microimmunofluorescence.

#### > Ureaplasma urealyticum

C'est une bactérie de très petite taille (0.3-0.8 µ) dépourvue de paroi et ayant un métabolisme anaérobie facultatif. Elle est responsable d'urétrite (non gonococcique) dans 15% des cas chez les hommes et, chez les femmes, de leucorrhées peu abondantes avec métrite, parfois cystite et salpingite aiguë.

#### ➤ Haemophilus ducreyi

Petit bacille à Gram négatif disposé en chaîne à l'examen direct, il est l'agent causal du chancre mou.

Le diagnostic bactériologique est délicat non seulement parce que la bactérie est exigeante en facteurs de croissance et ne se cultive qu'à basse température, mais surtout parce qu'il existe de nombreux contaminants dans le prélèvement.

<u>Causes fongiques</u>: les principaux champignons en cause appartiennent au genre *Candida*, en l'occurrence *Candida albicans* responsable de vulvo-vaginite.

#### Caractères de Candida albicans:

C'est un champignon de la famille des levures, appartenant au sous-groupe des *Cryptococcoidae*. Habituellement saprophyte du tube digestif et des cavités naturelles, c'est l'espèce la plus fréquemment rencontrée dans les infections uro-génitales.

<u>Causes parasitaires</u>: *Trichomonas vaginalis* est le principal agent parasitaire et est à l'origine de vulvo-vaginite.

#### Caractères du parasite :

Trichomonas vaginalis est un microorganisme flagellé eucaryote appartenant à la famille des Trichomonadidae, à l'ordre des protozoaires. Il mesure 7-23  $\mu$  de long sur 5-12  $\mu$  de large.

Le diagnostic est essentiellement parasitologique : on procède à la mise en évidence du parasite dans les sécrétions urétro-génitales et aussi à partir du culot de centrifugation urinaire, de la sécrétion du liquide prostatique, du sperme et des sécrétions du sillon balano-préputial. La recherche se fait à l'état frais, après coloration et par la culture.

Causes virales : l'herpès virus (type II), le papillomavirus, le virus de l'hépatite B, le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) sont les principaux virus incriminés. Ils sont à l'origine d'herpès génital, de condylomes vénériens, d'hépatite B ou de SIDA.

#### Caractères de quelques virus :

*▶ Virus de l'hépatite B (VHB)* 

C'est un virus à ADN responsable d'une hépatite à transmission essentiellement sanguine : l'hépatite B. Ce virus, de la famille des *Hepadnaviridae*, peut être transmis par voie sexuelle et aussi de la mère à l'enfant. Il a pour cellules cibles les hépatocytes.

L'infection par le VHB touche le monde entier. Le VHB est retrouvé dans le sang, le sperme, la salive, les sécrétions vaginales, etc.

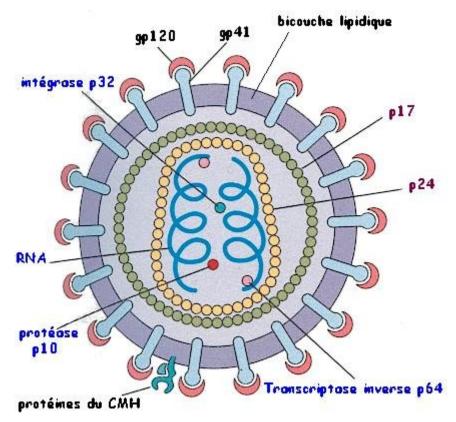
- ➤ Virus de l'immunodéficience humaine (VIH)
- <u>Définition</u>: c'est un rétrovirus de matériel génétique constitué d'acide ribonucléique (ARN), qui possède une enzyme (la transcriptase inverse) qui est une ADN-polymérase. Il mesure 80-120 nm de diamètre. C'est un virus enveloppé de forme sphérique capable

d'attaquer la sous-population des lymphocytes auxiliaires T<sub>4</sub>, indispensables au fonctionnement du système immunitaire, et à un moindre degré aux macrophages.

- <u>Structure organisationnelle</u> (<u>www.inrp.fr/immunologie-sida/lastructuredu vih.html</u>, 16/12/2002):

La structure du VIH comporte :

- une **enveloppe virale** constituée d'une bicouche lipidique et de deux sortes de glycoprotéines : gp120 et gp 41. La molécule gp 41 traverse la bicouche lipidique tandis que la molécule gp120 occupe une position plus périphérique et joue le rôle de récepteur viral de la molécule membranaire CD4 des cellules hôtes. L'enveloppe virale dérive de la cellule hôte ce qui explique sa composition en quelques protéines membranaires de cette dernière, y compris des molécules du CMH.
- un **core viral** ou **nucléocapside**, qui inclut une couche de protéine p17 et une couche plus profonde de protéines p24.
- un **génome** constitué de deux copies d' ARN simple brin associées à deux molécules de transcriptase inverse (p64) et à d'autres protéines enzymatiques (protéase p10 et intégrase p32)



<u>Figure 1</u>: schéma de la structure du VIH (<u>www.inrp.fr/immunologie-sida/lastructuredu</u> <u>vih.html</u>, 16/12/2002)

#### - Cellules cibles :

Toute cellule portant à sa surface la molécule CD4, préférentiellement les lymphocytes CD4+ (mémoires) et les cellules présentatrices d'antigènes (CPA) [ macrophages, monocytes, cellules dendritiques) constituent une cible pour le VIH. Les cellules présentatrices d'antigènes absorbent le virus à leur surface et favorise sa dissémination dans l'organisme (OMS, 2004).

#### - Réplication (OMS, 2004):

Elle se déroule en plusieurs étapes.

La première est la phase de reconnaissance par la protéine virale gp120 d'un récepteur (le CD4) présent à la surface de certaines cellules immunitaires. Une autre protéine, la gp41, provoque par l'intermédiaire de co-récepteurs (-CCR5, CXCR4-), la fusion des enveloppes virales et celles des cellules de l'hôte.

La seconde phase est l'entrée du virus dans la cellule et la libération de l'ARN qui sera transcrit en ADN double brin par la transcriptase inverse.

L'étape suivante est l'intégration de l'ADN viral dans un chromosome grâce à l'intégrase (ligase) puis l'expression à la fois d'un ARN messager (pour la synthèse de nouvelles protéines virales) et d'un ARN génomique (qui sera incorporé dans les nouvelles particules virales produites par la cellule infectée).

#### - Le diagnostic du VIH (OMS, 2004)

Le diagnostic biologique du VIH repose sur la détection des anticorps. On a très souvent recours à des tests de dépistage et à des tests dits de confirmation.

- ➤ <u>Tests de dépistage</u> : deux méthodes très souvent utilisées sont de haute fiabilité : l' ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) et les tests rapides de détection.
- ELISA ou Test immuno-enzymatique : il se réalise de plusieurs manières et consiste en une absorption physique de l'antigène viral sur un support solide (microplaque ou billes de polystyrène). Cinq méthodes ELISA peuvent être citées : ELISA direct et indirect, ELISA de compétition, ELISA sandwich, ELISA immunocapture des anticorps et ELISA combiné antigènes/anticorps.
- Tests rapides : ils permettent de détecter les anticorps anti-VIH en moins de 30 mn et sont réalisés avec les mêmes antigènes que ceux utilisés pour effectuer les tests ELISA.

Tests de confirmation: l'obtention de résultats faussement positifs dans la recherche d'anticorps anti-VIH a nécessité le développement de tests complémentaires plus spécifiques. Nous citerons parmi ces tests, le Western Blot, la radio-immunoprécipitation (RIPA) et l'immunofluorescence indirect. Ces tests sont de nos jours utilisés en cas de résultats indéterminés.

#### Western-Blot (diagnostic intérêt):

Le principe de cette méthode consiste en la séparation des protéines virales par électrophorèse puis en leur transfert sur une membrane de nitrocellulose découpée en bandes longues et étroites. Les sérums à tester sont alors incubés en présence de ces bandelettes et les anticorps éventuels se fixent en fonction de leur spécificité pour les protéines virales.

La présence d'anticorps anti-protéines se traduit par l'apparition de bandes spécifiques colorées en fonction des masses moléculaires des protéines majeures du virus mentionnées ci-dessous :

#### o Protéines majeures du VIH 1 :

→ Gènes ENV : GP 160, GP 110/120, GP 41

**Gènes POL** : P 68 et P 34

**Gènes GAG**: P 55, P 40, P 25, P 18, P 13.

#### o Protéines majeures du VIH 2 :

Gènes ENV : GP 130/140, GP 36

\_\_\_\_ Gènes POL : P 68

→ **Gènes GAG** : P 56, P 26, P 16.

#### 1.4. Modes d'infection

Les principales voies d'infection sont les voies sexuelle et sanguine (sang, produits sanguins et instruments contaminés). Une autre voie de transmission est celle de la mère à l'enfant.

Certaines IST sont de transmission exclusivement sexuelle : c'est le cas de la syphilis, du chancre mou, de la blennorragie ou chaude pisse, de la chlamydiase, des infections à *Ureaplasma urealyticum, Gardnerella vaginalis, Trichomonas vaginalis*.

Les condylomes, les candidoses, l'herpès génital, l'hépatite B et l'infection par le VIH sont de transmission non exclusivement sexuelle.

#### 1. 5. Manifestations cliniques

Les *IST* ont diverses manifestations. Elles peuvent longtemps passer inaperçues, parfois assez bruyantes. Les symptômes peuvent être locaux (écoulement urétral chez l'homme, écoulement ou brûlure vaginale chez la femme) ou généraux en cas d'infection généralisée de

l'organisme (atteinte syphilitique par exemple). On peut noter comme autres signes évocateurs : brûlures mictionnelles, douleurs pelviennes, ulcérations, pertes vaginales (blanchâtres, verdâtres, sanguinolentes, etc.), dyspareunie, lésions diverses génitales ou anales.

L'apparition d'un seul de ces symptômes nécessite l'arrêt immédiat de tout rapport sexuel et une consultation médicale.

#### 1.6. Facteurs de propagation

Les principaux facteurs sont :

- les migrations internes et internationales,
- la précocité de l'activité sexuelle
- le multiparténariat sexuel
- les rapports sexuels non protégés (non utilisation des préservatifs)
- la toxicomanie par voie intraveineuse
- le statut de la femme

#### 1.7. Diagnostic

Délicat pour certains germes (*Haemophilus ducreyi*), le diagnostic se fait de façon directe ou indirecte.

Le diagnostic bactériologique (direct) est basé sur la mise en évidence du germe dans les prélèvements, à l'état frais, après coloration et/ou par la culture.

Le diagnostic sérologique (indirect) est basé sur la recherche d'anticorps.

#### 1.8. Traitement

#### □ Traitement préventif

Le traitement préventif passe avant tout par l'information auprès des médecins, des laboratoires, du personnel paramédical (agents PMI, dispensaire) et du public. Il comporte également:

- L'utilisation systématique et correcte des préservatifs ;
- L'observation des mesures d'hygiène collective et individuelle
- Le changement du statut social de la femme

#### □ Traitement curatif

Les IST (urétrites, cervico-vaginites, etc.) exigent un diagnostic et un traitement précoces pour éviter les complications (prostatites, salpingites, etc.) et pour prévenir la contamination des partenaires sexuels (APPIT, 1995). Le traitement moderne fait appel à de nombreuses molécules antibactériennes, antifongiques, antivirales et anti-parasitaires.

#### 2. RAPPELS SUR LES ANTIMICROBIENS

#### **2.1.** Les antibiotiques (Bryskier A., 1999)

#### 2.1.1. Définition

Les antibiotiques sont *stricto sensu*, des substances capables d'inhiber la croissance et/ou la multiplication des bactéries ou d'entraîner leur mort. Ils ont une activité sélective et spécifique liée à un mécanisme d'action précis.

#### 2.1.2. Mode d'action et classification

Le mécanisme d'action des antibiotiques diffère suivant le groupe auquel ils appartiennent. De nombreux antibiotiques agissent sur la paroi des bactéries, d'autres sur les ribosomes (au niveau des sous-unités 30 S ou 50 S) perturbant la lecture du code génétique, d'autres encore sur la membrane externe (bacilles Gram négatif) et sur la membrane cytoplasmique. Certains inhibent de façon compétitive la formation des métabolites. C'est ainsi que plusieurs groupes d'antibiotiques sont distincts.

#### 2.1.2.1 Antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi bactérienne :

Ce sont les bêta-lactamines : ils agissent sur la transpeptidase, une enzyme nécessaire à la dernière étape de la biosynthèse du peptidoglycane.

Exemples: Pénicilline G, Ampicilline, Amoxicilline, Ceftriaxone, Cefsulodine, Céfotaxime

#### 2.1.2.2. Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des protéines :

Ils entraînent une modification de la conformation ribosomale. Ce sont les aminosides ou aminoglycosides (Amikacine, Gentamicine, Kanamycine, Dibékacine), les macrolides et apparentés (Lincomycine, Erythromycine, Spiramycine, Virginiamycine), le chloramphénicol, les tétracyclines.

#### 2.1.2.3. <u>Inhibiteurs de la biosynthèse des acides nucléiques</u> :

Ce sont les quinolones, les 5-nitro-imidazolés, les rifamycines.

Exemples: Acide nalidixique, Fluméquine, Péfloxacine, Ofloxacine, Nitrofurantoïne.

#### 2.1.2. 4. Antibiotiques modifiant la perméabilité membranaire :

Ce groupe est essentiellement représenté par les antibiotiques polypeptidiques : les polymyxines.

Exemples: Polymyxine B, Colistine

#### 2.1.2.5. Chélateurs d'ions ferriques :

Ce sont des antibiotiques urinaires : les quinoléines

Exemple: Nitroxoline

#### 2.1.2.6. Antimétabolites:

Ce sont les sulfamides, la triméthoprime et leur association.

Exemple : Cotrimoxazole

#### 2.1.3. Résistance bactérienne

Deux types de résistance peuvent être distincts : la résistance naturelle et celle dite acquise.

La résistance naturelle peut être définie comme étant une résistance héréditaire des bactéries à un antibiotique, détectable avant la mise sur le marché de l'antibiotique. Par conséquent, les espèces bactériennes résistantes ne figurent pas dans le spectre d'activité de l'antibiotique.

La résistance acquise d'une espèce bactérienne à un ATB se développe au fur et à mesure que l'ATB est administré. Elle se traduit par une augmentation de la concentration minimale inhibitrice. Dans 10 % des cas, cette résistance acquise est due à des modifications génétiques de la bactérie, alors que dans 90 % des cas cette résistance est due à l'acquisition de plasmides qui sont des molécules d'ADN se trouvant dans le cytoplasme des bactéries. Le transfert des plasmides se fait par conjugaison, par transduction, par mobilisation ou par transformation artificielle. La résistance plasmidique permet à la bactérie d'élaborer des enzymes capables de détruire la molécule d'ATB par exemple des ß lactamases pour les ß lactamines, des adenylases-acetylase-phosphorylases pour les aminosides.

Cette résistance des germes aux ATB explique l'importance de l'antibiogramme qui permet de choisir l'ATB le plus efficace contre d'un germe déterminé et la mise en évidence des germes multirésistants dont la dissémination doit être évitée en milieu hospitalier.

Ampicilline

#### 2.1.4. Structures chimiques de quelques antibiotiques

Triméthoprime

## Erythromycine

$$H_2N$$
  $S$   $H_3C$   $N$   $ONa$   $CH_2-S$   $N$   $ONa$ 

## Ceftriaxone

#### **2.2.** Les antifongiques (Schorderet et coll., 1989)

#### 2.2.1. Définition

Ce sont des substances actives contre les champignons. Elles agissent en détruisant les champignons responsables des mycoses (fongicides) ou en empêchant leur croissance et leur multiplication (fongistatiques).

Les polyènes, la flucytosine (ou 5-FC), les imidazoles et la griséofulvine sont les principaux médicaments antifongiques utilisés.

#### 2.2.2. Classification et mode d'action

#### **2.2.2.1.** <u>Les polyènes</u> :

Ils agissent en augmentant la perméabilité des cellules fongiques par liaison aux stérols membranaires (ergostérol), entraînant ainsi des modifications de la structure pariétale et la perte de matériel cytoplasmique avec lyse de l'organisme fongique.

Exemples : Nystatine, Amphotéricine B

#### 2.2.2.2. La flucytosine:

Encore appelé 5-FC, ce dérivé fluoré de la pyrimidine agit sur les levures par sa transformation en fluorouracil (5-FU) grâce à une enzyme, la cytosine déaminase. Le 5-FU, en interférant avec la synthèse des acides nucléiques, perturbe celle des protéines et provoque la mort de la levure.

#### 2.2.2.3. Les imidazoles :

Ils agissent au niveau des stérols de la membrane des levures, inhibant la biosynthèse de l'ergostérol avec accumulation de lanostérol. Ils sont le plus souvent fongistatiques.

Exemples: éconazole, miconazole, clotrimazole, mébendazole

#### 2.2.2.4. La griséofulvine :

Ce médicament interfère avec la synthèse des acides nucléiques et également avec la formation des parois des hyphes.

#### 2.2.3. Structures chimiques de quelques antifongiques :

Miconazole

#### 2.3. Les antiparasitaires

Ils peuvent être classés en deux grands groupes : les antiprotozoaires et les anthelminthiques.

**2.3.1.** <u>Antiprotozoaires</u> : ils ont divers sites d'action. Certains agissent sur les formes intra érythrocytaires du parasite (quinine, méfloquine, etc.), d'autres agissent sur la structure de l'ADN du parasite (métronidazole), d'autres encore sur les formes tissulaires intra hépatiques et sur les gamétocytes (primaquine).

Le métronidazole est un antiparasitaire qui agit sur la structure de l'ADN de *Trichomonas vaginalis*; très souvent utilisé dans le traitement de la trichomonose uro-génitale, il est contre-indiqué chez la femme enceinte. Le traitement doit être observé simultanément par les partenaires (Fattorusso et Ritter, 1988).

**2.3.2.** <u>Antihelminthiques</u> : ces médicaments agissent soit directement sur le parasite (diloxanide), soit inhibent de nombreuses fonctions enzymatiques chez le parasite (suramine sodique).

Certains modifient la perméabilité de la membrane du parasite (diéthylcarbamazine), d'autres inhibent la phosphorylation de l' ADN du parasite (niclosamide) ou l'absorption du glucose (praziquantel).

#### 2.3.3. Structure chimique du métronidazole:

Métronidazole

#### 2.4. Les antiviraux

#### **2.4.1.** Mode d'action (Schorderet et coll., 1989)

La réplication des virus, bien que liée au métabolisme cellulaire, peut être inhibée spécifiquement à divers stades. La plupart des substances antivirales employées de nos jours sont des analogues des nucléosides, soit des dérivés des bases pyrimidiques ou puriques. D'une façon générale, ces médicaments bloquent la synthèse des acides nucléiques, soit par compétition, soit par incorporation comme faux transmetteurs.

D'autres ont une action indirecte : c'est le cas des interférons, substances **protéiques** (IFN- $\alpha$ ) ou **glycoprotéiques** (IFN- $\beta$  *et*  $\gamma$ ) produites par des leucocytes (classe  $\alpha$ ), par des fibroblastes (classe  $\beta$ ) ou des lymphocytes (classe  $\gamma$ ). Après fixation sur des récepteurs spécifiques de la membrane cellulaire, ces substances déclenchent une série de réactions intracellulaires, comme la synthèse d'une enzyme ( la *nucléotide polymérase* ) laquelle stimule au contact de l'ARN bicaténaire viral une autre enzyme ( la *ribonucléase* ) qui inhibe l'ARNm viral. Elles peuvent inhiber aussi la production de protéines virales.

Certains agents antiviraux (amantadine et rimantadine) agissent à un stade précoce de l'infection virale, soit sur la libération de l'acide nucléique, soit sur un événement précoce de la transcription. Leur action est restreinte aux virus respiratoires : limitée aux infections à influenza A en clinique.

#### **2.4.2.** Classification (Schorderet et coll., 1989)

#### 2.4.2.1. Analogues des nucléosides

#### La vidarabine\* (9-β-D-arabinofuranosyl adénine)

Analogue de l'adénosine, elle inhibe la synthèse de l'ADN viral à différentes étapes.

#### L'acyclovir\* [9-(2-hydroxyéthoxyméthyl)-guanine]

Analogue de la guanosine et phosphorylé spécifiquement par la thymidine kinase virale, il inhibe la synthèse d'ADN.

#### La zidovudine\* ou azidothymidine (3'-azido-3'-désoxythymidine)

Analogue de la thymidine, elle est reconnue spécifiquement par la transcriptase inverse et incorporée dans l'ADN viral.

#### 2.4.2.2. Amantadine\* et rimantadine\*

La rimantadine (α-méthyl-adamatane-1 méthylamine) est un analogue de l'amantadine (adamatane-1 amine). Cette dernière est utilisée dans la prophylaxie de l'infection à influenza A.

#### 2.4.2.3. Interférons

Vu leur spectre d'action très large, ces substances ont été testées dans un grand nombre de maladies virales ; les résultats ont été intéressants dans les affections comme le zona, l'herpès génital récidivant, l'hépatite B, l'herpès simplex chez les sujets immunodéprimés.

## 2.3.4. <u>Médicaments utilisés dans le traitement des infections dues au VIH</u>: LES ANTIRETROVIRAUX

Beaucoup de médicaments sont actuellement utilisés pour le traitement des infections à VIH. Ils sont le plus souvent utilisés en combinaison de deux ou trois médicaments antiviraux.

#### Les inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse (INTI)

Zidovudine ou azidothymidine ( ZDV ou AZT ), Stavudine ( D4T ), Lamivudine ( 3TC ), Abacavir ( ABC ), Didanosine ( DDI ).

Les inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse (INNTI) Efavirenz (EFV, EFZ), Névirapine (NVP).

#### Les inhibiteurs de la protéase

Indinavir (IDV), Lopinavir (LPV/R), Nelfinavir (NFV), Ritonavir (R, RTV), Saquinavir (SQV).

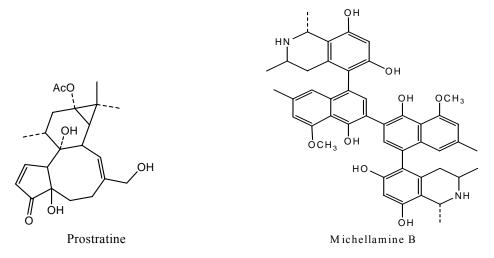
NB: Chacun de ces médicaments doit être utilisé en association avec au moins deux autres médicaments antirétroviraux.

## Structures chimiques de quelques antirétroviraux

Zidovudine

#### Structure de quelques substances anti-VIH isolées des plantes (Hostettmann, 1997)

La **Michellamine B** est un alcaloïde isolé à partir d'une liane du Cameroun appartenant au genre *Ancistrocladus* de la famille des *Ancistrocladaceae*. La **Prostratine** est une substance isolée à partir des extraits aqueux de *Homalanthus nutans*, une plante de la famille des *Euphorbiaceae*.



#### 2.5. Méthodes d'étude des antimicrobiens

#### 2.5.1. Méthode de diffusion

Elle consiste en l'identification d'une substance agissant sur un microorganisme et en la détermination de la concentration minimale inhibitrice de cette substance qui détruit le microorganisme. Le dépôt des extraits se fait sur de petits cylindres de dimensions connues (en porcelaine, en acier inoxydable ou en papier), placés sur de la gélose en boîte de Pétri. Après incubation de 24 heures à l'étuve à 37 °C, les zones d'activité apparaissent circulaires sur le fond opaque de la gélose.

#### 2.5.2. Méthode de dilution

Elle consiste à incuber un milieu de culture avec une dilution de doses croissantes des solutions à tester. Dans des tubes à essai stériles contenant d'une part une solution étalon d'activité connue, d'autre part les solutions à tester, ajouter un volume constant d'un milieu nutritif ensemencé avec un germe déterminé. Laisser séjourner trois à quatre heures au bainmarie à la température de 37 °C. L'activité est appréciée par l'observation d'une inhibition traduite par l'absence de culture visible dans les tubes.

#### 2.5.3. Méthode bio autographique

La méthode bio autographique consiste en l'isolement des constituants actifs à travers une cible après dilution rapide. Les chromatogrammes sont recouverts d'un milieu de culture incorporé de microorganismes. Après une incubation pendant 24 heures à 37 °C, un révélateur approprié permet d'observer l'activité (Diallo, 2000).

#### 2.6. Quelques plantes antimicrobiennes déjà testées au DMT

Une étude sur l'activité anticandidosique de certaines plantes maliennes sur *Candida albicans* en 1999 a fait ressortir que sur 18 plantes testées, sept (7) se sont montrées actives sur le germe utilisé : il s'agit par ordre décroissant d'activité de : *Afrormosia laxiflora* (<u>Fabaceae</u>), *Annona senegalensis* (<u>Annonaceae</u>), *Bridelia ferrugina* (<u>Euphorbiaceae</u>), *Ficus iteophylla* (<u>Moraceae</u>), *Cassia nigricans* (<u>Ceasalpiniaceae</u>), *Ptereocarpus erinaceus* (<u>Fabaceae</u>) et *Ximenia americana* (<u>Olacaceae</u>) (Kanta, 2000).

En 2002, l'étude sur l'activité antifongique de 14 plantes a montré que sur 36 extraits testés, 7 possédaient une activité notamment les extraits des feuilles et des écorces de *Anacardium occidentale* L., les extraits des feuilles de *Anogeissus leiocarpus* DC.Guill et Perr et de *Ficus capensis* Thumb., les extraits des écorces de *Combretum glutinosum* Perr. ex DC., de *Daniellia oliveri* Hutch et Dalz, de *Vitex doniana* Sweet (Keita, 2002).

#### **AUTRES PLANTES ANTIMICROBIENNES TESTEES**

<u>Tableau I</u>: Plantes testées pour leurs antimicrobiennes

Noms scientifiques& Familles	Parties utilisées	Activités	Références
Annonaceae Annona sengalensis Pers.	Ecorces	Antiparasitaire	Alawa et <i>al</i> , 2003
Combretaceae Combretum glutinosum Perr. ex DC.	Ecorces du tronc, écorces des racines	Antibactérienne	Souley Amadou, 2004
Combretum micranthum G. Don	Feuilles	Antifongique	Diallo, 2000
Guiera senegalensis Gmel	Feuilles	Antifongique	Diallo, 2000
<b>Légumineuse</b> <i>Ceasalpiniaceae Piliostigma thonningii</i> Schum	Ecorces	Antiparasitaire	Fotsing, 2005

#### 3. LES ANTIOXYDANTS

#### 3.1. Généralités

Représentant environ la cinquième partie des constituants de l'air, l'oxygène est indispensable à la vie de tous les organismes aérobies. En effet, ces derniers utilisent le haut niveau énergétique de l'oxygène moléculaire pour oxyder des substances comme les hydrates de carbone, les protéines, les graisses et produire essentiellement du dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>), de l'eau et de l'énergie nécessaire au processus de la vie. Le métabolisme des composés endogènes et exogènes par les enzymes telles que les monoamines-oxydases ou les mono-oxygénases nécessite l'utilisation de l'oxygène (Cavin, 1999).

En thérapeutique, l'oxygène est utilisé en inhalation contre l'anoxie cellulaire ou globale, les hémorragies ainsi que dans de nombreuses affections pulmonaires, les embolies gazeuses des plongeurs, etc.

L'oxygène sous l'action des rayons UV, des radiations ionisantes, des métaux de transition ou au cours de diverses réactions enzymatiques, fournit des formes hautement réactives : l'anion superoxyde (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), l'oxygène singulet (¹O<sub>2</sub>), le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), les peroxydes alkyles (ROOH) et les radicaux hydroxyles(OH), peroxydes (ROO), et alcoyles (RO) qui sont à l'origine de la peroxydation des lipides membranaires, au niveau du poumon, du système nerveux central et de la rétine (Allain, 1996). On leur donne le nom d'Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO).

Sur le système nerveux, la toxicité de l'oxygène se traduit par des troubles visuels, des contractions musculaires, des convulsions (Allain, 1996).

Dans les conditions normales la production des radicaux libres est contrôlée par l'organisme par un phénomène appelé homéostasie. L'homéostasie est l'établissement d'un équilibre fragile entre la formation de substances pro-oxydantes et leur élimination (action des antioxydants). Lorsque cet équilibre est rompu en faveur de la production des pro-oxydants, l'organisme endure un stress oxydant de telle sorte que les cellules ne peuvent plus éliminer leur surproduction (Pincemail et *al.*, 2002).

Les ERO sont utilisées par les cellules phagocytaires de l'organisme (macrophages) pour combattre les agents infectieux (bactéries, virus). Cependant, cette utilisation avantageuse des ERO ne va pas sans conséquences car elles ont la capacité d'agir sur les structures biologiques des cellules (protéines, lipides, ADN). En effet, des études épidémiologiques et cliniques ont suggéré le rôle de ces ERO dans le développement de nombreux processus pathologiques : maladie de Parkinson, asthme, arthrite, mongolisme, neuro-dégénérescence, athérosclérose, etc. (Pincemail et *al.*, 2002).

#### 3.2. Quelques définitions

#### **Radical libre**:

On appelle radical libre, toute molécule indépendante contenant un ou plusieurs électrons non appariés. Le terme radical a été le plus souvent assimilé à une espèce réactive ou à un oxydant mais tous les radicaux libres ne sont pas des oxydants et tous les oxydants ne sont pas des radicaux libres. Les radicaux libres sont considérés comme des armes à double tranchant. En effet, ils protègent notre organisme contre les microorganismes et les cellules tumorales mais sont aussi à l'origine de l'altération et de l'usure des tissus (Allain, 1996). Ils constituent une cible privilégiée pour l'amélioration des thérapies à différents stades pathologiques.

#### > Antioxydant:

On nomme antioxydant, toute substance qui lorsqu'elle est présente en faible concentration comparée à celle d'un substrat oxydable, retarde ou prévient de manière significative l'oxydation de ce substrat. Le terme de substrat oxydable inclut toutes sortes de molécules *in vivo*. Lorsque des espèces réactives de l'oxygène sont produites *in vivo*, de nombreux antioxydants interviennent. Ce sont principalement des enzymes : la super oxydase dismutase (SOD), la glutathion peroxydase (GPO), la catalase et aussi des molécules de faible masse moléculaire comme le tripeptide glutathion ou l'acide urique (Cavin, 1999).

#### **Le stress oxydant :**

En situation physiologique il y a un équilibre parfait entre la production d'espèces réactives de l'oxygène et les systèmes de défenses antioxydantes. On parlera de stress oxydant lorsqu'il y a un déséquilibre profond entre antioxydants et pro-oxydants en faveur de ces derniers, ce qui conduit à des dégâts cellulaires irréversibles (Pincemail et *al*, 1999).

#### 3.3. Origines des radicaux libres

La pollution de l'environnement ( automobiles, industries ) génère les espèces réactives de l'oxygène.

<u>Le tabac</u> : une bouffée de cigarette contient environ  $10^{14}$  radicaux et aussi des traces d'ions métalliques pouvant réagir avec le peroxyde d'hydrogène.

<u>La vitamine C</u>: considérée comme un antioxydant, elle peut dans certaines conditions, être à l'origine des radicaux libres (notamment en présence de peroxyde d'hydrogène) (Chevalley, 2000).

#### 3.4. <u>Dommages liés aux radicaux libres</u>

Les radicaux libres sont caractérisés par leur grande réactivité chimique et leur courte durée de vie (Allain, 1996).

De part leur nature instable les radicaux libres (ERO) sont toxiques et interagissent avec toute une série de substrats biologiques importants. Des dénaturations de protéines, des inactivations d'enzymes, une oxydation de glucose, des cassures au niveau de l'ADN avec possibilité de mutation et des processus de peroxydation lipidique peuvent alors apparaître avec des conséquences souvent irréversibles pour la cellule (Pincemail et *al.*, 2002). C'est ainsi que certains radicaux libres semblent jouer un rôle dans les phénomènes de vieillissement, qui pourraient être la conséquence des dommages oxydants irréversibles accumulés tout au long de l'existence.

#### 3.5. Intérêt des antioxydants

L'intérêt porté aux antioxydants est grandissant surtout ceux d'origine naturelle. Les antioxydants agissent de diverses manières. Leur action inclut le captage de l'oxygène singulet, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente ou leur réduction, la complexation d'ions et de métaux de transition (Cavin, 1999). En situation physiologique, ces systèmes antioxydants ont la capacité de réguler la production des ERO (Pincemail et *al*, 2002).

#### **Les différents Types**

Il existe deux catégories d'antioxydants : les antioxydants naturels et les autres substances à propriétés antioxydantes. On les regroupe en antioxydants de type I ou II selon leur mécanisme d'action.

#### \* Antioxydants de Type I

Les antioxydants de type I sont des substances qui vont interrompre la chaîne de propagation dans le processus de formation des peroxydes en leur cédant un hydrogène. Ils sont appelés « Phagocytes de radical libre ».

#### Exemples:

Le gallate de propyle, le tocophérol (Vit E) et le terbutyl hydroxy-anisol (BHA).

#### \* Antioxydants de Type II

Ils empêchent ou diminuent la formation des radicaux libres. Ils sont appelés aussi les séquestrants de métaux. Ils précipitent les métaux en inhibant leur réactivité par occupation de tous les sites de coordinations.

**Exemple**: Acide citrique, Cystine

#### 3.6. Sources

En plus des substances propres à l'organisme, les médicaments, l'alimentation et les plantes sont des sources potentielles d'antioxydants (Cavin, 1999).

#### > Médicaments :

#### ■ <u>Probucol</u> (Lurselle)

Ce produit diminue non seulement le taux de cholestérol dans le sang mais aussi supprime l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (LDL) et prévient ainsi l'arthérogénèse.

#### ■ *N*- Acétyl- Cystéine

Il a un important intérêt dans les affections des poumons dues à des espèces réactives de l'oxygène. C'est un précurseur du glutathion. Tripeptide composé de Cystéine, d'acide glutamique et de glycine, le glutathion est le transporteur d'hydrogène dans l'organisme.

#### > Alimentation:

Certaines substances que nous rencontrons dans notre alimentation de tous les jours possèdent aussi des propriétés antioxydantes.

#### ■ Tocophérol (vitamine E)

Vitamine de la reproduction, c'est le principal agent antioxydant membranaire ; elle prévient la peroxydation des lipides membranaires par capture des radicaux. On les rencontre dans les fruits et légumes à feuilles vertes, le lait et les graines.

#### Acide ascorbique (vitamine C)

Substance à propriétés antiasthéniques, l'acide ascorbique est aussi un puissant réducteur ; il intervient dans la régénération de la vitamine E.

Dans le tube digestif, elle manifeste un effet antioxydant en empêchant l'oxydation des nitrates en nitrites et nitrosamides (composés cancérigènes) (www.esculape.com/textes/antioxydant.html, 30/11/2003). Légumes, persil, agrumes et bien d'autres fruits en sont particulièrement riches (Bossokpi, 2002).

#### Sélénium

Le sélénium est un oligoélément qui ne possède pas d'activité antioxydante proprement dite. Il est toutefois considéré comme tel puisqu'il participe à la constitution et à la régulation de la glutathion peroxydase, enzyme qui participe à la destruction des peroxydes lipidiques (Pincemail et *al*, 1999).

Jadis connu comme toxique, les effets bénéfiques du sélénium sur l'organisme ne sont connus que depuis un quart de siècle. Il neutralise les métaux toxiques (plomb, mercure) et prévient le vieillissement. Il aurait aussi une action préventive sur certains cancers (Diallo, 2005).

#### **Plantes**:

Les plantes sont sources de nombreux composés à propriétés antioxydantes. Peuvent être cités entre autres composés les tanins, les flavonoïdes, les coumarines, les caroténoïdes.

#### Les tanins

Les tanins sont des composés présentant des propriétés antioxydantes significatives. Deux grands groupes peuvent être distincts :

- <u>Les tanins hydrosolubles</u> : des esters d'un sucre (ou d'un polyol apparenté) et d'un nombre variable de molécules d'acide phénol.
- Les tanins condensés ou proanthocyanidols: polymères flavaniques constitués d'unités de flavan-3-ols. Ils ont été isolés ou identifiés dans tous les groupes végétaux, Gymnospermes et Fougères y compris (Bruneton., 1993).

Exemple: l'acide gallique

#### Les caroténoïdes

Constituants membranaires des chloroplastes, ils forment un groupe de pigments liposolubles contribuant à la coloration jaune, orange ou rouge des fruits et des légumes. Ils sont très souvent retrouvés dans les plantes alimentaires ( tomate, carotte, melon, épinard ).

Les caroténoïdes réagissent avec l'oxygène singulet, les radicaux peroxydes et alkoyles, en capturant les radicaux libres. Exemple : le β-carotène

#### Les lignanes

Les lignanes les plus étudiés du point de vue de leurs activités antioxydantes sont les dérivés bifuranyles des graines de sésame (*Sesamum indicum* DC, *Pediliaceae*). La forte résistance à la détérioration oxydative de l'huile de sésame a suscité depuis plusieurs années de nombreuses recherches sur les graines de sésame. Les lignanes diarylfuranofuraniques tels que le sésaminol, ont montré des propriétés antioxydantes expliquant ainsi la stabilité de cette huile. <u>Exemple</u> : la sésamine

#### Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes constituent un groupe de métabolites très répandu dans les plantes. Ils se trouvent presque dans toutes les parties de la plante, à différentes concentrations où ils jouent un rôle déterminé dans le système de défense comme antioxydants. Ces composés sont intéressants dans le domaine médical car associé à de nombreuses activités biologiques telles que anti-inflammatoires, antihépatotoxiques, antitumorales, antihypertensives, antithrombiques, antibactériennes, antivirales, antiallergiques et antioxydantes. Les relations structures-activités des flavonoïdes et des autres composés phénoliques ont démontré que l'activité était déterminée par la position et le degré d'hydroxylation. Exemple : l'eucalyptine

#### • Les coumarines :

Les coumarines ont la capacité de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxyles. Ces composés agissent comme les flavonoïdes. <u>Exemple</u>: l'esculoside

• <u>Les stilbénoïdes</u>: composés phénoliques possédant deux noyaux benzéniques séparés par un pont éthane ou éthène. Présents dans de nombreuses familles de végétaux supérieurs, ils sont souvent antifongiques et antimicrobiens. <u>Exemple</u>: la pinosylvine

#### 3.7. Méthodes d'études des antioxydants

#### 3.7.1. <u>Test mesurant l'activité antioxydante contre le lysosome</u>

o <u>Principe</u>: ce test consiste en la détection de l'activité antioxydante d'une substance par oxydation des lysosomes par le 2, 2'-azobis, 2-amidinopropane (Amadou, 2004).

#### 3.7.2. Réduction du radical 1,1'-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH)

<u>Test sur CCM</u>: le principe consiste à déposer les produits à tester sur des plaques de CCM en aluminium recouvertes de gel de silice GF<sub>254</sub> et à les développer dans des systèmes de solvants appropriés. Après séchage, les plaques sont révélées avec une solution méthanolique de DPPH à 2mg/ml. Les activités antiradicalaires apparaissent sous forme de spots de couleur jaune-blanc sur fond violet (Cavin, 1999).

#### 3.7.3. Test mesurant l'activité antioxydante au moyen des caroténoïdes

#### <u>Test sur CCM</u> (Principe):

o Les plaques CCM sont préparées de la même manière que pour le test du DPPH, puis giclées avec une solution chloroformique à 0,5 mg/ml de β - carotène. La plaque CCM est ensuite exposée sous une lampe UV à 254 nm jusqu'à décoloration de la plaque. Les zones antioxydantes apparaissent en jaune sur fond blanc. Il faut faire particulièrement attention aux substances déjà colorées en jaune, car elles peuvent donner de faux positifs (Cavin, 1999).

## 3.8. Quelques plantes à activité antioxydante

Tableau II: Plantes à activité antioxydante

Familles & Noms scientifiques	Parties utilisées	Références
Anacardiaceae	Feuilles, écorces des	Bathily, 2001
Lannea velutina Rich	racines	E 4 : 2005
Capparidaceae	Feuilles, fruits, écorces	Fotsing, 2005
Maerua angolensis DC. <b>Cesalpiniaceae</b>	Parties aériennes	Mogode, 2005
Cassia nigricans Vahl.	rarties aeriennes	Wiogode, 2003
Combretaceae	Ecorces du tronc,	Souley Amadou
Combretum glutinosum Perr. ex DC.	écorces des racines	2005
Hypericaceae	Feuilles	Bathily, 2001
Psorospermum guineense Hochr		
Leguminoseae	Ecorces du tronc	Diallo, 2002
Burkea africana Hook.		

## Structures chimiques de quelques antioxydants isolés des plantes

#### 4. MONOGRAPHIES DES PLANTES

Dans ce chapitre, la monographie de chacune des plantes est présentée selon le plan suivant :

- > Nom scientifique
- Noms locaux
- Synonymes
- ➤ Autres espèces (s'il y en a)
- Systématique
- > Habitat
- Caractéristiques botaniques
- Chimie
- > Toxicologie
- > Pharmacologie
- Utilisations

## 4.1. Anthocleista djalonensis A. Chev.

#### Noms locaux

Français: arbre chou

Bambara: samãtlo, feretã lafira, feretã debe

Senoufo: dugu sudo, sonige

**Synonymes**: Anthocleista kerstingii ex Volk.

Autre espèce : Anthocleista rhizophoroides Baker (Boullard, 2001)

Systématique (Crété, 1965)

Règne : Végétal

**Embranchement**: Phanérogames ou Spermaphytes

Sous-embranchement: Angiospermes

<u>Classe</u>: Dicotylédones

Sous-classe: Gamopétales

<u>Série</u>: Hypogynes

Sous-série : Istémones ( à fleurs actinomorphes)

Ordre: Gentianales

Famille: Loganiaceae

<u>Genre</u>: Anthocleista

**Espèce** : *djalonensis* 

#### **Habitat**

Cet arbre est fréquent dans les galeries forestières de la zone soudano-guinéenne (Malgras, 1992).

#### <u>Caractéristiques botaniques</u>

Anthocleista djalonensis est une plante ligneuse de 8-15 m de haut, croissant en berge des rivières. Les feuilles de 9-35 cm voire 1m de long sont opposées, pétiolées, à limbes ovales ou elliptiques. Les fleurs sont groupées en longs corymbes. Les fruits sont des baies elliptiques (Boullard, 2001).



Figure 2: Photo des feuilles de Anthocleista djalonensis (Diallo, 2004)

#### **Chimie**

Lavie et Taylor-Smith d'une part, Plat,Koch et coll. d'autre part (auteurs cités par Kerharo) ont obtenu en 1963, à partir de cette espèce un alcaloïde indolique, la gentianine ou érythricine, très répandue chez les gentianacées. Un hétéroside monoterpénique, la swertiamarine ou swertiamaroside, a été isolé des feuilles sèches. Taylor-Smith a isolé de l'espèce nigériane un composé qui s'est révélé être un acide triterpénique pentacyclique dénommé « *anthocleistine* » (Kerharo et Adam, 1974). La petite centaurée (*Centaurium erythræa* Rafn.), une plante de la même famille, renferme des acides phénols, des flavonoides, des xanthones polysubstitués et plusieurs sécoiridoïdes responsables de l'amertume de la plante : centauroside, centapicrine, swertiamarine (Bruneton, 1993).

#### **Toxicologie**

La gentianine, un alcaloïde isolé de cette plante, a une toxicité très faible chez la souris : la DL<sub>50</sub> est de : 250 – 300 mg/kg, 500 mg/kg et 0.48 – 1.3 g/kg respectivement par voie intraveineuse, par voie sous-cutanée et *per os* (Kerharo et Adam, 1974). Cependant, l'utilisation en médecine traditionnelle de doses très élevées de *Anthocleista djalonensis* entraîne des effets toxiques (Onocha et coll., 2003).

#### **Pharmacologie**

La gentianine, alcaloïde isolé de cette plante, possède des propriétés anti-histaminiques et anti-inflammatoires. Elle a une importante action analgésique chez le rat (Kerharo et Adam, 1974). Toutes les parties de *Anthocleista djalonensis* sont pharmacologiquement actives. Elle a une activité diurétique et purgative (Burkill, 1985). Il a été démontré que l'extrait aqueux de la centaurée, possède des propriétés anti-inflammatoires et antipyrétiques. La swertiamarine et la gentiopicroside sont antibactériens (Bruneton, 1993). Les racines de *Anthocleista djalonensis* permettent de guérir les maux de cœur (Boullard, 2001).

#### **UTILISATIONS:**

#### > En médecine traditionnelle :

Au Sénégal, les tradipraticiens de santé considèrent cette plante comme un purgatif drastique de posologie délicate. Elle est utilisée lors de la recherche d'une action violente sur le tube digestif : ce qui expliquerait son indication comme contrepoison, anti-lépreux, emménagogue ou purgatif (Kerharo et Adam, 1974).

En Sierra-Léone, les feuilles sont utilisées dans le traitement de la jaunisse et les racines dans le traitement de la constipation et de la gonococcie.

En Côte-d'Ivoire, les racines sont utilisées dans le traitement des oedèmes et de l'éléphantiasis du scrotum.

Au Nigéria, les racines sont indiquées dans l'infertilité féminine et les menstruations douloureuses (Burkill, 1985).

Au Mali, cette plante est indiquée dans le traitement de la gonococcie (Ouattara, 2005).

#### > Autres usages :

Le bois est blanc, léger et périssable. Il apparaît comme n'ayant pas d'usage. Les troncs sont parfois évidés pour être utilisés comme étui à flèches au Nord du Nigeria (Burkill, 1985).

## 4.2. Erythrina senegalensis DC.

#### Noms locaux

Français: arbre corail

Bambara: n'teblin, n'timini, n'tinkisse

Dogon: nabe-ana, pəle jirin

Senoufo : kaferin $\varepsilon$ 

Peulh: mötötäy

Autre espèce : Erythrina abyssinica Lam. ex Rich., Erythrina burttii

**Systématique:** 

Règne : Végétal

**Embranchement**: Phanérogames ou Spermaphytes

Sous-embranchement: Angiospermes

<u>Classe</u>: Dicotylédones

Sous-classe: Dialypétales

<u>Série</u> : Calciflores

Sous-série : Diplo-méristémones

Ordre: Rosales

Famille: Papilionaceae

Genre: Erythrina

<u>Espèce</u>: senegalensis

#### Habitat

*Erythrina senegalensis* est un arbre disséminé en savanes soudaniennes et soudanoguinéennes (Malgras, 1992).

#### Caractéristiques botaniques

C'est un petit arbre épineux de 6-7 m à écorce épaisse, claire, parfois liégeuse, à tranche jaune. Les feuilles trifoliolées sont alternes. Les fleurs, d'un rouge vif lumineux, sont en longs racèmes terminaux de 15 - 25 cm s'épanouissant avant ou au début de la feuillaison. Les fruits sont des gousses à parois minces, fortement incurvées ou enroulées, de 8 - 15 cm de long. Les graines de couleur rouge vif sont ovoïdes (Maydell, 1990).



Figure 3 : Pied feuillé d'E. senegalensis (Kalilou, 2005)



Figure 4: Pied fleuri d'E. senegalensis (Arama, 2005)



<u>Figure 5</u>: Tronc d'*E. senegalensis* (**Diallo, 2005**)



<u>Figure 6</u>: Graines d'*E. senegalensis* (Kalilou, 2005)

#### **Chimie**

Une base curarisante, l'érythroïdine, a été découverte dans les graines de l'espèce américaine (*E. americana*) en 1937. Par la suite ont été isolés de *E. senegalensis* les composés suivants : hypaphorine (C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>O<sub>2</sub>N<sub>2</sub>), érysodine (C<sub>18</sub>H<sub>21</sub>O<sub>2</sub>N) et érysopine (C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>O<sub>2</sub>N). Une analyse ayant porté sur 50 g de graines d'origine guinéenne a donné les résultats suivants : 9.2 % de fraction lipidique, 19.1 % d'extrait alcoolique, 0.06 % d'alcaloïdes libres, 1.43 % d'alcaloïdes totaux libérés (Kerharo et Adam, 1974). Des traces d'alcaloïdes de l'ordre de 0.05 - 0.10 % ont été signalés dans les racines de *E. senegalensis* (Kerharo et Adam, 1974). Oh Won Keun et coll. ont isolé de cette espèce, deux isoflavonoides : érysenegalenseine N et érysenegalenseine O ( Oh Won Keum et *al.*,1999).

#### **Toxicologie**

Des extraits de racines ont montré une toxicité chez les souris avec une DL<sub>50</sub> de 5 g/kg par voie sous-cutanée (Kerharo et Adam., 1974). Une étude toxicologique réalisée en Côte-d'Ivoire a montré que *Erythrina senegalensis* est faiblement toxique. La DL<sub>50</sub> est de 1633 mg/Kg et de 1770 mg/Kg de p.c déterminée respectivement par la méthode de Miller – Tainter et la méthode de Dragsted – Land (Traoré et coll, 2002).

#### **Pharmacologie**

Au Sénégal, les feuilles de *Erythrina senegalensis* sont employées pour leurs pouvoirs fébrifuge et cholagogue. Au Mali, une propriété diurétique est accordée à cette plante (Burkill, 1985). *Erythrina senegalensis* synthétise plusieurs alcaloïdes aux propriétés curarisantes (Boullard, 2001).

#### **UTILISATIONS**:

#### **En médecine traditionnelle**

La plante est utilisée contre les troubles gastriques de toutes sortes et la dysenterie. Les extraits de racines sont indiqués dans le traitement de la malaria, de l'aménorrhée, de la stérilité féminine, de la fièvre, du rachitisme, des maladies du foie et de la vésicule. Les branches sont mâchées comme aphrodisiaque (Maydell, 1990).

La plante est aussi utilisée comme diurétique ; elle est indiquée dans le traitement de l'asthme, de l'œdème généralisé et contre l'avortement (Burkill, 1985).

Les écorces de tronc sont employées dans les fibromes utérins, les aménorrhées, les maux de ventre ou le paludisme (Boullard, 2001).

*Erythrina senegalensis* est indiquée également dans le traitement de la gonococcie et des candidoses (Ouattara, 2005).

Les écorces de tronc et les racines sont les parties les plus utilisées de cette plante.

#### > Autres usages

Cet arbre est planté comme haie. Le bois est peu utilisé car vite parasité. Les feuilles sont broutées par les animaux (Maydell, 1990).

*Erythrina senegalensis* est un arbre très ornemental et il est beaucoup planté pour cette raison. Pour certains peuples, c'est un arbre fétiche à hauts pouvoirs magiques (Burkill, 1985).

## 4.3. Heliotropium indicum L.

#### Noms locaux

Bambara: nõsiku

Dogon: ogu fumbalama djon

Wolof: nãg um der, xeterãm

**Synonymes**: *H. africanum* Schum. et Thonn

**Autres espèces** : *H. angiospermum* Murr.( ou *H. parviflorum* L.)

H. europaeum L.

#### **Systématique**

Règne : Végétal

Embranchement : Phanérogames

Sous-embranchement: Angiospermes

Classe: Dicotylédones

Sous-classe: Gamopétales

Série : Hypogynes

Sous-série : Istémones ou Bicarpellées

Ordre: Polémoniales

Famille: Boragaceae ou Borraginaceae

Genre: Heliotropium

Espèce: indicum

#### Habitat:

Heliotropium indicum est une herbe qui recherche les lieux frais et humides. Elle est parfois rudérale et est irrégulièrement répartie (Kerharo et Adam, 1974).

#### <u>Caractéristiques botaniques</u>

C'est une plante herbacée à feuilles alternes, rugueuses au toucher dont la base contient fréquemment des concrétions de carbonate de calcium (cystolithes).

Les inflorescences sont en cymes unipares scorpioides ; les fleurs de couleur presque toujours bleue sont régulières. Le fruit est un akenoide plus ou moins charnu et drupacé chez d'autres espèces (Guignard, 1996).



Figure 7: Parties aériennes d' Heliotropium indicum (Diallo, 2005)

#### Chimie

Mattocks, Schoental, Crowley et Culvenar (auteurs cités par Kerharo) menant une étude sur *Heliotropium indicum* en 1961, ont mis en évidence trois alcaloïdes dont deux ont pu être identifiés : l'indicine (C<sub>15</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>5</sub>) et son *N*-oxyde (Kerharo et Adam, 1974). La structure de l'indicine *N*-Oxide est présentée au sous-chapitre 4.4. Singh et coll. ont isolé de cette espèce (plante entière) trois alcaloïdes pyrrolizidiniques : acétyllasiocarpine, europine et héliosupine (Singh et *al.*, 2005).

#### **Toxicologie**

L'étude pharmacodynamique de *H. indicum* sur divers animaux et organes isolés par Feng à partir d'un extrait aqueux de feuilles et tiges n'a pas montré de toxicité particulière par voie intraveineuse chez la souris ni d'effet de spasme sur les organes isolés. Il a été cependant noté une nette diminution du débit sanguin de la patte du rat et de la pression sanguine chez le chien avec 0.1 ml d'extraits (Kerharo et Adam, 1974).

#### **Pharmacologie**

Les extraits alcooliques de la plante entière ainsi que les extraits aqueux des feuilles révèlent une action anticancéreuse. Les extraits des feuilles montrent un faible pouvoir insecticide (Kerharo et Adam, 1974).

Heliotropium indicum a des propriétés diurétiques. En Côte-d'Ivoire, la poudre de feuilles sèches est utilisée pour son pouvoir décongestionnant dans le traitement des rhumes et des sinusites. La plante entière, en Guinée, est employée comme fébrifuge (Burkill, 1985).

#### **UTILISATIONS:**

## **En médecine traditionnelle**

Les feuilles réduites en poudre après séchage à l'ombre sont utilisées au Sénégal contre diverses dermatoses, mais particulièrement contre les croûtes laiteuses caractéristiques de l'eczéma et de l'impétigo des enfants (Kerharo et Adam., 1974).

Au Nigeria et au Ghana, l'infusion de feuilles est appliquée localement sur les plaies, les brûlures, les boutons, etc.

Au Gabon, les feuilles triturées sont employées dans l'inflammation des gencives et des parties génitales.

La décoction de feuilles est utilisée en Indonésie contre le muguet, en cataplasme contre les herpès et les rhumatismes en Indochine (Burkill, 1985).

#### > Autres usages

Les fibres de cette plante obtenue par enfouissement de la plante entière dans la boue, sont utilisées pour la confection de faux cheveux portés par les femmes. Certains peuples (les Yoruba) disent que la plante peut aider à se détourner du mal, d'où son appellation « bec de vautour » car lorsqu'elle porte des fruits, elle se tourne du mauvais côté comme le bec de vautour quand il se nourrit (Burkill, 1985).

## 4.4. Quelques molécules isolées des plantes à l'étude (Kugelman et al, 1976 ; Okorie,

1976; Fomum et al, 1987; Bruneton, 1993)

Indicine N-Oxide

Djalonensine

$$H_3C$$
  $CH_3$   $OH$   $CH_3O$   $C$ 

# TRAVAUX PERSONNELS

## 1. METHODOLOGIE

Ce travail a consisté à passer en revue les résultats d'une enquête ethnobotanique menée aux mois de Février et Septembre de l'année 2004 dans trois localités du Mali (Ouattara, 2005) et à choisir trois des plantes citées au cours de la dite enquête. Cette enquête a essayé de recenser les plantes traditionnellement utilisées dans la prise en charge des infections sexuellement transmissibles. Les trois plantes choisies pour nos études expérimentales ont fait l'objet d'une autre enquête en vue de recenser les autres utilisations en médecine traditionnelle au Mali.

#### 1.1. ENQUÊTE ETHNOBOTANIQUE

#### 1.1.1. <u>Lieux</u>

L'enquête s'est déroulée dans la localité de *Siby* (le village de Siby et les villages environnants) située à une cinquantaine de kilomètres au Sud-ouest de Bamako (Région de Koulikoro).

#### 1.1.2 Période

L'enquête s'est effectuée en Février 2005.

#### 1.1.3 Instrument

Pour mener cette enquête, la technique du guide d'entretien a été utilisée. Cette technique a consisté à demander les indications des plantes, les modes de préparation, les voies d'administration, la fréquence d'administration, la durée du traitement, les effets secondaires et les contre-indications. Accompagnés par un guide, nous nous sommes rendus auprès des thérapeutes traditionnels pour leur expliquer le sens de notre visite. Chaque thérapeute traditionnel consentant a ensuite été interrogé (tous les thérapeutes traditionnels que nous avons approchés ont accepté de répondre à nos questions, occasion pour nous de les remercier). L'annexe 1 donne le guide utilisé pour le recueil des informations.

#### 1.1.4 **Equipe**

L'équipe était composée d'un docteur en pharmacie, d'un ingénieur forestier du Département de Médecine Traditionnelle, d'un autre employé du DMT, d'un chauffeur, de deux guides et de l'étudiant en thèse.

#### o Choix des plantes à étudier

Les plantes ont été choisies en fonction de leur fréquence d'utilisation par les thérapeutes traditionnels et les herboristes dans les localités enquêtées.

#### Expérimentation

Les études expérimentales ont été réalisées au Département de Médecine Traditionnelle et au service de bactériologie de l'INRSP.

#### 1. 2. ETUDE PHYTOCHIMIQUE

#### **1.2.1. MATERIELS**

#### > matériel végétal

Le matériel végétal est constitué par les écorces de tronc et de racines de *Erythrina* senegalensis, les écorces de tronc et les feuilles de *Anthocleista djalonensis* et les parties aériennes de *Heliotropium indicum*. Tous ces échantillons ont été récoltés le 31 décembre 2004 à BLENDIO, une localité de la région de Sikasso. Un spécimen de chaque échantillon est disponible au DMT sous les numéros 0636, 0759 et 2318 respectivement pour *Erythrina* senegalensis, Heliotropium indicum et *Anthocleista djalonensis*.

Un pulvérisateur Resch type SM2000 OSI / 1430 µpm a été utilisé pour le broyage des drogues après leur séchage à l'ombre, à la température ambiante du laboratoire du DMT.

#### 1.2.2. REACTIONS DE CARACTERISATION

Les groupes chimiques contenus dans nos échantillons ont été caractérisés par des réactions en tubes.

Les résultats sont classés comme suit :

```
o réaction franchement positive: + + + + + o réaction positive: + + + o réaction moyennement positive: + + o réaction louche: + o réaction négative: (-) ou 0.
```

#### > <u>Alcaloïdes</u>

Préparation de la solution à analyser

A 10 g de drogue végétale séchée et grossièrement pulvérisée, ajouter 50 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 10 %, dans un erlenmeyer de 250 ml. Laisser macérer pendant 24 heures à la température du laboratoire. Compléter le filtrat obtenu à 50 ml avec de l'eau distillée.

#### Caractérisation

Prendre deux tubes à essais et introduire 1 ml de filtrat dans chacun. Ajouter 5 gouttes de réactif de Mayer (solution aqueuse de mercuri-iodure de potassium) dans le premier tube et 5 gouttes de réactif de Dragendorff (solution aqueuse d'iodo-bismuthate de potassium) dans le second. Les alcaloïdes sont caractérisés par la formation d'un précipité

#### > Polyphénols

Préparation de la solution à analyser (infusé à 5 %)

A 5 g de poudre, ajouter 100 ml d'eau bouillante dans un erlenmeyer de 250 ml. Après une infusion de 15 mn, compléter le filtrat à 100 ml avec de l'eau distillée.

#### Caractérisation

#### • Tanins

Dans un tube à essai, introduire 5 ml d'infusé à 5 % et ajouter 1ml de solution aqueuse de FeCl<sub>3</sub> à 1 %. Les tanins sont caractérisés par une coloration verdâtre ou bleu noirâtre.

#### **Différenciation des tanins** : réaction de Stiasny

Ajouter à 30 ml d'infusé à 5 %, 15 ml de réactif de Stiasny (10 ml de formol à 40 % et 5 ml d'HCl concentré); chauffer au bain-marie à 90 °C pendant 15mn environ. L'obtention d'un précipité montre la présence de tanins catéchiques.

Filtrer et saturer le filtrat d'acétate de sodium pulvérisé (5 g). Ensuite, ajouter goutte à goutte 1ml d'une solution de FeCl<sub>3</sub> à 1 %. L'obtention d'une teinte bleu-noire témoigne de la présence de tanins galliques non précipités par le réactif de Stiasny.

#### • Flavonoïdes

A l'infusé 5 % présentant une coloration plus ou moins foncée, ajouter un acide ( $H_2SO_4$  à 10 %), puis une base ( $NH_4OH$  50 %). Si la coloration s'accentue par acidification, puis vire au bleu violacé en milieu basique, on peut conclure à la présence d'anthocyanes.

#### Réaction à la cyanidine :

Introduire dans un tube à essais 5ml d'infusé à 5 %, et ajouter 5ml d'alcool chlorhydrique (éthanol à 95 ° alcoolique, eau distillée, HCl concentré à parties égales en volume) ; puis 1ml d'alcool isoamylique et quelques copeaux de magnésium.

L'apparition d'une coloration rose orangée (flavones), rose violacée (flavanones) ou rouge (Flavonols, flavanonols) rassemblée dans la couche surnageante d'alcool isoamylique indique la présence de flavonoïdes libres (génines). Les colorations sont moins intenses avec les hétérosides flavoniques.

#### Leuco anthocyanes:

Effectuer la même réaction que précédemment sans ajout de copeaux de magnésium et chauffer au bain-marie pendant15 mn. L'apparition d'une coloration rouge cerise ou violacée indique une réaction positive. Une teinte brun-rouge est observée en présence de catéchols.

#### > <u>Dérivés anthracéniques</u>

#### • Anthraquinones libres

A 1g de poudre, ajouter 10 ml de chloroforme. Chauffer le mélange pendant 3mn au bainmarie. Compléter le filtrat à 10 ml (si nécessaire). A 1ml de l'extrait chloroformique, ajouter 1ml de NH<sub>4</sub>OH 50 % et agiter. Une coloration plus ou moins rouge indique la présence d'anthraquinones libres.

#### • Anthraquinones combinées

#### O- Hétérosides :

Au résidu de la drogue épuisée par le chloroforme, ajouter 10 ml d'eau et 1 ml d'HCl concentré, maintenir le tube à essai au bain-marie bouillant pendant 15 mn. A 5 ml de l'hydrolysat ainsi préparé, ajouter 5 ml de chloroforme et agiter. Soutirer la phase organique (chloroformique), y ajouter 1 ml de NH<sub>4</sub>OH dilué : la présence d'anthraquinones est révélée par une coloration rouge plus ou moins intense. Conserver la phase aqueuse.

En cas de réaction négative ou faiblement positive, poursuivre par addition à 5 ml de l'hydrolysat, 3 à 4 gouttes de FeCl<sub>3</sub> à 10 %, agiter avec 5 ml de chloroforme. A la phase chloroformique, ajouter 1 ml de NH<sub>4</sub>OH dilué et agiter. En présence de produits d'oxydation des anthranols ou des anthrones, la coloration rouge s'intensifie ( caractéristique des *O*-hétérosides à genine réduite).

#### *C* - Hétérosides :

A la phase aqueuse conservée, ajouter 10 ml d'eau, puis 1 ml de FeCl<sub>3</sub> à 10 %. Après ébullition au bain-marie pendant 30 mn, agiter avec 5 ml de chloroforme. A la phase chloroformique ajouter 1 ml de NH<sub>4</sub>OH dilué. Une coloration rouge plus ou moins intense indique la présence de génines de *C*-hétérosides.

#### > Stérols et triterpènes

La solution utilisée est obtenue comme suit. A 1 g de poudre ajouter 20 ml d'éther ; laisser en macération pendant un temps suffisant. Compléter le filtrat à 20 ml avec de l'éther. Après avoir évaporé à sec 10 ml de l'extrait, dissoudre le résidu dans un mélange de 1 ml d'anhydride acétique et de 1 ml de chloroforme. La solution obtenue est partagée entre deux tubes à essais.

Mettre au fond d'un des tubes, l'autre servant de témoin, 1 à 2 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré à l'aide d'une pipette. Ne pas agiter. A la zone de contact des deux liquides, la formation d'un anneau rouge brunâtre ou violet, la couche surnageante devenant verte ou violette révèle la présence de stérols et triterpènes.

#### > Caroténoïdes

Evaporer à sec 5 ml de l'extrait éthéré et ajouter 2 à 3 gouttes d'une solution saturée de tri chlorure d'antimoine dans le chloroforme. Il se développe, en présence de caroténoïdes, une coloration bleue devenant rouge par la suite.

#### > Coumarines

Evaporer 5 ml d'extrait éthérique à sec, reprendre le résidu avec 2 ml d'eau chaude. Partager la solution entre 2 tubes à essais. Dans l'un des tubes, ajouter 0,5 ml de NH<sub>4</sub>OH à 25 %. Observer sous un rayonnement ultra violet à 366 nm. La présence d'une fluorescence intense dans le tube où il a été ajouté de l'ammoniaque est caractéristique des coumarines.

#### > <u>Hétérosides cardiotoniques</u>

#### <u>Préparation de la solution à analyser</u> :

Introduire 1 g de poudre dans un tube à essai, ajouter 10 ml d'éthanol à 60 ° alcoolique et 5 ml d'une solution d'acétate neutre de plomb à 10 %. Porter à ébullition pendant 10 mn et filtrer.

#### Caractérisation

Agiter le filtrat avec 10 ml de CHCl<sub>3</sub> en évitant la formation d'une émulsion. Après décantation (dans une ampoule à décanter), soutirer la phase chloroformique; partager entre trois tubes à essai et évaporer au bain-marie jusqu'à sec. Reprendre les résidus avec 0.4 ml d'isopropanol. Dans les trois tubes, ajouter respectivement 1ml de chacun des réactifs suivants : réactifs de Baljet, de Kedde et de Raymond-Marthoud. Ensuite, introduire dans chaque tube, 5 gouttes de KOH à 5 % dans l'éthanol à 80 %. Après dix minutes de contact environ, apprécier le développement des colorations suivantes caractérisant les cardénolides : tube 1 : orangé ; tube 2 : rouge violacé ; tube 3 : violet fugace.

#### > Saponosides

#### Préparation de la solution à analyser (Décocté à 1 %)

Porter à ébullition 100 ml d'eau distillée dans un erlenmeyer de 250 ml et y projeter 1 g de poudre, puis, maintenir en ébullition modérée pendant 15 mn. Ajuster le filtrat à 100 ml.

#### **Caractérisation**

Dans une série de 10 tubes à essai numérotés de 1 à 10, repartir successivement 1, 2,....10 ml du décocté à 1 %. Ajuster le volume dans chaque tube à 10 ml avec de l'eau distillée. Ensuite, agiter chaque tube dans le sens de la longueur pendant 15 secondes à raison de 2 agitations par seconde (soit 30 agitations). Après un temps de repos de 15 mn, mesurer la hauteur de la mousse dans chaque tube. Noter le numéro du tube dans lequel la hauteur de mousse est de 1 cm. L'indice de mousse est obtenu par la relation :

Indice de mousse =  $\frac{1000}{\text{Numéro du tube}}$ 

#### > Composés réducteurs

Introduire 5 ml d'un décocté aqueux à 10 % dans un bêcher et évaporer au bain-marie jusqu'à sec. Ajouter au résidu, 1 ml de réactif de Fehling (mélange extemporané de 0,5 ml de réactif A et de 0,5 ml de réactif B). L'obtention d'un précipité rouge brique indique la présence de composés réducteurs.

#### > Oses et holosides

Introduire 5 ml d'un décocté à 10 % dans un bêcher. Au résidu obtenu après une évaporation à sec, ajouter quelques gouttes de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré puis 3 à 4 gouttes d'alcool saturé avec du thymol 5 mn après. Le développement d'une coloration rouge caractérise les oses et les holosides.

#### > Mucilages

A 1 ml d'un décocté à 10 % dans un tube à essais, ajouter 5 ml d'alcool absolu. L'obtention d'un précipité floconneux par mélange après dix minutes, indique la présence de mucilages.

#### > Hétérosides cyanogénétiques

Dans un tube à essai, introduire environ 1 g de poudre. Ajouter 5 ml d'un mélange à volume égal d'eau et de toluène. Après agitation, nettoyer la partie supérieure du tube. Fixer à la partie supérieure du tube à l'aide d'un bouchon, un papier picrosodé fraîchement préparé.

Une coloration rouge plus ou moins rapide du papier picrosodé caractérise une réaction positive.

#### **1.2.3. DOSAGES**

#### 1.2.3.1. Taux d'humidité

Deux méthodes ont été utilisées pour le dosage de l'eau :

- Méthode gravimétrique
- <u>Principe</u>: c'est une méthode pondérale qui consiste en la détermination de la perte de masse par dessiccation à l'étuve ou au four.
  - Matériel: Balance analytique de précision (type SARTORIUS)
    - Four Pince Spatule métallique
    - Verre de montre (ou creuset) Dessiccateur Etuve

• <u>Technique</u>: cinq verres de montre ont été tarés et des prises d'essai (PE) de 1 à 2 g (pesées au mg près) y ont été introduites. Ces verres de montre contenant les poudres ont été pesés avant d'être introduits dans le four réglé à 105 °C pour une dessiccation pendant 24 H. Au sortir du four les poudres ont été refroidies dans un dessiccateur contenant un desséchant (chlorure de calcium, anhydride phosphorique) ; elles ont ensuite été pesées. Le calcul suivant permet d'obtenir le pourcentage en eau :

*Calcul*: Masse prise d'essai = masse avant four - tare

Masse eau = masse avant four– masse après four

% eau = (masse eau  $\div$  masse PE)  $\times$  100

#### > Méthode volumétrique

- <u>Principe</u>: elle consiste en un dosage de l'eau par entraînement azéotropique. La réaction azéotropique se fait à une température constante. Après condensation des vapeurs de l'azéotrope, l'eau se sépare et est dosée en volume.
  - Matériel et solvants : Ballon de 250 millilitres.
    - Réfrigérant à reflux tube droit de 20 centimètres de long
    - Tube cylindre gradué Source de chaleur Eau distillée
    - Solvant non miscible à l'eau (toluène, benzène, xylène, ...)
  - <u>Technique</u>: introduire dans le ballon sec 1 ml d'eau distillée et 100 ml de toluène.

Distiller pendant une heure (1h), laisser reposer pendant trente minutes (30 mn).

Lire le volume initial (Vi) d'eau distillée.

Introduire dans le ballon une prise d'essai (PE) de 5g de poudre de drogue.

Faire bouillir l'ensemble pendant 1h et laisser reposer pendant 30 mn.

Lire le volume final (Vf) d'eau dans l'appareil. Rechercher le pourcentage d'eau dans la drogue par le calcul suivant.

Calcul: % d'eau dans la drogue =  $(Vf - Vi) \times 100 \div PE$ 

#### 1.2.3.2. Substances extractibles par l'eau

Faire une décoction pendant 15 mn d'1 g de poudre dans 20 ml d'eau distillée. Mettre le filtrat dans une capsule ou dans un ballon préalablement taré puis évaporer à sec. Peser ensuite la capsule ou le ballon à froid et déduire la masse du résidu.

#### 1.2.3.3. Substances extractibles par l'éthanol 70 %

Faire macérer 1g de poudre dans 20 ml d'éthanol 70 % pendant 24 H. Filtrer, mettre le filtrat dans une capsule tarée, évaporer à sec (au bain-marie). Peser ensuite la capsule à froid et déduire la masse du résidu.

#### 1.2.3.4. **Cendres**

Matériel : le matériel est identique à celui utilisé pour la détermination de la teneur en eau par la méthode gravimétrique.

#### Cendres totales

Les cendres proviennent des tissus de la plante ou des éléments étrangers (sable, terre) adhérant à la drogue végétale. Elles sont obtenues par calcination complète de la matière végétale dans l'air.

• <u>Mode opératoire</u>: peser une prise d'essai de la drogue (M) dans un creuset en silice préalablement taré (T). Après incinération au four à une température d'environ 600 °C, et refroidissement dans un dessiccateur, la masse du creuset contenant la prise d'essai est déterminée et notée M'.

La masse des cendres totales (MCt) contenues dans le creuset est donnée par la formule :

$$MCt = M' - M$$

La masse de la prise d'essai (PE) est donnée par la formule :

$$PE = M - T$$

Le pourcentage des cendres totales (% Ct) est donné par la formule :

% 
$$Ct = 100 \times$$

PE

Réaliser 5 essais de la même manière afin de déterminer un pourcentage moyen.

#### > Cendres sulfuriques

Ces cendres sont les substances résiduelles non volatilisées recueillies lorsque l'échantillon de drogue est calciné avec du H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Elles déterminent la quantité de substances inorganiques contenues dans la drogue.

Dans un creuset en quartz sec préalablement taré ( T ), introduire une prise d'essai de la poudre et peser l'ensemble ( M ).

La poudre est ensuite humectée avec  $H_2SO_4$  à 50 % et laissée à l'étuve pendant 24 heures à la température de 100 ° C, le creuset est porté à calcination dans un four à la température de 600 °C pendant 6 heures et pesé ensuite après refroidissement ( M °). La masse des cendres sulfuriques (MCs) s'obtient comme suit :

$$MCs = M' - T$$

La masse de la prise d'essai est : PE = M - T

Le pourcentage des cendres sulfuriques (% Cs ) est donné par la formule :

$$MCs$$
 %  $Cs = 100 \times \frac{DE}{DE}$ 

#### **Cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique 10 %**

La détermination de ces cendres se fait sur les cendres totales.

Introduire les cendres totales dans un erlenmeyer et ajouter 20 ml de Grunwald à 10 %. L'ensemble est porté à ébullition pendant 15 mn au bain-marie. Après refroidissement, recueillir et laver la matière non soluble sur un papier filtre sans cendre, puis, transférer le filtre dans un creuset sec préalablement taré ( T ).

Le creuset contenant le papier filtre est ensuite séché à l'étuve pendant 24 heures et calciné pendant 6 heures au four à la température de 600 °C. Après refroidissement dans un dessiccateur, peser le creuset contenant les cendres (M').

La masse des cendres chlorhydriques (mCc) est donnée par la formule :

$$mCc = M' - T$$

La masse de la prise d'essai est donnée par la formule :

$$PE = M' - M$$

Le pourcentage des cendres chlorhydriques (% Cc) s'obtient de la manière suivante :

$$mCc$$
 $mCc$ 
 $PE$ 

#### 1.2.3.5. Alcaloïdes

Alcaliniser une poudre de drogue avec une solution aqueuse alcaline : NH<sub>4</sub>OH dilué ; on obtient des alcaloïdes bases qui peuvent être extraits par des solvants organiques ( chloroforme, benzène, dichlorométhane, ...). Acidifier la solution organique ( H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dilué, ...). On obtient des alcaloïdes sels solubles dans une solution acide. Procéder à une séparation à l'aide d'une ampoule à décanter. Prendre la phase aqueuse et y ajouter de l'ammoniaque jusqu'à alcalinisation. Extraire avec un solvant organique à l'aide d'une ampoule à décanter. Prendre la phase organique et y ajouter un déshydratant (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) puis procéder à une évaporation à sec pour avoir les alcaloïdes totaux. Peser et rapporter la masse obtenue à la prise d'essai pour avoir le rendement de l'extraction.

Dans certains cas, il faut procéder à un dégraissage préalable (particulièrement pour les graines) avec des solvants comme l'éther de pétrole ou l'hexane.

#### 1.2.4. EXTRACTIONS

#### Extraction par les solvants à polarité croissante

Le soxhlet a été utilisé pour l'extraction par les solvants à polarité croissante. Pour ce faire, les solvants suivants ont été utilisés: l'éther de pétrole, le dichlorométhane, le méthanol et l'éthanol 70 %.

Une quantité de 10-20 g de la poudre à analyser a été introduite dans une cartouche placée dans le soxhlet surmonté d'un réfrigérant et porté par un ballon contenant le solvant d'extraction ( 100 - 140 ml ). Une série de plusieurs siphonnages a permis l'extraction jusqu'à épuisement de la poudre par chacun des solvants utilisés.

Le marc (résidu) a été séché et utilisé pour une digestion puis une décoction. Les extraits polaires ont été évaporés au Rotavapor, récupérés dans des ballons préalablement tarés en vue d'une lyophilisation. Les extraits apolaires ont été évaporés à l'air libre dans des flacons tarés. Les extraits secs obtenus ont été pesés par la suite afin de déduire le rendement de l'extraction; ils ont ensuite été conservés dans des flacons en verre hermétiquement fermés.

Ces extraits secs ont été utilisés pour les investigations ultérieures.

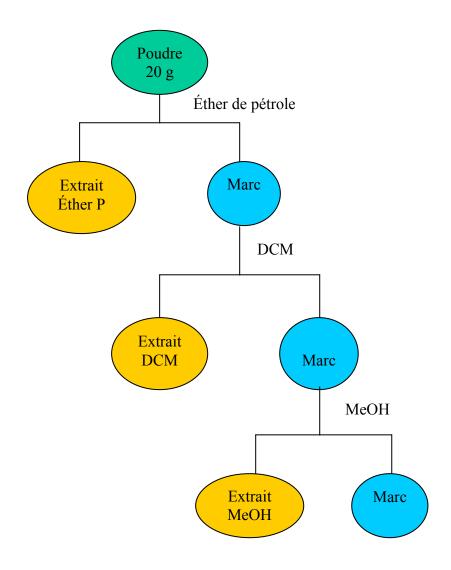


Figure 8 : Schéma d'extraction par les solvants à polarité croissante

#### > macération à l'eau

50 g de poudre de drogue et 500 ml d'eau distillée ont été introduits dans un erlenmeyer et soumis à une agitation magnétique pendant 24 heures à la température du laboratoire. Le mélange a été filtré et le filtrat lyophilisé après concentration. Cette opération a été reprise trois fois.

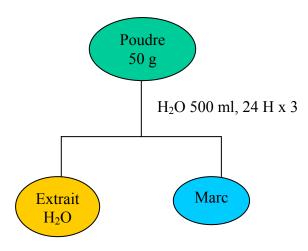


Figure 9 : schéma de la macération aqueuse

#### infusion à l'eau

A 50 g de poudre de drogue nous avons ajouté 500 ml d'eau bouillante. Le mélange a été ensuite filtré après 3 heures de contact et le filtrat fut concentré et lyophilisé.

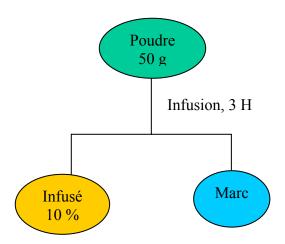


Figure 10 : schéma de l'infusion à l'eau

#### > macération à l'éthanol 70 %

Le mode opératoire est la même que celui de la macération aqueuse avec ici comme solvant de l'éthanol 70 % (500ml).

#### décoction à l'eau

A 30 - 50 g de poudre, il a été ajouté 300 – 500 ml d'eau distillée. L'ensemble fut porté à ébullition pendant environ 15 mn. Le mélange a été filtré et le filtrat lyophilisé après concentration. Le schéma de la décoction est analogue à celui de l'infusion.

#### 1.2.5. CHROMATOGRAPHIE

## [Chromatographie sur Couche Mince (CCM)]

La CCM est une méthode physico-chimique qui comporte une répartition du soluté entre deux phases, une phase stationnaire et une phase mobile. Elle permet de séparer les constituants d'une substance en fonction de leur vitesse de migration.

➤ <u>Matériels</u>: spatule, flacons, pince, crayon, règle, cutter, balance de type Sartorius, micropipettes, cuves avec couvercle, pulvérisateurs, plaque de Silice G 60 F<sub>254</sub>, lampe UV.

#### > Solvants:

#### ■ *De dissolution*:

Mélange méthanol : eau (1 : 1) pour les extraits aqueux.

Acétate d'éthyle ou dichlorométhane pour les extraits apolaires.

Méthanol pour les extraits alcooliques et hydroalcooliques.

#### ■ *De migration*:

Le système de solvants Ligroïne : Acétate d'éthyle (4 : 1) a été employé pour les extraits apolaires et le système Butanol : Acide acétique : Eau (60:15:25) pour les extraits polaires.

#### > Revélateurs:

Réactif de Godin ; Trichlorure d'aluminium : AlCl<sub>3</sub> ; Réactif de Dragendorff

#### > <u>Dépôts</u>:

Peser 10 mg d'extraits dans des flacons ; dissoudre dans 1ml de solvant de dissolution convenable. Déposer sur les plaques, 10 microlitres des différentes solutions à l'aide de micropipettes graduées. Introduire les plaques dans des cuves pour la migration. Après migration, sécher les plaques et procéder à l'observation à la lampe ultraviolette aux longueurs d'ondes 254 et 366 nm. Calculer ensuite les facteurs de rétention (Rf) de chacune des taches observées par la relation :

Rf = 

dx (distance parcourue par la substance x)

ds (distance parcourue par le front du solvant )

#### 1.3. ETUDE DES ACTIVITES BIOLOGIQUES

#### 1.3.1. <u>DETERMINATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE</u>

Cette activité a été déterminée par le principe de la réduction du radical DPPH (1-1 Diphényl 2 pycril hydrazile ) sur plaque de CCM.

Tous les extraits ont été soumis à ce test. Un mélange méthanol-eau (1 : 1) a servi à la dissolution des extraits polaires tandis que les extraits apolaires ont été dissous dans le DMSO (10 mg de chaque extrait ont été dissous dans 1 ml de solvant approprié). Des dépôts de 10 μl de chaque solution d'extrait ont été réalisés sur des plaques de Silicagel. Les systèmes de solvants Ligroïne : Acétate d'éthyle (4 : 1) et BAW (60 : 15 : 25) ont été respectivement employés pour la migration des extraits apolaires et polaires.

Après la migration des substances, les plaques de CCM ont été révélées avec une solution méthanolique à 2 mg/ml de 1-1 Diphényl 2 pycril hydrazile. Les zones d'activités ont été déterminées par l'apparition d'une coloration jaune sur fond violet.

#### 1.3.2. <u>ACTIVITE ANTIBACTERIENNE</u>

La méthode de diffusion en Agar a été utilisée pour ce test.

□ <u>Principe</u> : le principe est détaillé dans le chapitre des Généralités (sous-chapitre méthodes d'études des antimicrobiens).

#### Bactéries testées

Des souches cliniques de *Staphyloccocus aureus* et de *Escherichia coli*, obtenues à partir des prélèvements pathologiques du laboratoire de biologie médicale de l'INRSP ont été utilisées pour la recherche de l'activité antibactérienne. Les souches **ATCC 25922** et **ATCC 25923** respectivement pour *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* ont été utilisées comme souches de référence.

#### □ Matériels techniques

Etuve réglée à 37 °C, réfrigérateur, milieux de cultures, boîtes de Pétri, pipettes Pasteur stériles, eau physiologique, tubes stériles de 16 x 160 mm, disques non imprégnés de 6 mm de diamètre, microscope, micro pipettes de 20 μl, gaz butane; eau distillée, flacons stériles, balance de précision, spatule.

- o **Produits à tester** : extraits aqueux et organiques
- o <u>Produits témoins</u>: antibiotiques standards: pristinamycine, lincomycine, oxacilline et pénicilline ont été testés sur *S. aureus*; céfalotine, amoxicilline + acide clavulanique, gentamicine et ciprofloxacine sur *E. coli*.

☐ Matériels biologiques : les germes ont été isolés à partir des prélèvements suivants : prélèvement vaginal et prélèvement du liquide prostatique.

#### □ Mode opératoire :

#### Préparation des solutions d'extraits :

10 mg de lyophilisat ont été dissous dans 1 ml de diméthylsulfoxide (DMSO) ou d'eau distillée selon qu'il s'agit d'extraits organiques ou aqueux. Une série de 5  $\mu$ l et 6  $\mu$ l de la solution correspondant à des quantités de 50  $\mu$ g et 60  $\mu$ g d'extraits a été utilisée pour imprégner des disques de papier de diamètre connue ( 6 mm ).

#### > Identification et isolement des souches pathogènes :

L'observation microscopique des prélèvements a été effectuée après coloration par la méthode de Gram. Les prélèvements ont par la suite été ensemencés sur les milieux gélose ordinaire et EMB (Eosine Bleu de Méthylène) en vue d'une culture. Les colonies obtenues après 24 heures ont été identifiées (par Galerie API 20 E). *Staphylococcus aureus* a été identifié par le test à la catalase suivi du test au Staphylo-KIT. Les souches ainsi identifiés ont été repiquées sur une gélose nutritive en tube et gardées au réfrigérateur en vue de leur conservation.

#### Préparation des milieux de culture

#### Gélose EMB

Mettre en suspension 35 g de poudre dans un litre d'eau distillée. Après un mélange soigneux, chauffer en agitant jusqu'à ébullition en vue d'une complète dissolution. Stériliser la préparation à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

#### Gélose de Müeller Hinton

Introduire 35 g de poudre dans un litre d'eau puis chauffer jusqu'à dissolution complète. Ensuite procéder à une stérilisation de la solution obtenue à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes. Après refroidissement, transférer la solution dans des boites de Pétri.

#### **Test proprement dit** (Technique de diffusion en Agar):

#### Jour 1

Les souches conservées sur la gélose nutritive ont été repiquées sur les milieux de cultures sélectifs. *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ont été respectivement repiqués sur gélose Columbia et gélose EMB. Les milieux de culture ont été incubés à l'étuve à 37 °C pendant 24 heures.

Jour 2

Des disques blancs de 6 mm de diamètre ont été confectionnés avec du papier buvard et stérilisés à l'autoclave.

Ces disques ont ensuite été imprégnés de 5 et 6 µl de la solution d'extrait et laissés sécher dans des boîtes de Pétri, soit des dosages de 50 et 60 µg d'extraits par disque.

• <u>Préparation de la suspension bactérienne</u> : les suspensions bactériennes ont été préparées par rapport à une solution de référence (MacFarland 0,5).

Mise en test

La suspension bactérienne a été coulée sur des boîtes de Pétri contenant de la gélose Müeller Hinton. Après inondation de toute la surface du milieu par la suspension bactérienne, le surnageant a été aspiré à l'aide d'une pipette de transfert.

Chacune des boîtes a reçu 5 disques reconnus par un numéro d'identification des extraits apposé à la face inférieure de la boîte. Des antibiotiques standard ont été testés dans les mêmes conditions. Les milieux ont été incubés à l'étuve à 37 °C pendant au moins 18 heures

Jour<sub>3</sub>

Après 18 – 24 heures d'incubation, les diamètres des zones d'inhibition autour de chaque disque ont été mesurés en vue d'apprécier l'activité inhibitrice des extraits et des antibiotiques testés.

#### 1.3.3. DETERMINATION DE L'ACTIVITE ANTIFONGIQUE

La méthode bio autographique a été employée pour la détermination de cette activité.

➤ <u>Principe</u> : le principe est détaillé dans le chapitre Généralités (sous-chapitre méthodes d'études des antimicrobiens ).

#### > Matériels

#### - Matériels techniques :

Idem à ceux utilisés pour l'activité antibactérienne avec en plus des plaques et des cuves en verre pour la chromatographie.

#### - Matériel biologique :

Prélèvements vaginaux

- Champignon testé
- o Les tests ont porté sur des souches cliniques de *Candida albicans*, issues des prélèvements vaginaux réalisés au laboratoire de biologie médicale de l'INRSP.

#### Produits à tester et témoin

Les extraits de drogues devant subir le test ont été utilisés à des concentrations progressives de 3 mg/ml et 6 mg/ml. Les extraits polaires ont été dissous dans le mélange Méthanol-Eau (1-1) et les extraits apolaires dans des solvants appropriés.

La nystatine en solution chloroformique à la concentration de 0.1 mg / 10 ml a été utilisée comme témoin positif.

#### Milieux de culture

Trois milieux ont servi à la réalisation de ce test : les milieux Gélose Sabouraud + Chloramphénicol + Actidione, Bouillon Sabouraud (SDA: Sabouraud Dextrose Agar) et Malt agar.

#### Préparation des milieux :

#### • <u>Sabouraud gélose + Chloramphénicol + Actidione</u>

A 15 g de poudre de Sabouraud gélose + Chloramphénicol + Actidione, ajouter 1 litre d'eau distillée. Chauffer jusqu'à la dissolution complète de la poudre. Stériliser le milieu ainsi préparé à l'autoclave à la température de 121 °C pendant 15 minutes.

N.B.: Le Chloramphénicol et l'Actidione permettent l'isolement du *Candida albicans* en éliminant les germes saprophytes.

#### • Milieu Sabouraud liquide

Dissoudre 15 g de poudre de gélose sabouraud dans un litre d'eau distillée. Procéder au chauffage du mélange en agitant jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène. Stériliser le milieu ainsi préparé à l'autoclave à la température de 121 °C pendant 15 minutes.

#### • Milieu Malt Agar.

Ajouter à 48 g de Malt Agar, 1 litre d'eau déminéralisée puis chauffer au bainmarie bouillant jusqu'à la dissolution complète du Malt Agar. Mettre le mélange avec précaution à l'autoclave pendant 10 minutes à la température de 121°C.

#### ➤ <u>Identification du germe à tester</u> :

Le germe a été identifié comme suit : un examen microscopique à l'état frais et après coloration au Gram a été suivi d'une culture et d'un test de filamentation.

■ <u>Test de filamentation</u>: il est préalable au test biologique et atteste de l'authenticité de la souche de *Candida albicans*. Pour ce faire, ensemencer une colonie issue d'une culture de 24 heures dans un tube contenant 0.5 – 1 ml de sérum humain. L'inoculum doit être suffisant pour donner un très léger trouble dans le milieu (0,5 ml de sérum pour une colonie). Observer

au microscope entre lame et lamelle (objectif 40) une goutte de la suspension après 3 heures d'incubation à 37 °C à l'étuve. Procéder enfin à l'appréciation de la production de tubes germinatifs caractéristiques de *Candida albicans*.

#### **Conservation des souches :**

Conserver les souches sur le milieu Sabouraud + chloramphénicol + actidione coulé en tube incliné.

Pour ce faire, prendre une jeune colonie de 24 heures et l'ensemencer sur la gélose en tube. Incuber pendant 24 heures à 37 °C puis garder le tube en anaérobiose (les tubes ne doivent pas être hermétiquement fermés).

<u>**NB**</u>: Les souches de *Candida albicans* doivent être repiquées tous les deux mois.

#### ➤ Mode opératoire :

• <u>Préparation des chromatogrammes</u>: la chromatographie a été réalisée sur des plaques de verre avec des dépôts de 20 μl de solution d'extraits et de 5 μl de la solution d'antifongique témoin.

Le système de solvants **BAW** (60, 15, 25) a été utilisé pour la migration des extraits polaires ; pour les extraits apolaires, le système **Ether de pétrole: Acétate d'éthyle (4 : 1)** a été employé. Après élution, les plaques ont été séchées à l'air libre à la température du laboratoire afin d'éliminer les traces de solvants, puis observées à l'UV 254 et 366 nm.

#### Procédure du test

Le test se déroule en quatre jours :

#### Jour 1

(1) Repiquer une culture de *Candida albicans* sur le milieu de culture Sabouraud gélosé + chloramphénicol + actidione en boîte de Pétri et incuber à 30 °C pendant 24 heures ;

#### Jour 2

- (2) Préparer deux erlenmeyers contenant 50 ml de milieu de culture Sabouraud liquide et les stériliser à l'autoclave pendant 15 mn à 121°C.
- (3) Ajouter à froid à l'aide d'une pointe de spatule une colonie issue de (1) dans l'un des milieux préparés en (2).
- (4) Laisser sous agitation pendant une nuit.

#### Jour 3

- (5) En début de matinée, prendre 0.5 ml du milieu précédent (trouble) et l'ajouter au second milieu préparé en (2), soit une dilution de 100 fois.
- (6) Laisser sous agitation pendant environ 7 heures. Ce temps est nécessaire pour atteindre la phase de croissance exponentielle de *Candida albicans*
- (7) Pendant ce temps, préparer les milieux de culture à base de malt agar qui seront la base de l'inoculum versé sur les plaques CCM, et les repartir en erlenmeyers de 50 ml. La quantité du milieu de culture est fonction de la dimension de la plaque ; pour une plaque de 10 X 10 cm, la quantité de malt agar sera de 10 ml.
- (8) Maintenir le malt agar fondu au bain marie à 48 °C car au-dessus de cette température, les levures ne survivent pas et en dessous de 43 °C, le milieu se solidifie.
- (9) Ajouter 0.5 ml de la solution obtenue en **(5)** à chaque fraction de 50 ml de malt agar fondu, afin d'obtenir un inoculum contenant 10<sup>5</sup> cellules / ml.
- (10) Laisser à nouveau reposer à 48 °C;
- (11) Verser l'inoculum sur les plaques à l'aide de pipettes stériles à raison de 10 ml par portion de 10 X 10 cm ;
- (12) Incuber à 30 °C pendant une nuit en atmosphère humide en utilisant des boîtes en plastique contenant un papier buvard trempé;

#### Jour 4

- (13) En début de matinée, révéler les plaques à l'aide d'une solution aqueuse de bromure de méthylthiazoyltétrazolium (MTT) à 2,5 mg/ml. Les zones d'inhibition de croissance apparaissent sous forme de taches incolores sur fond violet, après une nouvelle incubation de 4 heures.
- (14) Gicler de l'éthanol sur les plaques afin de tuer les microorganismes.
- (15) Recouvrir les plaques de feuilles de plastiques transparentes afin de les conserver (laisser sécher préalablement).

# RESULTATS

#### 2. RESULTATS

#### 2.1. ENQUETE ETHNOBOTANIQUE

L'enquête a permis de recenser les principales utilisations en médecine traditionnelle des plantes qui font l'objet de cette étude. Trente et deux thérapeutes traditionnels ont été interrogés dont 26 hommes et 6 femmes. Ces personnes ont un âge compris entre 28 et 85 ans. L'annexe 2 donne la liste des thérapeutes traditionnels avec l'âge, l'ethnie, le quartier et l'ordre d'interview. Le tableau IV donne la répartition des thérapeutes en fonction de l'âge. Au cours de cette enquête, soixante et six (66) recettes d'indications diverses dont 36 pour *Anthocleista djalonensis*, 17 pour *Heliotropium indicum* et treize pour *Erythrina senegalensis* ont été obtenues.

Les feuilles, les écorces de racines et/ou de tronc de *A. djalonensis* sont utilisées en bain, boisson, fumigation et/ou en poudre contre les maux de ventre, le paludisme, les aménorrhées, l'impuissance sexuelle, les dysménorrhées, les candidoses, les vers intestinaux ainsi que pour l'évacuation des lochies.

Les écorces de tronc, les racines, les feuilles, les branches, les fleurs, les fruits de *E. senegalensis* sont utilisés en bain, boisson, poudre ou comme cure-dents contre les quatre premières maladies sus-citées mais aussi contre la toux, la stérilité féminine et la gonococcie.

Les parties aériennes associées ou non à d'autres drogues, la plante entière ou les fleurs de *H. indicum* sont employées en bain, boisson et/ou en fumigation contre principalement les aménorrhées, la toxoplasmose, les douleurs sur grossesse avec menace d'avortement, la bilharziose, la cataracte, le vertige, la fièvre de l'enfant.

Les différentes recettes sont présentées dans l'annexe 3.

Tableau IV: Répartition des tradipraticiens selon l'âge

Age (ans)	Nombre	Pourcentage
25 – 29	1	3 %
30 - 39	3	9 %
40 - 49	4	13 %
50 - 59	4	13 %
60 - 69	10	31 %
70 - 79	7	22 %
80 - 89	3	9 %
Total	32	100 %

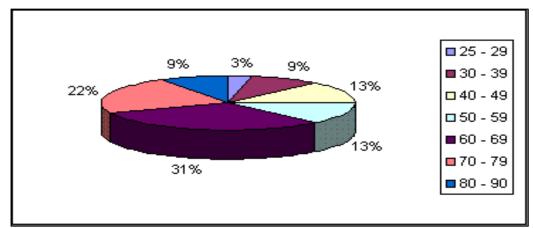


Figure 11 : Répartition des tradipraticiens en fonction de l'âge

<u>Tableau V</u>: Répartition des tradipraticiens selon le sexe

Sexe	Nombre	Pourcentage
Masculin	26	81 %
Féminin	6	19 %
Total	32	100 %

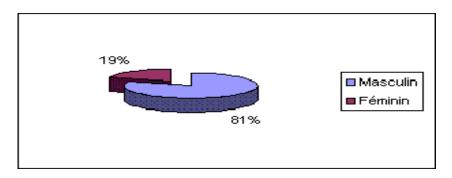


Figure 12 : Répartition des tradipraticiens selon le sexe

La plupart des tradipraticiens interrogés sont de sexe masculin (81 %) et la tranche d'âge la plus représentée est celle de 60 à 69 ans (31 %).

Tableau V : Indications les plus fréquentes des recettes obtenues

Indications (Maladies ou symptômes)	Fréquences	
<b>Douleurs abdominales</b>	18	_
Paludisme	8	
Impuissance sexuelle	5	
Stérilité féminine	5	
Fièvre	4	
Arrêt des règles	4	
Gonococcie	3	
Dysménorrhée	2	

# Indications les plus fréquentes des recettes obtenues

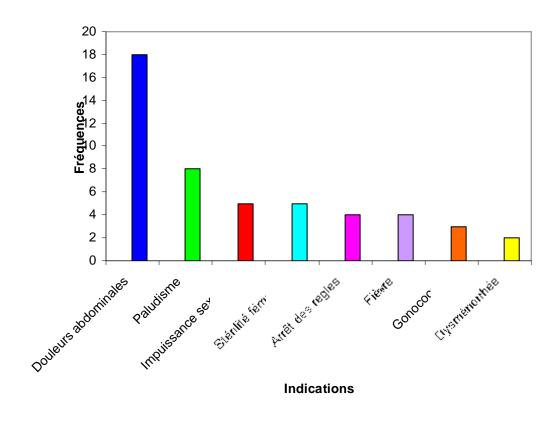


Figure 13 : Indications les plus fréquentes des recettes obtenues

### 2.2. ETUDES PHYTOCHIMIQUES

#### 2.2.1. MATERIEL VEGETAL

Les poudres obtenues sont de couleurs rose-gris, grisâtre et verdâtre respectivement pour les écorces de tronc de *A. djalonensis*, les écorces de tronc et de racines de *E. senegalensis*; elles sont de couleur verte pour les feuilles de *A. djalonensis* et les parties aériennes de *H. indicum*. Les parties aériennes de *H. indicum* ont une forte odeur; les autres drogues sont d'odeur faible.

#### 2.2.2. REACTIONS DE CARACTERISATIONS

Tableau VI: Résultats des réactions de caractérisation

Groupes chimiques	НІРА	ESET	ESER	ADF	ADET
Tanins catéchiques	++++	+++	++	+++	+++
Tanins galliques	++++	-	-	-	-
Saponosides	++	+++	++++	++	++++
Oses et holosides	+++	++	+++	+++	+++
Hétérosides cardiotoniques	++	++	++	++	++
Stérols et terpènes	++	+++	+++	++	++
Mucilages	++++	-	-	+++	-
Flavonoïdes	++	+	+	++	+
Alcaloïdes	++	++	+++	++	++
Coumarines	-	-	+++	+	-

HIPA: parties aériennes de Heliotropium indicum

ADF: feuilles de Anthocleista djalonensis

 $\mathbf{ESET}$  : écorces de tronc de  $\mathit{Erythrina}$  senegalensis

**ADET** : écorces de tronc de *Anthocleista djalonensis* 

**ESER** : écorces de racines de *Erythrina senegalensis* 

Le screening phytochimique a révélé la présence de tanins, de saponosides, de flavonoides, d'oses et holosides, d'alcaloïdes, de glucosides cardiotoniques, de stérols et terpènes dans tous les échantillons analysés.

Les mucilages ont été caractérisés dans deux échantillons (*HIPA*, *ADF*).

Deux échantillons (*ESER*, *ADF*) contiennent des coumarines à des degrés variables.

Les composés suivants n'ont été retrouvés dans aucune des drogues étudiées : dérivés anthracéniques, caroténoïdes, composés réducteurs, hétérosides cyanogénétiques.

# **2.2.3. DOSAGES**

 $\underline{Tableau\ VII}$  : Pour centage des substances dosées dans les différentes parties des plantes étudiées.

Nature du dosage	ADF	ADET	ESET	ESER	HIPA
Eau (Gravimétrie)	5 %	4 %	4 %	4 %	5 %
Eau (Volumétrie)	4 %	6 %	5 %	4 %	8 %
Cendres totales	4.65 %	2.70 %	10 %	14 %	17 %
Cendres chlorhydriques	0.62 %	0.70 %	2 %	3 %	3 %
Cendres sulfuriques	7 %	5.80 %	13 %	19 %	21 %
Substances extractibles par l'eau	30 %	20 %	10 %	15 %	24 %
Substances extractibles par EtOH 70 %	38 %	51 %	10 %	12 %	28 %
Indices de mousse	167	200	500	333	125
Alcaloïdes totaux	0.14 %	0.4 %	0.8 %	1%	0.25 %

Les teneurs en eau dans toutes les drogues n'excèdent pas 10 %, limite supérieure requise par la pharmacopée internationale pour une bonne conservation des drogues. Dans nos conditions expérimentales, le taux d'alcaloïdes totaux le plus élevé a été retrouvé dans les écorces de racines de *Erythrina senegalensis* (1 %) et le plus faible taux dans les feuilles de *Anthocleista djalonensis* (0.14 %).

#### 2.2.4. EXTRACTIONS

<u>Tableau VIII</u>: Résultats des extractions avec l'eau et l'éthanol 70 % des drogues de Anthocleista djalonensis

Extraits	Drogues	Rendement (%)	Aspects / Couleurs
Macéré H <sub>2</sub> O	Feuilles	26	Cristallin / Noir-verdâtre
	Ecorces de tronc	20	Floconneux / Grisâtre
Macéré EtOH 70 %	Feuilles	38	Pâteux / Noir-verdâtre
	Ecorces de tronc	10	Amorphe / Beige
Décocté 10 %	Feuilles	20.50	Pâteux / Marron
	Ecorces de tronc	10	Pâteux / Brun-noirâtre
Infusé 10 %	Feuilles	22	Cristallin / Marron
	Ecorces de tronc	12	Feuillet / Brunâtre

Le rendement le plus élevé a été obtenu avec le macéré éthanolique des feuilles (38 %) et le plus faible rendement avec le décocté à 10 % des écorces de tronc (10 %).

On constate que pour les deux organes de cette plante, l'éthanol 70 % extrait plus de composés que l'eau.

<u>Tableau IX</u>: Résultats des extractions avec l'eau et l'éthanol 70 % des drogues de Erythrina senegalensis

Extraits	Drogues	Rendement (%)	Aspects / Couleurs
Macéré H <sub>2</sub> O	Ecorces de racines	24	Floconneux / Jaune-verdâtre
	Ecorces de tronc	20	Floconneux / Ocre jaune
Macéré EtOH 70 %	Ecorces de racines	40	Amorphe / Ocre froid
	Ecorces de tronc	28	Amorphe / Ocre clair
Décocté 10 %	Ecorces de racines	20	Collant / Marron
	Ecorces de tronc	12	Cristallin / Marron
Infusé 10 %	Ecorces de tronc	12	Pâteux / Rouge-brun

Le macéré à l'éthanol 70 % des écorces de racines a donné le rendement le plus élevé (40 %) tandis que le plus faible rendement a été obtenu avec l'infusé à 10 % et le décocté à 10 % des écorces de tronc (12 %). Le constat fait pour *Anthocleista djalonensis* est valable pour *Erythrina senegalensis*.

<u>Tableau X</u>: Résultats des extractions avec l'eau et l'éthanol 70 % des parties aériennes de *Heliotropium indicum* 

Extraits	Drogues	Rendement (%)	Aspects / Couleurs
Macéré H <sub>2</sub> O	Parties aériennes	22	Paillette / Noir-verdâtre
Macéré EtOH 70 %	Parties aériennes	18	Paillette / Noir-verdâtre
Décocté 10 %	Parties aériennes	20	Pâteux / Noir-verdâtre
Infusé 10 %	Parties aériennes	22	Paillette / Gris-chaud

L'infusé à 10 % et le macéré à l'eau ont donné les rendements les plus élevés (22 %) tandis que le macéré à l'éthanol 70 % a donné le plus faible rendement (18 %).

Contrairement aux plantes précédentes, on constate que les parties aériennes de *Heliotropium indicum* contiennent plus de substances solubles dans l'eau que dans l'éthanol 70 %.

<u>Tableau XI</u>: Résultats de l'extraction avec les solvants à polarité croissante des drogues de *Anthocleista djalonensis* 

Extraits	Drogues	Rendement (%)	Aspects / Couleurs
Ether-P	Feuilles	0.90	Collant/ Vert
	Ecorces de tronc	0.20	Feuillet / Jaune-vert
DCM	Feuilles	2.35	Collant / Vert-foncé
	Ecorces de tronc	0.20	Feuillet / Jaune-orangé
МеОН	Feuilles	17.15	Pâteux / Vert-foncé
	Ecorces de tronc	1.30	Collant / Orange
H <sub>2</sub> O 50 °C	Feuilles	4.75	Floconneux brillant / Marron
	Ecorces de tronc	8.35	Floconneux / Marron
H <sub>2</sub> O 100 °C	Feuilles	0.45	Floconneux / Marron
	Ecorces de tronc	4.25	Floconneux / Marron

Le rendement le plus élevé d'extraction a été obtenu avec l'extrait méthanolique des feuilles (17.15 %) et le plus faible avec l'extrait à l'éther de pétrole des écorces de tronc (0.20 %) pour *Anthocleista djalonensis*.

Ether-P: extrait à l'éther de pétrole EtOH70 %: extrait à l'éthanol 70 %

DCM : extrait au dichlorométhane  $$H_2O 50\ ^\circ C$$  : digesté MeOH : extrait méthanolique  $$H_2O 100\ ^\circ C$$  : décocté

<u>Tableau XII</u> : Résultats de l'extraction avec les solvants à polarité croissante des drogues de *Erythrina senegalensis* 

Extraits	Drogues	Rendement (%)	Aspects / Couleurs
Ether-P	Ecorces de racines	0.20	Collant / Ocre jaune
	Ecorces de tronc	0.10	Feuillet / Ocre-jaune
DCM	Ecorces de racines	1.35	Pâteux / Jaune-orangé
	Ecorces de tronc	1.15	Feuillet / Ocre-jaune
МеОН	Ecorces de racines	1.10	Pâteux / Orange
	Ecorces de tronc	0.65	Feuillet / Jaune-orangé
H <sub>2</sub> O 50 °C	Ecorces de racines	8.75	Floconneux / Ocre jaune
	Ecorces de tronc	4	Floconneux brillant / Jaune-vert
H <sub>2</sub> O 100 °C	Ecorces de racines	6.40	Floconneux / Marron
	Ecorces de tronc	1.80	Amorphe / Ocre jaune

Le digesté des écorces de racines a donné le rendement le plus élevé (8.75 %); le plus faible rendement a été obtenu avec l'extrait à l'éther de pétrole des écorces de tronc (0.10 %).

<u>Tableau XIII</u>: Résultats de l'extraction avec les solvants à polarité croissante des parties aériennes de *Heliotreopium indicum* 

Extraits	Drogues	Rendement (%)	Aspects / Couleurs
DCM	Parties aériennes	3.50	Collant / Vert-foncé
МеОН	Parties aériennes	6.30	Pâteux / Vert
EtOH 70 %	Parties aériennes	4	Pâteux / Verdâtre
H <sub>2</sub> O 50 °C	Parties aériennes	8.50	Amorphe / Ocre froid
H <sub>2</sub> O 100 °C	Parties aériennes	4.10	Paillette / Noir-chaud

Le digesté a donné le rendement le plus élevé (8.50 %). Le rendement le plus faible a été obtenu avec l'extrait au dichlorométhane (3.50 %).

Tableau XIV : Pourcentage des substances extractibles à l'éthanol et à l'eau

Parties utilisées	Extraction	Rendement
Parties aériennes de <i>Heliotropium indicum</i>	Ethanolique	28 %
Tarres de Hemon optum mateum	Aqueuse	24 %
Feuilles de Anthocleista djalonensis	Ethanolique	38 %
•	Aqueuse	30 %
Ecorces de tronc de Anthocleista djalonensis	Ethanolique	51 %
	Aqueuse	20 %
Ecorces de tronc de Erythrina senegalensis	Ethanolique	10 %
	Aqueuse	10 %
Ecorces de racines de Erythrina senegalensis	Ethanolique	12 %
	Aqueuse	15 %

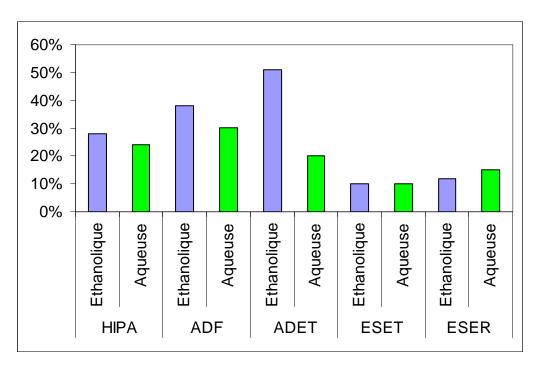


Figure 14: Pourcentage des substances extractibles à l'eau et à l'éthanol

Les écorces de tronc de *A. djalonensis* ont présenté le rendement le plus élevé en substances extractibles par l'éthanol (51 %), les substances hydrosolubles se trouvant plus dans les feuilles de la même plante (30 %).

#### 2.2.5. CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE ( CCM )

#### 2.2.5.1. Résultats de la CCM des extraits apolaires

<u>Tableau XV</u>: Résultats de la CCM des extraits éther de pétrole des échantillons d' *Anthocleista djalonensis* 

Rf		ADF			ADET	
	254 nm	366 nm	Godin	254 nm	366 nm	Godin
0.04	-	rose	-	-	-	-
0.14	visible	rose-violacé	-	visible	-	-
0.22	-	rose-violacé	-	Visible	-	-
0.25	visible	rose-violacé	-	-	-	_
0.28	visible	rose	-	-	-	_
0.30	visible	marron	-	visible	-	marron
0.34	visible	rouge	vert	-	-	_
0.38	visible	violacé	marron	-	bleu-ciel	-
0.44	-	-	-	visible	-	_
0.50	visible	rouge	-	-	-	-
0.66	-	-	-	-	-	violacé
0.71				visible		
0.78	visible	-	-	-	-	rose-violacé
0.84	-	_	-	visible	-	_
0.94	-	-	-	-	-	rose-violacé

Les feuilles de *A. djalonensis* ont présenté plus de substances fluorescentes (à 366 nm ) que les écorces de tronc.

<u>Tableau XVI</u>: Résultats de la CCM des extraits éther de pétrole des échantillons d' *Erythrina senegalensis* 

Rf		ESER			ESET	
	254 nm	366 nm	Godin	254 nm	366 nm	Godin
0.14	visible	jaune-vert	-	visible	-	-
0.22	visible	-	-	-	-	-
0.29	visible	-	marron	visible	violet	jaune
0.31	-	-	-	visible	violet	marron
0.34	visible	-	-	visible	-	-
0.36	-	bleu-ciel	-	-	bleu-ciel	-
0.39	visible	-	-	visible	-	-
0.45	visible	-	-	visible	-	-
0.64	visible	-	-	-	-	-
0.67	-	-	-	-	-	violet
0.93	-	-	violet	-	-	violet

Dans les deux organes, les substances observées aux Rf 0.34, 0.36, 0.39, 0.45 et 0.93 présentent les mêmes caractéristiques avec les révélateurs.

N.B : Pour toutes les drogues testées, les taches observées au point de dépôt ont une fluorescence à 366 nm et une coloration jaune après l'action du réactif de Godin. Ces taches

pourraient caractériser les flavonoïdes. Les colorations violettes pourraient indiquer la présence de composés terpéniques.

<u>Tableau XVII</u>: Résultats de la CCM des extraits DCM des échantillons d'*Anthocleista djalonensis* 

Rf		ADF			ADET	
	254 nm	366 nm	Godin	254 nm	366 nm	Godin
0.04	visible	rose	-	-	-	-
0.06	visible	rose-violacé	-	-	-	-
0.15	visible	rose-violacé	-	-	-	-
0.21	visible	rose-violacé	-	-	-	-
0.24	visible	rose	-	-	-	-
0.30	visible	rouge	vert	visible	-	-
0.36	-	-	-	-	bleu-ciel	-
0.42	-	rose	-	visible	-	violet
0.70	-	-	-	-	-	violet
0.82	-	-	-	visible	-	-
0.93	-	-	-	-	-	violet

Les deux organes ont présenté des substances aux **Rf 0.30** et **0.42**. Toutes les substances vues à 254 nm dans les feuilles ont présenté une fluorescence à 366 nm.

<u>Tableau XVIII</u>: Résultats de la CCM des extraits DCM des échantillons d'*Erythrina* senegalensis

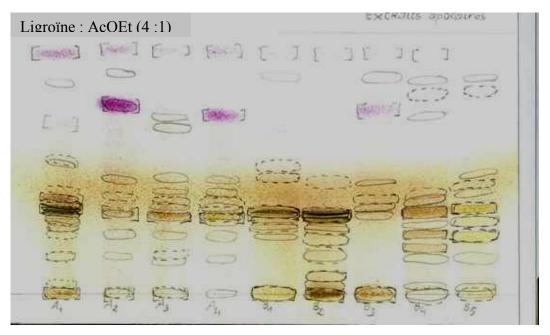
Rf		ESER			ESET	
	254 nm	366 nm	Godin	254 nm	366 nm	Godin
0.03	visible	-	-	visible	-	-
0.14	visible	-	-	visible	-	-
0.18	visible	-	marron	-	-	-
0.22	visible	-	-	visible	violet	jaune-orangé
0.24	-	-	marron	-	-	-
0.28	visible	-	-	visible	-	-
0.31	visible	-	marron	-	-	-
0.33	-	-	-	visible	violet	jaune-orangé
0.38	-	bleuâtre	-	visible		-
0.42	-	-	-	-	bleu-clair	-
0.67	visible	-	-	-	-	-
0.76	-	violacé	-	_	bleuâtre	-
0.82	visible	-	-	visible	-	-
0.91	-	-	violacé	_	-	

Les Rf en gras indiquent les substances observées dans les deux échantillons. Les taches aux **Rf 0.03** et **0.14** ont les mêmes caractéristiques avec les révélateurs utilisés pour les deux organes.

Tableau XIX : Résultats de la CCM de l'extrait DCM d' Heliotropium indicum

Rf	254 nm	366 nm	Godin
0	Visible	Jaune-orangé	Jaune-orangé
0.21	Visible	-	-
0.25	Visible	Rose-violacé	-
0.29	Visible	Rose-violacé	-
0.31	Visible	Rouge	Vert
0.33	Visible	-	-
0.45	-	Violet	-
0.49	-	Bleuâtre	-
0.84	Visible	-	-
0.94	-	-	violet

La plupart des taches ont été vues à 254 nm et ont présenté une fluorescences à 366 nm.



**(A)** 

Figure 15: Chromatogramme des extraits apolaires révélé par le réactif de Godin

Front du solvant: 8 cm

Support : Plaque de Silice G60F<sub>254</sub> en aluminium

Dépôt : 5 µl

Eluant : Ligroïne : AcOEt (4:1) Révélateur : - Réactif de Godin (A)

# 2.2.5.2. Résultats de la CCM des extraits polaires

Dans les tableaux qui suivent, sont présentés seulement les résultats de la CCM des extraits réalisés par l'eau et l'éthanol.

Tableau XX: Résultats de la CCM des extraits polaires

Extraits	Rf	254 nm	366 nm	Godin
Décocté 10 % des parties aériennes de <i>H.indicum</i>	0.31	-	Violet clair	-
•	0.46	Visible	-	-
	0.48	-	Violet clair	-
	0.68	Visible	-	-
Décocté 10 % des écorces de tronc de E.senegalensis	0.35	_	-	Jaune
J	0.46	Visible	Violet clair	_
	0.54	Visible	-	Violet
	0.56	-	Violet clair	-
	0.58	-	-	Violet clair
	0.66	Visible	Bleu clair	Jaune
	0.76	Visible	-	-
	0.84	-	Rose-violacé	-
Décocté 10 % des Ec. de racines de <i>E.senegalensis</i>	0.35	_	_	Jaune
	0.46	Visible	Violet clair	-
	0.54	Visible	-	Violet
	0.58	_	Violacé	Violet
				clair
	0.66	Visible	Rose-violacé	Jaune
	0.76	Visible	-	-
	0.84	-	Bleu clair	-
Décocté 10 % des feuilles de A. djalonensis	0.16	Visible	-	-
	0.20	-	Bleu clair	-
	0.33	-	Bleu clair	-
	0.45	Visible	Bleu clair	-
	0.62	Visible	-	-
	0.66	-	Rose violacé	Jaune
	0.74	Visible	-	-
	0.78	-	-	Jaune
	0.84	-	Bleu	-
Décocté 10 % des écorces de tronc de A. djalonensis	0.10	Visible	-	-
	0.26	Visible	-	-
	0.30	-	-	Jaune
	0.35	Visible	-	-
	0.44	-	Bleu	-
	0.64	Visible	-	Jaune

De nombreuses taches ont une fluorescence violette à 366 nm. Les taches observées au Rf 0.66 dans le décocté des deux organes d' *Erythrina senegalensis* diffèrent seulement par leur fluorescence à 366 nm.

<u>Tabeau XXI</u>: Résultats de la CCM des extraits polaires (suite)

Extraits	Rf	254 nm	366 nm	Godin
Macéré H <sub>2</sub> O des feuilles de <i>A. djalonensis</i>	0.17	Visible	-	-
	0.32	-	Vert	-
	0.51	Visible	-	-
	0.64	Visible	-	-
	0.68	-	Violet	-
	0.83	-	Bleu	-
Macéré H <sub>2</sub> O des Ec. de tronc de <i>E.senegalensis</i>	0.45	Visible	-	Violet clair
	0.49	-	Bleu clair	Violet
	0.53	-	-	Violet clair
	0.56	Visible	-	
	0.60	-	Rose violacé	Jaune
	0.66	Visible	-	-
	0.84	-	Bleu clair	-
	0.96	-	-	Jaune
Macéré H <sub>2</sub> O des part. aériennes de <i>H. indicum</i>	0.74	Visible	-	-
Macéré H <sub>2</sub> O des Ec. de tronc de <i>A.djalonensis</i>	0.64	Visible	-	-
Macéré H <sub>2</sub> O des Ec. de racines de <i>E.senegalensis</i>	0.40	Visible	_	-
-	0.46	Visible	-	-
	0.49	-	Bleu clair	Violet clair
	0.53	-	-	Violet clair
	0.57	Visible	-	-
	0.60	-	Rose violacé	Jaune
	0.70	Visible	Bleu clair	-
	0.84	-	Bleu ciel	-
	0.96	-	Bleu ciel	Jaune orangé

Au Rf 0.64, le macéré aqueux des organes de *Anthocleista djalonensis* a présenté une tache visible uniquement à 254 nm. Les taches observées aux Rf 0.49 et 0.60 avec les macérés aqueux des échantillons d'*Erythrina senegalensis* présentent les mêmes caractéristiques avec les différents révélateurs.

<u>Tabeau XXII</u>: Résultats de la CCM des extraits polaires (suite)

Extraits	Rf	254 nm	366 nm	Godin
m <sub>EtOH 70%</sub> des parties aériennes de <i>H.indicum</i>	0.50	Visible	-	-
	0.85	-	Bleuâtre	-
	0.96	-	Jaune orangé	Jaune-verdâtre
m <sub>EtOH 70%</sub> des écorces. de tronc de <i>A.djalonensis</i>			-	-
	0.65	Visible	-	-
m <sub>EtOH 70%</sub> des feuilles de <i>A.djalonensis</i>	0.32	Visible	Bleu	Jaune
meton 70% des featiles de 11. ajaronensis	0.32	Visible	Bleu clair	-
	0.60	-	Bleu clair	_
		Visible	-	Jaune
	0.68	-	Violet clair	-
	0.70	_	Bleuâtre	_
	0.74	Visible	-	_
	0.78	-	Violet clair	Jaune
	0.84	Visible	Bleu ciel	-
	0.96	-	Rouge	Jaune verdâtre
	0.40			<b>3</b> 7: 1 ,
m <sub>EtOH 70%</sub> des Ec. de tronc de <i>E.senegalensis</i>	0.48	- */: -:1-1 -	-	Violet
	0.54	Visible	- Violet	- Violet elein
	0.60	- Visible	Violet	Violet clair
	0.65		-	-
	0.70 0.84	Visible	Bleu clair	-
	0.84	-	Bleu Clali	- Loung arongé
	0.90	-	-	Jaune orangé
m <sub>EtOH 70%</sub> des Ec. de racines de <i>E.senegalensis</i>	0.45	Visible	_	-
	0.48	-	-	Violet
	0.56	Visible	-	-
	0.60	-	-	Violet
	0.70	Visible	-	-
	0.84	-	Bleu ciel	-
	0.96	-	-	Orange
	0.98		Bleu ciel	<u> </u>

 $m_{EtOH~70~\%}$ : macéré à l'éthanol 70 % Le macéré éthanolique des feuilles de *Anthocleista djalonesis* a présenté plus de taches fluorescentes que les extraits éthanoliques des autres organes.

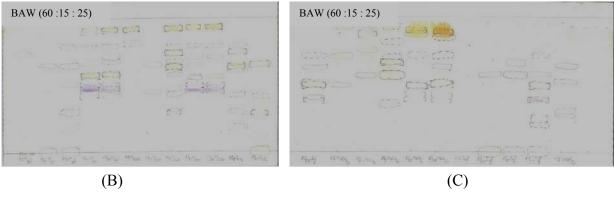
Tabeau XXIII : Résultats de la CCM des extraits polaires (fin)

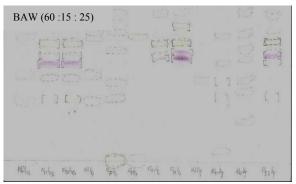
Extraits	Rf	254 nm	366 nm	Godin
Inf 10 % des écorces de tronc de A.djalonensis	0.56	Visible	-	-
Inf 10 % des feuilles de A.djalonensis	0.56	Visible	Bleuâtre	-
•	0.66	Visible	-	-
Inf 10 % des écorces de tronc de E.senegalensis	0.20	_	Bleu	-
<u> </u>	0.26	-	-	Jaune
	0.40	-	-	Violet
	0.48	Visible	-	-
	0.52	-	-	Jaune
	0.57	Visible	-	-

**Inf10 %**: infusé à 10 %

Peu de taches ont été observées avec les infusés des échantillons testés. Les infusés des parties aériennes de *Heliotropium indicum* n'ont pas présenté de taches visibles dans nos conditions expérimentales.

<u>Remarque</u>: d'une façon générale, les colorations jaunes obtenues après révélation par le réactif de Godin peuvent indiquer la présence de flavonoïdes. Les substances colorées en vert pourraient être des stérols et celles en violet pourraient suspecter des composés terpéniques.





Front du solvant: 8 cm

Support : Plaque de Silice G60F<sub>254</sub> en Aluminium

Dépôt : 5  $\mu l$ 

Eluant : Butanol-Acide acétique-Eau (60 : 15 : 25) Révélateur : - Réactif de Godin (B, C et D)

Figure 16 : chromatogrammes des extraits polaires après révélation par le réactif de Godin

# 2.3. <u>TESTS BIOLOGIQUES</u> 2.3.1 <u>RESULTATS DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE DES EXTRAITS DES</u> <u>DIFFERENTES DROGUES</u>

<u>Tableau XXIV</u>: RESULTATS DU TEST ANTIOXYDANT SUR CCM REALISE SUR LES EXTRAITS DANS LE SYSTEME BAW (60 :15 :25) APRES REVELATION PAR LE DPPH

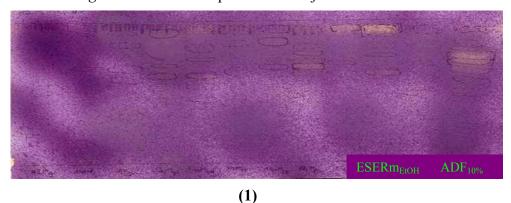
Extraits	Taches	Rf
Décocté 10 % des feuilles de Anthocleista djalonensis	Jaune Jaune	0.70 0.74
Macéré à l'éthanol 70 % des écorces de racines de Erythrina senegalensis	Jaune	0.92
Macéré à l'éthanol 70 % des écorces de tronc de Erythrina senegalensis	Jaune	0.94
Epuisé méthanolique des écorces de tronc de Erythrina senegalensis	Jaune Jaune	0.84 0.91
Epuisé méthanolique des écorces de racines de Erythrina senegalensis	Jaune Jaune	0.84 0.91
Epuisé méthanolique des parties aérienns de Heliotropium indicum	Jaune	0.76

Au moins six extraits polaires ont réagi au test anti-radicalaire. Les échantillons *d'Erythrina senegalensis* possèdent plus de composés antioxydants. La figure 16 donne une illustration de cette activité (Chromatogrammes 1 et 2).

# <u>Tableau XXV</u>: RESULTAT DU TEST ANTIOXYDANT SUR CCM REALISE SUR LES EXTRAITS DANS LE SYSTEME LIGROINE:AcOEt (4:1) APRES REVELATION PAR LE DPPH

Extraits	Taches	Rf
Extrait à l'éther de pétrole des feuilles de Anthocleista djalonensis	Jaune	0.54
Extrait DCM des écorces de racines de <i>Erythrina senegalensis</i>	Jaune	0.26
	Jaune	0.39
	Jaune	0.52
Extrait DCM des écorces de tronc de Erythrina senegalensis	Jaune	0.54

Trois extraits apolaires ont montré un pouvoir antioxydant. L'extrait DCM des écorces de racines de *E. senegalensis* a donné le plus de taches jaunes sur fond violet.



HIPA<sub>MeOH</sub> ESER<sub>MeOH</sub> 3SET<sub>MeOH</sub>

(2) <u>Figure 16</u>: chromatogrammes des extraits polaires révélés par le DPPH

Front du solvant: 8 cm

Support : Plaque de Silice G60F<sub>254</sub> en aluminium

Dépôt : 5 µl

Eluant : (BAW) Butanol-Acide acétique-Eau (60 : 15 : 25)

Révélateur : - DPPH (1 et 2)

# 2.3.2. <u>RESULTATS DE L'ACTIVITE ANTIFONGIQUE DES EXTRAITS</u>

#### <u>Tableau XXVI</u>: Résultats de l'activité antifongique

Extraits	Doses	Rf
Extrait DCM des écorces de racines de Erythrina senegalensis	120 μg	0.14 0.30
	60 μg	0.14
Macéré H <sub>2</sub> O des parties aériennes de <i>Heliotropium indicum</i>	120 µg	0.94
Macéré EtOH des écorces de racines de Erythrina senegalensis	120 μg	0.95
Macéré EtOH des écorces de troncde Erythrina senegalensis	120 μg	0.95
Nystatine <sup>1</sup> Nystatine <sup>2</sup>	0.5 μg 0.5 μg	0 0.48

<sup>1 :</sup> Témoin dans le système de solvant Ether de pétrole : AcOEt (4 :1)

Sur 34 extraits testés, quatre (4) ont montré une activité vis-à-vis de *Candida albicans* comme l'indique le tableau ci-dessus.

<sup>2 :</sup> Témoin dans le système de solvant BAW (6 : 1,5 : 2,5)

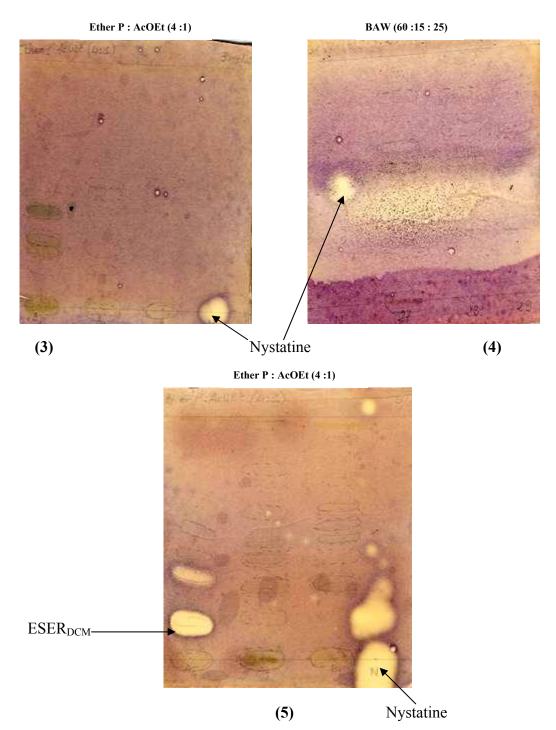


Figure 17 : Chromatogrammes des extraits apolaires et polaires révélés par le bromure de tétrazolium

Front du solvant: 8 cm

Support : Plaque de Silice G60F<sub>254</sub> en verre

Dépôt: 20 µl

Eluants : (3)  $\longrightarrow$  BAW (60 : 15 : 25)

(4 et 5)  $\longrightarrow$  Ether P : AcOEt (4 : 1)

Révélateur : Bromure de tétrazolium (3, 4 et 5)

Sur les plaques (3) et (4), seul le témoin (Nystatine) a agi contre *Candida albicans*. La plaque (5) montre l'action inhibitrice du témoin et d'un extrait (extrait DCM des écorces de racines d'*Erythrina senegalensis*.

#### 2.3.3. RESULTATS DE L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DES EXTRAITS

#### 2.3.3.1 Résultats du test antibactérien sur Staphylococcus aureus

<u>Tableau XXVII</u>: Diamètres d'inhibition des souches de *Staphylococcus aureus* par les extraits de plantes et les antibiotiques standard

Antibiotiques standard	Doses (µg)	Diamètres d'inhibition (mm)	
		S. aureus (Souche clinique)	S. aureus (ATCC 25923)
Extrait DCM des feuilles de A. djalonensis	50	11	-
	60	14	-
Décocté 10 % des parties aériennes de H. indicum	50	9	-
	60	10	-
Macéré H <sub>2</sub> O des parties aériennes de <i>H. indicum</i>	50	7	-
	60	9	-
Extrait Ether P des feuilles de A. djalonensis	<b>50</b>	14	-
	60	15	-
Macéré EtOH des parties aériennes de H. indicum	50	9	-
-	60	11	-
Extrait DCM des écorces de tronc de <i>E.senegalensis</i>	50	8	-
Č	60	9	-
Extrait MeOH des Ec. de racines de <i>E.senegalensis</i>	50	11	-
	60	12	-
Extrait DCM des Ec. de racines de <i>E.senegalensis</i>	50	11	-
	60	11	-
Macéré H <sub>2</sub> O des écorces de tronc de <i>A.djalonensis</i>	50	8	-
	60	10	-
Décocté 10 % des écorces de tronc de A.djalonensis	50	8	-
	60	9	-
Macéré H <sub>2</sub> O des écorces de tronc de <i>E.senegalensis</i>	50	8	-
	60	9	-
Oxacilline	5	26 (S)	32 (S)
Pristinamycine	15	32 (S)	30 (S)
Pénicilline G	6	0 (R)	38 (S)
Lincomycine	15	30 (S)	30 (S)

S = Sensible R = Résistant (-) = diamètre non déterminé

Les extraits au dichlorométhane et à l'éther de pétrole des feuilles de *Anthocleista djalonensis* ont été les plus actifs sur *Staphylococcus aureus* aux doses de 60 µg avec des diamètres d'inhibition de 14 et 15 mm. La souche clinique testée est résistante à la pénicilline G.

#### 2.3.3.2. Résultats du test antibactérien sur Escherichia coli

<u>Tableau XXVIII</u>: Résultats de l'activité antibactérienne des extraits et antibiotiques standard sur *Escherichia coli* 

Antibiotiques standard	Doses (µg)	Diamètres d'inhibition (mm)	
		E.coli	E.coli
		(souche clinique)	(ATCC 25922)
Décocté 10 % des parties aériennes de <i>H. indicum</i>	50	10	-
	60	10	-
Décocté 10 % des feuilles de A. djalonensis	50	7	-
	60	8	-
Macéré H <sub>2</sub> O des écorces de tronc de <i>E. senegalensis</i>	50	7	-
	60	8	-
Extrait MeOH des parties aériennes de <i>H.indicum</i>	50	9	-
	60	10	-
Extrait MeOH des écorces de tronc de A. djalonensis	50	7	-
	60	8	-
Décocté 10 % des écorces de tronc de A. djalonensis	50	7	-
	60	8	-
Ciprofloxacine	5	36 (S)	39 (S)
Amoxicilline+Acide clavulanique	20/10	16 (R)	22 (S)
Gentamicine	15	22 (S)	22 (S)
Cefalotine	30	16 (R)	18 (S)

S = Sensible R = Résistant (-) = non déterminé

Les extraits obtenus à partir des parties aériennes de *Heliotropium indicum* avec le méthanol et l'eau à 100 °C ont été les plus actifs sur *Escherichia coli* aux doses de **60 µg** avec **10 mm** comme diamètre d'inhibition. La souche clinique de *E. coli* est résistante à la céfalotine et à l'association amoxicilline/acide clavulanique.



Figure 18 : illustration de l'activité antibactérienne

# ANALYSES & DICUSSIONS

# 3. ANALYSES ET DISCUSSIONS

Cette étude a commencé par l'exploitation des résultats de l'enquête ethnobotanique menée par Ouattara en 2004. A partir de ces données trois plantes indiquées dans la prise en charge des infections sexuellement transmissibles ont été sélectionnées : *Anthocleista djalonensis* A. Chev., *Erythrina senegalensis* DC. et *Heliotropium indicum* L. (Ouattara, 2005). L'enquête que nous avons effectuée par la suite a permis de recenser les autres usages de ces plantes en médecine traditionnelle. Chacune des plantes étudiées, présente un intérêt dans le traitement de la gonococcie. Cette même indication est rapportée par Burkill pour les trois plantes (Burkill, 1985). Il ressort des travaux de Ouattara que la gonococcie, les candidoses et les trichomonoses respectivement appelées « *sopisi* ou *damajalan* », « *leminenpo* ou *jijemabo* » et « *ngorosien* » en langue bamanan sont les infections les plus traitées par les tradithérapeutes dans les localités de Kolokani, Koutiala et Siby (Ouattara, 2005).

L'enquête réalisée au cours de cette étude a permis de recenser comme autres indications de ces plantes, les aménorrhées, les dysménorrhées, la stérilité féminine, les douleurs abdominales et l'impuissance sexuelle. D'autres auteurs rapportent pour ces mêmes plantes les mêmes indications (Kerharo et Adam, 1974; Malgras, 1992). L'indication de *Heliotropium indicum* dans le traitement de la **bilharziose** et de la **toxoplasmose** a été notée au cours de cette enquête. Cette dernière information n'a pas été rapportée dans la littérature consultée.

L'étude phytochimique a permis de caractériser les substances suivantes dans toutes les drogues à des concentrations variables : tanins, oses et holosides, saponosides, flavonoïdes, alcaloïdes, glucosides cardiotoniques, stérols et terpènes. Dans nos conditions expérimentales seules les parties aériennes de *Heliotropium indicum* et les feuilles de *Anthocleista djalonensis* ont présenté des polyuronides (mucilages). La présence de certains composés notamment tanins, alcaloïdes et flavonoïdes a été confirmée par la méthode chromatographique sur couche mince. Les coumarines ont été caractérisées dans les écorces de racines de *Erythrina senegalensis* et dans les feuilles de *Anthocleista djalonensis*.

Les dérivés anthracéniques, les caroténoïdes, les composés réducteurs ainsi que les hétérosides cyanogénétiques n'ont été retrouvés dans aucun des échantillons dans nos conditions expérimentales.

L'administration de *Heliotropium indicum* dans certaines affections cardiaques a été signalée par Traoré et collaborateurs (Traoré et coll., 2004). Cet usage pourrait s'expliquer

par la présence d' hétérosides cardiotoniques dans cette plante. En effet, les résultats de ce présent travail corroborent ceux obtenus par Traoré et coll. qui ont mis en évidence l'activité des hétérosides cardiotoniques de *Heliotropium indicum* sur le cœur des lapins (TRAORE et coll., 2004).

La majorité des constituants de ces plantes ont une affinité plus marquée pour les solvants polaires : 51 % des substances contenues dans les écorces de tronc de *Anthocleista djalonensis* sont extractibles par l'éthanol contre 20 % par l'eau. Les feuilles de la même plante contiennent 30 % de substances hydrosolubles et 38 % de substances solubles dans l'éthanol.

Le taux des alcaloïdes totaux varie de **0.14** % dans les feuilles de *A. djalonensis* à **1**% dans les écorces de racines de *Erythrina senegalensis*. Ceci est en accord avec les résultats présentés par Burkill qui rapporte 0 à 6 % et 0 à 1 % d'alcaloïdes respectivement dans les feuilles et les écorces de *Anthocleista djalonensis* (Burkill, 1985).

La teneur en eau dans les échantillons est inférieure à 10 %, ceci respecte la limite requise par les pharmacopées internationales pour une bonne conservation des drogues végétales. Une teneur supérieure à 10 % favorise en effet des réactions d'oxydation, de fermentation ainsi que la formation de moisissures.

Heliotropium indicum présente les taux les plus élevés en cendres totales et sulfuriques respectivement 17 % et 21 % et aussi en cendres chlorhydriques (3 %). Les taux en cendres totales et chlorhydriques dans l'échantillon de cette étude, sont nettement inférieurs à ceux trouvés par Karfougué Keïta en 1992 ; par contre le taux en cendres sulfuriques est supérieur à celui de l'échantillon du même auteur. Il a trouvé comme taux en cendres sulfuriques, totales et chlorhydriques respectivement 18.19 %, 18.77 % et 26.04 % dans un échantillon de Heliotropium indicum (Keita,1992). Les taux élevés en cendres chlorhydriques peuvent témoigner d'une forte présence d'éléments siliceux ou d'une contamination de la drogue avec du sable ou de la poussière. La contamination de Heliotropium indicum pourrait s'expliquer par le fait que cette plante est une herbe hirsute capable d'emprisonner les grains de poussières. Les feuilles de Anthocleista djalonensis ont présenté le taux le moins élevé en cendres chlorhydriques (0.60 %).

Aux cours des extractions, le rendement le plus élevé (40%) a été obtenu avec les écorces de racines de *E. senegalensis* en macération éthanolique et le rendement le plus faible (0.10 %) avec l'extrait à l'éther de pétrole des écorces de tronc de la même plante. D'une manière générale, tous les échantillons testés renferment des substances qui ont une affinité plus élevée pour les solvants polaires (18 à 40 %) que pour ceux apolaires. En effet les

rendements obtenus avec les solvants apolaires utilisés dans cette étude (éther de pétrole et dichlorométhane) vont de 0.10 % à 3.50 %.

Tous les extraits obtenus ont été soumis à une CCM laquelle a permis de vérifier la présence ou non de certaines substances caractérisées lors des réactions en tubes. C'est ainsi que la présence d'alcaloïdes a été confirmée par une révélation au réactif de Dragendorff. L'observation à l'UV et la révélation par le réactif de Godin ont permis d'apprécier la présence dans les échantillons, de certains composés dont les flavonoides et les tanins.

Le criblage biologique a été orienté sur les activités antioxydante, antibactérienne et antifongique.

Dans nos conditions expérimentales, chacune des plantes étudiées a montré un pouvoir antioxydant. *Erythrina senegalensis* a été la plante la plus riche en composés antioxydants. L'effet antioxydant des différents extraits pourrait être dû à leur richesse en composés tels les tanins et les flavonoides. En effet, les substances polyphénoliques, selon de nombreux auteurs sont des composés à haut potentiel antioxydant (Bruneton, 1993; Cavin, 1999). Ceci donne une lueur d'espoir car ces substances sont retrouvées à des concentrations variables dans tous les échantillons testés. Un tel résultat semble intéressant car de nos jours un grand intérêt est accordé aux composés antioxydants. En effet, plusieurs études épidémiologiques ont mis en évidence que de faibles taux sanguins en antioxydants, exposent l'organisme aux cancers et aux maladies cardiovasculaires (Pincemail et *al.*, 1999). Il est établi par ailleurs qu'un apport complémentaire en antioxydants permet de réduire l'incidence du cancer, des maladies cardiovasculaires et de l'athérosclérose (Pincemail et *al.*, 1999).

Pour ce qui concerne l'activité antibactérienne, de nombreux extraits ont inhibé la croissance de souches cliniques de *Staphylococcus aureus* et d'*Escherichia coli* aux doses de **50** et **60 μg.** Les diamètres des zones d'inhibition vont de **07** à **15 mm** selon les extraits et les souches. L'extrait à l'éther de pétrole des feuilles de *Anthocleista djalonensis* s'est montré le plus actif sur *S. aureus* avec un diamètre d'inhibition de **15 mm** à la dose de **60 μg.** D'une façon générale, les extraits préparés avec les solvants organiques ont été les plus actifs sur *Staphylococcus aureus* (**Tableau XXVII**). Dans nos conditions expérimentales, le décocté aqueux et l'extrait méthanolique obtenus avec *Heliotropium indicum* ont été les plus actifs sur *E. coli* (**Tableau XXIX**). L'activité antibactérienne de ces plantes pourrait s'expliquer par la présence de substances polyphénoliques (tanins et flavonoides) ou de saponosides. Selon de nombreux auteurs (Bruneton, 1993 ; Ybert et *al.*, 2001), les composés polyphénoliques possèdent des propriétés antibactériennes. Les flavonoides, pigments responsables de la

coloration des fleurs et des fruits en jaune ou en blanc, ont de nombreuses vertus médicinales : activités antioxydante, anti-inflammatoire, antivirale ; effet hépatoprotecteur et oestrogénique (Ybert et *al.*, 2001). L'activité antimicrobienne des flavonoides de *Erythrina burttii* a été signalée par Yenesew et coll. (Yenesew et coll., 2005). Les tanins sont surtout connus pour leur propriété astringente mise à profit pour stopper les hémorragies. Ils permettent par ailleurs de lutter contre les infections du fait de leur capacité à complexer les macromolécules, en particulier les protéines : enzymes digestives et autres, protéines fongiques ou virales (Bruneton, 1993).

L'activité antifongique a été déterminée sur des souches cliniques de *Candida albicans*. L'inhibition de ce champignon par quatre des extraits testés aux doses de **60** et **120** µg a pu être appréciée. L'extrait au dichlorométhane des écorces de *Erythrina senegalensis* a été le plus actif avec des zones d'inhibition aux Rf **0.14** et **0.30**. L'activité antifongique pourrait être due aux saponosides et aux tanins (Bruneton, 1993). Chludil et *al*. ont mis en évidence l'activité antifongique des glucosides stéroïdiques (saponines) de *Anasterias minuta* (Chludil et *al*., 2002). Les tanins également comme indiqué ci-dessus pourraient avoir une activité contre les champignons.

Outre ces propriétés, il est important de noter que les trois plantes de cette étude possèdent des propriétés anti-inflammatoires et diurétiques (Burkill, 1985; Malgras, 1992; Bruneton, 1993). Les activités antiparasitaire et antivirale n'ont pas été déterminées dans cette étude. Cependant, les données de la littérature sur les composés présents dans les drogues, donnent une indication sur leur possible activité à l'égard des virus et des parasites. En effet, des effets inhibiteurs de la réplication des virus ont été décrits *in vitro* pour les tanins. Les dérivés galliques pourraient inhiber l'adsorption des virus sur les cellules mais aussi la transcriptase inverse (Bruneton, 1993). Par ailleurs, Lin Lü et *al.* ont mis en évidence l'activité inhibitrice des tanins sur le VIH-1 par blocage de son entrée dans les cellules cibles (LÜ et *al.*, 2004). Ceci pourrait ouvrir une piste de recherche pour nos plantes dont les différentes parties sont riches en tanins.

Les données sur ces trois plantes et les composés qui y ont été caractérisés au cours de cette étude ainsi que les différents résultats des tests biologiques pourraient expliquer le bien-fondé de leur utilisation traditionnelle dans la prise en charge des infections sexuellement transmissibles.

# CONCLUSION& RECOMMANDATIONS

# 4. <u>CONCLUSION & RECOMMANDATIONS</u>

#### **CONCLUSION**

Cette étude a permis d'objectiver l'utilisation traditionnelle de trois plantes dans la prise en charge des Infections Sexuellement Transmissibles au Mali.

Pour ce faire, une enquête ethnobotanique a été effectuée auprès des thérapeutes traditionnels et des investigations par screenings phytochimique et biologique ont été réalisées.

L'étude phytochimique a revelé la présence d'alcaloïdes, de tanins, de flavonoides, d' hétérosides cardiotoniques, d'oses et holosides, de stérols et terpènes, de saponosides à des concentrations variables dans tous les échantillons.

La plupart des extraits testés pour leurs activités biologiques ont montré une efficacité notable. Chaque plante possède un pouvoir antioxydant. Par ailleurs, nombreux sont les extraits qui ont la capacité d'inhiber des souches cliniques de bactéries (*Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*). Quatre extraits provenant de *Erythrina senegalensis* et de *Heliotropium indicum* ont montré une activité vis-à-vis de *Candida albicans*.

Les données de la littérature permettent d'établir un lien entre les substances caractérisées et les activités biologiques observées. Certes, les activités antiparasitaire et antivirale des plantes ne sont pas testées dans cette étude, cependant, il n'est pas exclu qu'elles puissent agir sur ces microbes. Il serait souhaitable d'approfondir l'étude de chacune des plantes afin de voir si oui ou non elles peuvent agir sur les parasites et les virus d'une part et d'autre part, isoler les molécules actives en vue d'enrichir l'arsenal thérapeutique des phytomédicaments. Il serait également utile d'étudier la toxicité de ces plantes. Heliotropium indicum renfermerait des alcaloïdes pyrrolizidiniques, qui sont des composés assez toxiques selon la littérature (Bruneton, 1999).

Les résultats de cette étude et ceux d'autres auteurs (Kerharo et Adam, 1974 ; Burkill, 1985 ; Malgras, 1992 ; Bruneton, 1993 ; Lü et coll., 2004 ; Ouattara, 2005) pourraient justifier l'utilisation des trois plantes dans la prise en charge des infections sexuellement transmissibles.

#### **RECOMMANDATIONS**

- Poursuivre les investigations sur les trois plantes ( INRSP/DMT, FMPOS, Ministère de la Santé ):
- déterminer la toxicité, les activités antivirale, antiparasitaire et antibactérienne
- isoler les molécules actives pour enrichir l'arsenal thérapeutique des phytomédicaments
- 2. Rendre pérenne la collaboration entre chercheurs et tradipraticiens de santé (Ministère de la santé, Ordres professionnels de la Santé, Fédération Malienne des Thérapeutes Traditionnels)
- **3.** Appuyer les structures de recherches (Ministère de la Santé, Ministère de l'Education Nationale, Partenaires Techniques et Financiers)
- **4.** Prévenir le déficit en matières premières végétales (Ministère de l'Agriculture et de l'Environnement, Populations) :
- Prévenir le couvert végétal
- Procéder à la culture des plantes médicinales

# ANNEXES

## 5. ANNEXES

### Annexe 1 : Guide d'entretien utilisé lors de l'enquête

FICHE N°: I I I I I	DATE I_I I_I Jour	II II Mois	II II II I Année
HEURE DE DEBUT: I_I_I Heure	III minutes		
1. <u>IDENTIFICATION</u>			
Nom et Prénoms	e II (M=masculin, F	:- S= Féminin)	
Profession : II (1 = Herboriste, Autres (préciser)	2 = thérapeute traditio		3= autre)
2. PLANTE DE L'ENQUETE			
Nom local			
3. <u>USAGES DE LA PLANTE</u>			
4. MODE D'EMPLOI			
5. <u>POSOLOGIE</u>			
6. <u>EFFETS SECONDAIRES</u>			
7. <u>CONTRE - INDICATIONS</u>			
8. SIGNES D'INTOXICATIONS	<u>3</u>		

9. COMPORTEMENT EN CAS D'INTOXICATION

MERCI POUR VOTRE COLLABORATION

**Annexe 2**: Liste des thérapeutes interrogés

N°			~	
d'identification	Noms⪻énoms	Age(ans)	Sexe	Résidence
du thérapeute				
1	CAMARA Sagaba	76	M	Siby-Djissoumana
2	TRAORE Kouraba	60-69	$\mathbf{F}$	Siby-Djissoumana
3	SIDIBE Koumou	42	M	Siby-Djissoumana
4	DOUMBIA Kondia	60	M	Siby-Djissoumana
5	DOUMBIA Faféré	63	M	Siby-Djissoumana
6	BAGAYOGO Modibo	28	M	Siby-Djissoumana
7	CAMARA Modibo	48	M	Siby-Djissoumana
8	KEITA Namory	70	M	Dioulafondo
9	KEITA Balla	50-59	M	Dioulafondo
10	KEITA Gouro	74	M	Dioulafondo
11	KEITA Balam	58	M	Dioulafondo
12	KEITA Sokomari	72	M	Dioulafondo
13	KEITA Sebe Balla	50	M	Dioulafondo
14	KEITA Bobo	61	M	Dioulafondo
15	KEITA Sekou	78	M	Dioulafondo
16	<b>KONE Fanta</b>	40-49	$\mathbf{F}$	Dioulafondo
17	KEITA Fadima	60-69	$\mathbf{F}$	Dioulafondo
18	KEITA Nakani	30	$\mathbf{F}$	Dioulafondo
19	KEITA Oumou	35	$\mathbf{F}$	Dioulafondo
20	CAMARA Bobo	80	M	Guéna
21	TRAORE Morikè	60	M	Guéna
22	KEITA Bakari	80	M	Guéna
23	CAMARA Ladji Missiri	61	M	Guéna
24	CAMRA Massama	61	M	Guéna
25	CAMARA Lamine	42	M	Guéna
26	TRAORE Famouké	60	M	Guéna
27	CAMARA Bourèma	55	M	Kalasa
28	DOUMBIA Faman	35	M	Siby-Djissoumana
29	CAMARA Bamakan Boukari	85	M	Siby-Kakala
30	CAMARA Awa	70	$\mathbf{F}$	Siby-Kakala
31	CAMARA Fakourou	70	M	Siby-Kakala
32	CAMARA Fassayi	65	M	Siby-Kakala

### Annexe 3 : Recettes obtenues au cours de l'enquête

Les recettes obtenues au cours de l'enquête sont présentées dans les tableaux suivants par plante. Les numéros des tableaux ne suivent pas l'ordre du reste du document.

<u>Tableau N°1</u>: Recettes recensées pour *Anthocleista djalonensis* A. Chev.

N°			M - 1 -	D.m 1	E C / C I
d'identification	Recettes	Indications	Mode	Durée de traitement	E. S./ C. I. Autres
	Receites	mulcations	d'emploi/Posologie	traitement	
du Thérapeute	Ecorces de racines en		Pulvériser. Donner une		informations
1	association avec <i>Xylopia</i>	Maux de ventre	pincée(2 doigts) de	1 jour	_
1	aethiopica et Aframomum		poudre par prise avec ou	, , , ,	
	latifolium		sans eau.		
			Pour conserver le		
	Poudre ou décocté d'écorces de	Maux de ventre	décocté, faire la décoction avec les	Jusqu'à	Une conservation
3	racines ou de tronc	widan de ventre	racines de <i>C. sieberiana</i>	guérison	prolongée entraîne
			Adulte :1verre N°8/jour		une fermentation
			Enfant : demi-dose		
	Ecorces de racines ou de tronc	Maux de ventre avec	Délayer 1c.à c. de poudre dans de l'eau		
	Ecorces de facilles ou de troile	risque de stérilité	(1verre N°8). 1 c. à s.	3-4 jours	
4		féminine	par prise (matin et soir).	J . jours	_
	Racines, feuilles ou écorces de	Paludisme	1verre N°8 de décocté	≤7 jours	
	tronc	Infections digestives	par prise ( 2 fois/jour)	_ / Jours	_
		·	Délayer 2c.à c. de	Une	Vomissement
	F 1.4	T 4	poudre dans 1verre N°8	semaine	Diarrhée
	Ecorces de tronc	Intoxications	d'eau, mélanger avec du lait frais. Boire matin et		Ne pas donner aux sujets affaiblis
5			soir		sujets arraions
			Boire 1verre N°8 de	_	_
	Ecorces de tronc	Paludisme chronique	décocté 2 fois par jour		
			A une partie d'écorces		
			de tronc, ajouter une part		
			d'écorces de racines : pulvériser avec du sel		
			gemme. A l'autre partie		
	Ecorces de tronc des côtés Est et		d'écorces de tronc,		_
6	Ouest; Ecorces de racines des	Aménorrhée	ajouter le restant	4-5 jours	
	côtés Nord et Sud		d'écorces de racines : faire une décoction. La		
			poudre est à mâcher, le		
			décocté est utilisé en		
			bain de vapeurs et en		
			boisson (1-2 fois/jour) Boire le matin (avant le		
	Racines	Paludisme	petit déjeuner)	3 jours	Diarrhée
			Faire une décoction et		
			ajouter miel(1/2 litre de		
	D :	n 1 "	miel pour 4 litres d'eau).	3-5 jours	_
7	Racines	Paludisme	Boire ½ à 1 verre n°8		
			matin et soir.		
			Faire une décoction ;		
			ajouter du miel(1litre	< 7 jours	
	Racines	Intoxications	pour 2 litres d'eau).		
8			Prendre 1 fois par jour.		-
	Ecorces de tronc ou de racines	Impuissance sexuelle	Pulvériser la drogue avec du sel gemme.		
		paissance serucite	Consommer la poudre	_	
			avec de la soupe.		
			Faire une décoction.	2:	
9	Feuilles	Maux de ventre	Utiliser en boisson 1 fois par jour.	3 jours	_
			Faire une décoction,		
	Racines	Impuissance sexuelle	ajouter du miel. Boire le	_	_
			, ,	_	

10			matin et le soir au coucher.		
12	Racines ou écorces de tronc concassées associées aux feuilles de <i>Lawsonia inermis</i>	Maux de ventre avec risque de stérilité féminine	Pulvériser les feuilles de L. inermis ; délayer sur les racines ou les écorces de tronc et laisser macérer deux jours. Boire le macéré.	7 jours	-
13	Ecorces de racines	Maux de ventre	Pulvériser avec du sel gemme. Prendre la poudre avec ou sans eau de temps en temps.	-	-
	Racines	Dysménorrhées	Faire une décoction ; boire le matin à jeun et le soir.	-	_
14	Ecorces de racines	Maux de ventre	Pulvériser ; boire la poudre délayée dans de l'eau ou de la bouillie	-	Ne pas donner aux femmes enceintes
16	Racines	Maux de ventre	Faire une décoction ; boire de temps en temps.	15 jours	-
17	Ecorces de racines	Paludisme	Sécher et pulvériser; prendre la poudre avec ou sans eau matin et soir	-	-
18	Racines entières ou écorces de racines	Dysménorrhée	Utiliser le décocté de racines ou la poudre d'écorces de racines 2 fois par jour.	2-3 jours	-
19	Ecorces de racines	Maux de ventre	Laver, sécher et pulvériser ; prendre 1c.à c de poudre avec ou sans eau 2 fois par jour	1-2 jours	-
	Ecorces de racines	Maux de ventre	Pulvériser; mâcher 1c.à c. de poudre par prise.		
20	Racines	Contre les vers intestinaux (Téniasis)	Faire une décoction; mettre du miel dans le décocté, laisser macérer 7 nuits; boire 1-2 fois par jour	-	Diarrhée
21	Feuilles	Paludisme de l'enfant Fièvre pendant la dentition	Faire une décoction ; laver l'enfant 1-2 fois par jour	4 jours	-
22	Racines	Intoxications	Faire une décoction; utiliser en boisson de temps en temps.	-	Diarrhée pouvant être calmée par la prise de bouillie
23	Ecorces de racines	Paludisme	Pulvériser ; délayer dans de l'eau, ajouter du miel et laisser macérer. Boire une quantité d'un verre n°8 du macéré 2 fois par jour	4-5 jours	-
24	Racines	Maux de ventre  Comme purgatif	Laisser macérer une nuit ; boire 1 fois par jour ( le matin de préférence)	≤ 10 jours	Diarrhée
25	Ecorces de tronc associées aux racines de Swartzia madagascariensis	Stérilité féminine  Ictère	Pulvériser; délayer la poudre dans un mélange d'eau(2L) et de miel(0,4L), laisser macérer. Boire chaque soir. Dans le cas de l'ictère, boire chaque matin.	2-3 jours	Diarrhée
	Ecorces de racines	Maux de ventre	Pulvériser avec du sel gemme. Prendre 1-2 fois par jour 1c.à c de poudre avec ou sans eau.	1-2 jours	
26	Racines	Maux de ventre avec ballonnement	Eplucher et découper ; ajouter de l'eau et du miel convenablement. Laisser macérer 24H. Boire 2-3 fois par jour	Une semaine	-

	Ecorces de racines	Maux de ventre	Pulvériser ; prendre 1c.à c. de poudre dans de la bouillie 1-2 fois par jour		
27	Racines et feuilles	Maux de ventre avec risque de stérilité féminine	Faire une décoction ; utiliser en bain et en boisson 2 fois par jour.	-	-
	Ecorces de tronc et écorces de racines	Maux de ventre	Pulvériser ; prendre 1 pincée (4 doigts) de poudre 1 fois par jour (le matin).		
28	Ecorces de tronc	Fièvre de l'enfant (paludisme)	Faire une décoction; utiliser en bain et en boisson 2 fois par jour.		
29	Ecorces de tronc ou feuilles	Evacuation des lochies	Faire une décoction ; utiliser en bain de vapeur et en boisson	-	-
31	Ecorces de racines	Maux de ventre Impuissance sexuelle	Pulvériser avec du sel gemme. Mâcher la poudre.	-	-

Trente et six (36) recettes sont à base de *Anthocleista djalonensis*. Les parties les plus utilisées sont les écorces de tronc, les écorces de racines, les racines entières associées ou non à d'autres drogues.

<u>Tableau N°2</u>: Recettes recensées pour *Erythrina senegalensis* DC.

N°			Mode	Durée de	E.S./C.I.
d'identification	Drogues	Indications	d'emploi/Posologie	traitement	Autres
du thérapeute	8				informations
8	Racines	Stérilité féminine	Faire une décoction	20 jours	
Ö	144011100		Boire 1 fois par jour	20 jours	
			Tremper les racines		
			concassées dans la		
			première eau de		
			lavage du mil (dans		
13	Racines	Maux de ventre	un canari). Laisser	4 jours	
			macérer 3-5 jours ;	v	_
			Boire 1-2 fois par		
			jour		
			Faire une décoction.		
	Feuilles	Fièvre pendant la	Utiliser en bain et en	1-2 jours	
		dentition	boisson (1c.à c.)		
10			matin et soir		
19			Sécher ; griller puis		_
			pulvériser avec du sel		
	Fruits	Toux	gemme. Prendre une	2-3 jours	
			pincée(avec 3 doigts)		
			2 fois par jour		
20	Feuilles ou racines	Paludisme	Faire une décoction ;	3 jours	_
			boire 1 fois par jour		
			Pulvériser avec du sel		
22	Ecorces de racines	Impuissance sexuelle	gemme ; mâcher de	_	_
			temps en temps		
			Faire une décoction		
	n :		des racines		
23	Racines	Arrêt des règles	concassées ; faire une	$\geq 1$ jour	_
23			toilette intime et		
			boire 2 fois par jour		
	72 71		Faire une décoction ;	2.4.	
24	Feuilles et fleurs	Arrêt des règles	utiliser en bain et en	3-4 jours	_
			boisson 1 fois par		
26	D I	γ	jour		
26	Branches	Impuissance sexuelle	Utiliser comme cure-	-	-
		<u>l</u>	dents		

29	Ecorces de tronc	Gonococcie	Mélanger avec les graines du mil ; faire macérer une semaine ; boire 2 fois par jour	-	-
30	Ecorces de tronc	Gonococcie	Faire une décoction ; boire de temps en temps	ı	-
31	Ecorces de tronc	Gonococcie	Faire une décoction ; utiliser en bain et en boisson	ı	-
32	Feuilles	Aménorrhée Stérilité féminine	Faire une décoction ; utiliser en bain et en boisson	Une semaine	-

Treize (13) recettes sont à base de *Erythrina senegalensis*. Trois de ces recettes constituées par les écorces de tronc sont indiquées dans le traitement de la gonococcie.

<u>Tableau N° 3</u>: Recettes recensées pour *Heliotropium indicum* 

N°	Drogues	Indications	Mode	Durée de	E.S./ C.I. /
d'identification			d'emploi/Posologie	traitement	Autres
du thérapeute					informations
1	Parties aériennes associées ou non aux fruits de Sterculia setigera, aux galles de Guiera senegalensis et à Gardenia ternifolia	Stérilité Féminine	Pulvériser ; utiliser la poudre en fumigation.	3-7 jours	-
2	Parties aériennes	Douleur sur grossesse avec menace d'avortement	Faire une décoction ; utiliser en boisson	< une semaine	-
3	Plante entière	Cataracte	Faire une décoction avec une eau neuve ; se laver les yeux avec tous les matins	3 semaines	Irritations
4	Parties aériennes	Fièvre de l'enfant	Faire une décoction ; donner à l'enfant 3-4 fois par jour Faire une décoction ;	_	-
	r arres deficines	Bilharziose (avec hématurie terminale)	utiliser en boisson 2 fois par jour		
		Arrêt des règles	Faire une décoction ; boire 2 fois par jour	3 jours	
12	Plante entière	Métrorragie	Pulvériser la drogue fraîche ; sécher puis pulvériser de nouveau ; délayer la poudre dans de la bouillie boire 2 fois par jour	2-3 jours	-
14	Parties aériennes	Vomissement (au cours du paludisme)	Faire une décoction de la drogue séchée ; boire 1-2 fois par jour	-	_
16	Plante entière	Vomissement	Faire une décoction; utiliser en bain et en boisson 2-3 fois par jour	-	-
17	Parties aériennes	Vomissement(chez l'enfant)	Faire une décoction ; donner 1c.à c. à l'enfant 2 fois par jour	-	-
18	Parties aériennes	Anémie ou hypotension (insuffisance de sang)	Faire une décoction ; utiliser en boisson 3 fois par jour	-	-

	, ,		,		
			Faire une décoction et utiliser en boisson.		
			Adulte: 1 verre 8 2fois		
19	Fleurs	Vomissement	par jour ;	1-2 jours	
	ricuis	Vomissement	Enfant : 1c.à c. 2 fois par	1 2 jours	_
			jour		
			Faire une décoction ;		
23	Parties aériennes	Amaigrissement de	utiliser en bain et en	10 jours	
23		l'enfant	boisson(1/2 verre 8) 4fois	,	_
			par jour		
	Parties aériennes				
	associées aux		Faire une décoction et		
25	écorces de <i>Parkia</i>	Arrêt des règles	boire une tasse chaque	_	
23	biglobosa et à celles		nuit		_
	de Vitellaria				
	paradoxa				
			Faire une décoction ;		
27	Parties aériennes	Vertiges(au cours d'une	utiliser en bain et boisson	1-2 jours	Diarrhée parfois
•	D 4' 7'	maladie) Stérilité féminine	2 fois par jour Faire une décoction et		
29	Parties aériennes	Sterilite Teminine	utiliser en boisson	_	_
			Faire une décoction ;		
	Parties aériennes	Vomissement( femme	donner à boire 3 fois par		
30	Tarties acrienies	enceinte, enfant)	iour	_	_
		Maux de ventre	Faire une décoction ;		
		débouchant sur stérilité	utiliser en bain et boisson		
21		féminine ;Toxoplasmose			
31	Parties aériennes	•	Faire une décoction ;	_	_
		Maux d'yeux ;	utiliser en bain d'yeux et		
		Courbatures	en bain corporel		
			Faire une décoction ;		
32	Parties aériennes	Avortement	boire une tasse à café du	Une semaine	_
			décocté 2 fois par jour		

Dix sept (17) recettes sont à base de *Heliotropium indicum*.

### Annexe 4: Composition des réactifs

► Réactif de BALJET
Acide picrique
Ethanol à 50° alcoolique q s p
► Réactif de DRAGENDORFF
Nitrate de bismuth pulvérisé
Iode
Iodure de sodium anhydre
Eau distillée q s p
Agiter pendant 30 mn
► Réactif du DPPH
1,1 diphényl 2 picrylhydrazyle en solution méthanolique à 2 mg / ml ( $M$ / $V$ ).
► Réactif de FEHLING
Solution A:
CuSO <sub>4</sub>
Eau distillée
$H_2SO_4$
Laisser refroidir et compléter à 1 litre avec de l'eau distillée.
Solution B:
Sel de Seignette
Eau distillée
Refroidir et ajouter 300 ml de lessive non carbonatée à 1 litre avec de l'eau distillée.
<u>NB</u> : Mélanger les deux solutions à volume égal au moment de l'emploi.
► <u>Réactif de GODIN</u>
Solution A:
Vanilline
Ethanol à 95° alcoolique 1000 ml
Solution B:
Acide perchlorique
Eau distillée
Mélanger les deux solutions au moment de l'emploi, ensuite pulvériser sur les plaques CCM
avec une solution de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> à 4 %.

► <u>Réactif de GUIGNARD</u> (Papier picrosodé)	
Acide picrique.	1 g
Carbonate de sodium.	10 g
Eau distillée q s p.	100 ml
► <u>Réactif de KEDDE</u>	
Acide dinitro 3,5 benzoique	1 g
Ethanol à 95 ° alcoolique q s p.	100 ml
► <u>Réactif de MAYER</u>	
Iodure de potassium.	25 g
Chlorure mercurique.	6,77 g
Eau distillée q s p.	50 ml
► Réactif de RAYMOND MARTHOUD	
1,3 dinitrobenzène	1 g
Ethanol à 96° alcoolique q s p	100 ml

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

### 6. <u>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</u>

- ADJANOHOUN, E.J.; AKE, ASSI L.; FLORET, J.J.; GUINKO, S.;
   KOUMARE, M.; AHYI, A.M.R. et RAYNAL, J.— Médecine traditionnelle et pharmacopée, contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Mali Ed ACCT, 3<sup>è</sup> (1981) 290p
- 2. ALAWA, C.B.I.; ADAMU, A.M.; GEFU, J.O.; AJANUSI, O.J.; ABDU, P.A.; CHIEZEY, N.P.; ALAWA, J.N.; BAWMAN, D.D. *In vitro* screening of two Nigerian medicinal plants, *Vernonia amygdalina* and *Annona senegalensis*, for anthelmintic activity Elsevier Science (2003) 73-81.
- 3. ALLAIN, PIERRE- Pharmacologie : les médicaments Ed ESTEM (1996) 414p
- 4. ASSOCIATION DES PROFESSEURS DE BACTERIOLOGIE, VIROLOGIE, HYGIENE HOSPITALIERE DES FACULTES DE MEDECINE— Bactériologie médicale (sous la direction de Jean-Pierre Flandrois ) Ed Presses universitaires de Lyon (1997) 309p
- ASUZU, I.U. and ONU, O.U. Anthelmintic activity of ethanolic extract of
   *Piliostigma thonningii* bark in *Ascaridia galli* infected chikens in Fitoterapia (1994) –
   4, LXV, 291-297
- 6. BATHILY, D. Etude de deux plantes à activité antioxydante au Mali : *Lannea velutina* A. Rich (*Anacardiaceae*) et *Psorospermum guineense* Hochr (*Hypericaceae*)
   Thèse Pharmacie, Bamako (2001) 73p
- 7. BLANCA, F.; ROSER, V.; LILIANA, V.; NANCY, L.; TOMÁS, A. and SALVADOR, C.— Screening for Antifungal Activity of Nineteen Latin American Plants Phytotherapy research (1998) Vol. 12, 427-430.
- **8. BOLO, KOURA A.** Etude bactériologique des sécrétions vaginales au laboratoire de biologie médicale de l'hôpital du Point G Thèse Pharmacie, Bamako **(2004)** 117p

- BOULLARD, B.- Dictionnaire Plantes Médicinales du Monde Réalités et croyances – Ed ESTEM (2001) – 636p
- 10. BRYSKIER, A. Antibiotiques : agents antibactéreiens et antifongiques EllipsesEdition (1999) 1216p
- **11. BRUNETON, J.** Pharmacognosie: phytochimie des plantes médicinales. Ed Technique et documentation Lavoisier **(1993)** 915p
- **12. BRUNETON, J.** Plantes toxiques : Végétaux dangereux pour l'homme et les animaux Ed TEC & DOC (1999) 529p
- 13. BURKILL, H.M.- The Useful Plants of West Tropical Africa Vol 1, Families A-D
   Ed Royal Botanic Gardens (1985) 960p
- **14. BURKILL, H.M.** The Useful Plants of West Tropical Africa **Vol 3**, *Families J-L* Ed Royal Botanic Gardens **(1985)** 960p
- 15. CÁCERES, A.; MENÉNDEZ, H.; MÉNDEZ, E.; COHOBÓN, E.; SAMAYOA, B.E.; JAUREGUI, E.; PERALTA, E. and CARRILLO, G.— Antigonorrhoeal activity of plants used in Guatemala for treatment of sexually transmitted diseases *in* Journal of Ethnopharmacology (1995) 48, 85-88.
- **16. CAVIN, A.** Investigation phytochimique des trois plantes indonésiennes aux propriétés antioxydantes et antiradicalaires : *Tinospora crisp* (MENISPERNACEAE), *Merremia emarginata* (CONVOVULACEAE) et *Orephea eneandra* (ANNONACEAE) Thèse de doctorat, Lausanne (1999) 243 p
- 17. CHEVALLEY, I.— Contribution à l'étude phytochimique des Saxifragacées : isolement d'antioxydants à partir des feuilles de *Saxifraga stellaris* L. et de *Saxifraga cuneifolia* L. et d'un composé antifongique de *Ribes rubrum* L. Thèse de Doctorat, Lausanne (2000) 175p

- **18. CHLUDIL, H.D.**; **SELDES, M. A. AND MAIER, S.M.** Antifungal steroidal glycosides from the Patagonian starfish *Anasterias minuta*: Structure Activity Correlations Journal of Natural Products **(2002)** Vol. 65, N°2: *153-157*.
- **19. CRETE, P.** Précis de botanique : systématique des angiospermes Tome II, Ed 2 révisée Faculté de pharmacie, Paris Masson (**1965**) 429 p
- 20. DIALLO, A. M.- Etude des plantes médicinales de Nianfunké (région de Tombouctou) : phytochimie et pharmacologie de *Maerua crassifolia* Forsk.
   (Capparidacée) Thèse pharmacie, Bamako (2005) 153p
- **21. DIALLO, D.** Ethnopharmacological survey of medicinal plant in Mali and phytochemical study of four of them: *Glinus oppositifolius* (<u>AIZOACEAE</u>), *Diospyros abyssinica* (<u>EBENACEAE</u>), *Entada africana* (<u>MIMOSACEAE</u>), *Trichilia emetica* (MELIACEAE) -Thèse de doctorat, Lausanne (**2000**) 221p
- 22. Disponible sur <u>www.esculape.com/textes/antioxydant.html</u>, 30/11/2003.
- 23. Disponible sur <a href="https://www.inrp.fr/immunologie-sida/lastructureduvih.html">www.inrp.fr/immunologie-sida/lastructureduvih.html</a>, 16/12/2002.
- 24. Disponible sur <a href="https://www.sospair.org/defist.htm">www.sospair.org/defist.htm</a>, 12/11/2005.
- **25. DUVAL**, **J.**; **SOUSSY**, **C.J.** Abrégé d'antibiothérapie : bases bactériologiques pour l'utilisation des antibiotiques Ed Masson, Paris (1985) 180p
- **26. EDS-III.** Enquête démographique et de santé (**2001**) 450p
- **27. EKOUMOU, C.** Etude phytochimique et pharmacologique de cinq recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et de la cystite Thèse Pharmacie, Bamako (2003) 144p
- **28. FANE ,S.** Etude de la toxicité de certaines plantes vendues sur les marchés du district de Bamako Thèse Pharmacie, Bamako (2002) 130p

- **29. FATTORUSSO, V. et RITTER, O.** Vadmecum clinique : du diagnostic au traitement Ed Masson, 12è (1988) 1724p
- **30. FOMUM, Z.T.**; **AYAFOR, J. F.**; **WANDJI, J.** *Erythrina* studies. Part 10 : Senegalensein, a novel prenylated flavanone from *Erythrina senegalensis* Journal of Natural Products (1987), Vol.50, N°5 : 921-2.
- 31. GUIGNARD, J.-L. Abrégés de botanique Ed Masson, Paris (1996) 278p
- **32. HOSTETTMANN, K.** Tout savoir sur le pouvoir des plantes, source de médicaments. Ed. Fabre S A, Lausanne, Suisse (1997) 235 p
- **33. KANTA, F.B.** Etude de l'activité anticandidosique de certaines plantes médicinales maliennes sur *Candida albicans* Thèse Pharmacie, Bamako (2000) 82p
- **34. KEITA**, **A.** Contribution à l'étude des vulvo-vaginites à *Trichomonas vaginalis* à propos de 448 observations Thèse Médecine, Bamako (1981) 84p
- **35. KEITA, I.** Place de *Neisseria gonorrhoeae*, *Candida albicans*, *Trichomonas vaginalis* et *Gardnerella vaginalis* dans les infections génitales chez 275 femmes examinées à Bamako Thèse Pharmacie, Bamako (**2000**) 87p
- **36. KEITA, K.** Contribution à l'étude de quelques plantes médicinales au Mali Mémoire de fin d'études : spécialité Chimie, Bamako (1992) 55p
- **37. KEITA, R.M.** Etude de l'activité antifongique et antioxydante de 14 plantes utilisées dans le traitement traditionnel des Infections Sexuellement Transmissibles Thèse Pharmacie, Bamako (**2002**) 107p
- **38. KERHARO**, **J. et ADAM**, **J.G.** Pharmacopée sénégalaise traditionnelle : plantes médicinales et toxiques Ed Vigot et Frères, Paris (1974) 1011p

- **39. LAYMOND, K.** Institut national de la jeunesse et de l'éducation populaire Jeunes et SIDA : un guide pratique Ed ORCADES **(2004)** 108p
- **40.** LECHAT, P.; LAGIER,G.; ROUVEIX, B.; VINCENS, M.; WEBER, S.–Pharmacologie médicale 4è Ed. Masson (1982) 764p
- **41.** LÜ, LIN; LIU, SHU-WEN; JIANG, SHI-BO; WU, SHU-GUANG.— Tannin inhibits HIV-1 entry by targeting gp41 *in* Acta Pharmacologica Sinica Ed Acta Pharmacologica Sinica, Chines Pharmacological Society, Shanghai Institue of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences (**2004**) Vol. **25**, N° 2: *213-218*
- **42. MALGRAS, D.** Arbres et arbustes guérisseurs des savanes maliennes Ed Karthala et ACCT (1992) 478p
- **43. MAYDELL, H.J.** Arbres et arbustes du Sahel : leurs caractéristiques et leurs utilisations Ed Margraf, Scientific books **(1990)** 295p
- **44. MOGODE, D. J.** Etude phytochimique et des activités biologiques de *Cassia nigricans* Vahl (*Ceasalpiniaceae*) sur quelques agents pathogènes responsables de dermatoses au Tchad Thèse Pharmacie, Bamako (**2005**) 141p
- **45. OKORIE, DOMINIC A.** A new phthalide and xanthones from *Anthocleista djalonensis* and *Anthocleista vogelli* Phytochemistry (Elsevier) **(1976)** Vol. **15**, N°11: *1799-800*.
- 46. OH, W. KEUN; LEE, S. H.; AHN, S. C.; AHN, J. S.; MBAFOR, J.T.; WANDJI, J.; FOMUM, Z.T.; CHANG, H. K.; KIM, Y. HAE Prenylated isoflavonoids from *Erythrina senegalensis* Phytochemistry (1999) Vol.51, N°8: 1147-1150
- 47. ONOCHA, P. A.; OKORIE, D. A.; CONNOLLY, J. D.; KREBS, H. C.; MEIER, B.; HABERMEHL, G. G. Cytotoxic activity of the constituents of *Anthocleista*

- *djalonensis* and their derivatives Nigerian Journal of Natural Products and Medicine (2003) Vol.7, 58-60.
- **48. OMS.** Le virus de l'immunodéficience humaine et son diagnostic Manuel de référence à l'usage des personnes de laboratoire Ed Bureau régional de l'OMS pour l'Afrique (2004) 60p
- 49. ONUSIDA/OMS.- Le point sur l'épidémie mondiale du VIH/SIDA Genève (2002)
- **50. OUATTARA**, F.– Plantes médicinales et traitement traditionnel des infections sexuellement transmissibles en milieux Bamaman, Malinké et Minianka: cas de *Annona senegalensis* L. (*Annonaceae*) et de *Stachytarpheta angustifolia* Valh. (*Verbenaceae*) Thèse Pharmacie, Bamako (**2005**) 239p
- 51. PECHERE, J.-C.; ACAR, J.; ARMENGAUD, M.; CHERUBIN, C.; GRENIER, B.; MOLLERING, R.-Jr.; SANDE, M.; ZINNER, S. et WALDVOGEL, F.- Reconnaître, comprendre et traiter les infections Edisem Inc (1983) 819p
- **52. PINCEMAIL, J. ; MEURISSE, M. ; LIMET, R. ; DEFRAIGNE, JO.** Méthodes d'évaluation du stress antioxydant chez l'homme : importance en matière de prévention Cancérologie Ed MEDI SPHERE **(1999)**.
- **53. PICHARD, E.**; **BEYTOUT, T.**; **DELMONT, J.**; **MARCHOU, B.** MalinTrop Afrique Manuel de maladies infectieuses pour l'Afrique Edition John Libbey Eurotext, Paris (2002) 589p
- **54. ROSS**, **I. A.** Medicinal plants of the world Ed Humana Press Inc (1999) 415p
- **55. SCHORDERET, M. et coll.** Pharmacologie : des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques Ed Frison-Roche, Paris et Slatkine, Génève ( **1989**) 918p
- **56. SIBOULET, ANDRE.**; CATALAN, F.; BOHBOT, J.-M.; SIBOULET, ANTOINE.— Maladies sexuellement transmissibles Ed Masson Paris (1984) 287p

- 57. SINGH, J.P.; PANDEY, D.P.; PANDEY, M. B.; SINGH, A.; SINGH, R.– Alkaloïds of *Heliotropium indicum* Journal of the Indian Chemical Society (2005) 82, 175-176.
- **58. SOULEY AMADOU, B.** Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Combretum glutinosum* Perr. ex DC. (*Combretaceae* ) Thèse Pharmacie, Bamako (2005) 124p
- **59. TIMBO, B.** Etude phytochimique et des activités biologiques de *Trichilia emetica* Vahl ( *Meliaceae*) Thèse Pharmacie, Bamako **(2003)** 108p
- **60. TRAORE, F. ; NENE-BI, S.A. ; ZAHOUI, O.S. et KOFFI, A.** Etudes des effets d'extraits d'*Erythrina senegalensis*, d'*Heliotropium indicum* et de *Zizyphus mauritiana* sur l'activité électrique du cœur de lapin enregistré à l'aide d'un électrocardiographe *in* Ethnopharmacologia **(2004) n°34**, 43-52.
- **61. WAGNER, H.; BLADT, S.** Plant Drug Analysis : A Thin Layer Chromatography Atlas Ed Springer (1996) 384p
- **62. YBERT, E.; DE LAAGE, DE MEUX A.** Encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparation, soins Ed Larousse / VUEF **(2001)** 335p
- 63. YENESEW, A.; DERESE, S.; MIDIWO, J. O.; BII, CHRISTINE C.; HEYDENREICH, M.; PETER, G.M.— Antimicrobial flavonoids from stem bark of *Erythrina burttii in* Fitoterapia: The journal for study of medicinal plants (2005) Vol.76, N°5: 469-472.

### 7. FICHE SIGNALETIQUE

Auteur: Patomo Dominique ARAMA

<u>Titre</u>: Phytochimie et activités biologiques de *Anthocleista djalonensis* A.

Chev (Loganiaceae), Erythrina senegalensis DC. (Fabaceae) et Heliotropium indicum L.

(Borraginaceae) utilisées dans le traitement traditionnel des IST au MALI.

Année universitaire : 2005 - 2006

Pays d'origine : République du Mali

**<u>Ville de soutenance</u>**: Bamako (République du Mali)

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et

d'Odonto-Stomatologie de l'Université de Bamako

<u>Secteurs d'intérêt</u>: Pharmacognosie, Médecine traditionnelle.

#### 8. RESUME

Ce travail a porté sur l'étude de la phytochimie et des activités biologiques de *Anthocleista djalonensis, Erythrina senegalensis* et *Heliotropium indicum,* plantes utilisées au Mali dans le traitement traditionnel des infections sexuellement transmissibles.

Une enquête ethnobotanique a permis de recenser les différentes indications de ces plantes dont les plus fréquentes sont les douleurs abdominales, le paludisme, l'impuissance sexuelle, la stérilité féminine, les arrêts des règles, la gonococcie et la dysménorrhée. L'indication de *Heliotropium indicum* dans le traitement de la bilharziose et de la toxoplasmose a été notée au cours de cette enquête.

Le screening phytochimique réalisé sur les échantillons récoltés (feuilles et écorces de tronc de *Anthocleista djalonensis*, écorces de tronc et de racine de *Erythrina senegalensis*, parties aériennes de *Heliotropium indicum*) a mis en évidence des groupes chimiques susceptibles de justifier les utilisations traditionnelles de ces plantes.

Le screening biologique a montré que ces plantes possèdent des activités antioxydante, antibactérienne et antifongique. La plus grande activité antioxydante a été observée avec les extraits de *Erythrina senegalensis*. L'extrait à l'éther de pétrole des feuilles de *Anthocleista djalonensis* à la dose de 60 µg avec une zone d'inhibition de 15 mm a été le plus actif sur *Staphylococcus aureus*. Le décocté et l'extrait méthanolique de *Heliotropium indicum* ont montré un effet sur *Escherichia coli* avec une inhibition de 10 mm à la dose de 60 µg. Quatre

extraits provenant de *Erythrina senegalensis* et de *Heliotropium indicum* ont montré une activité vis-à-vis de *Candida albicans*.

Les activités antiparasitaire et antivirale n'ont pas été déterminées dans cette étude. Cependant, les données de la littérature sur les composés présents dans les drogues, donnent une indication sur leur possible activité à l'égard des virus et des parasites.

<u>Mots clés</u>: infections sexuellement transmissibles, *Anthocleista djalonensis, Erythrina senegalensis, Heliotropium indicum,* antioxydant, antifongique, antibactérien, plantes médicinales.

## SERMENT DE GALIEN

Je jure en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement;

D'exercer dans l'intérêt de la Santé Publique ma profession, avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.